

## Evaluación de Aterosclerosis en Trasplantados Renales Mediante Métodos no Invasivos

Cláudio Domênico Sahione Schettino<sup>1,2</sup>, Aristarco Gonçalves Siqueira Filho<sup>1</sup>, Romeu Cortes Domingues<sup>3</sup>, Iugiro Kuroki<sup>3</sup>, Flávia Cristina Carvalho de Deus<sup>2,4</sup>, Renato Torres Gonçalves<sup>1</sup>, Hélio Magarino Torres<sup>5</sup>, Emerson Gasparetto<sup>1</sup>, Lúcio Cardoso Pacheco<sup>1</sup>, Eduardo Rocha<sup>1</sup>

Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)<sup>1</sup>, Clínica São Vicente<sup>2</sup>, Clínica CDPI / Multimagem<sup>3</sup>, Instituto Nacional de Cardiologia<sup>4</sup>, Laboratório Richet<sup>5</sup>, Rio de Janeiro, RJ - Brasil

### Resumen

**Fundamento:** Se puede considerar la disfunción endotelial como un evento precoz de la aterogénesis.

**Objetivo:** Evaluar la aterosclerosis en transplantados renales con el empleo del score de calcio coronario y del *duplex scan* de las carótidas y la reactividad braquial mediante el ultrasonido.

**Métodos:** Evaluamos a 30 transplantados renales del sexo masculino con función renal estable, edad promedio de 41,3 años.

**Resultados:** La detección de la carga aterosclerótica en esta población fue significativa cuando utilizada la técnica de la reactividad braquial (86,7%), menos frecuente, basándose en la presencia de placa carotídea (33,3%) o en el score de calcio coronario (20%). Se tomó en cuenta la placa carotídea cuando el espesor era superior a 12 mm. El score de calcio coronario fue anormal cuando >80 por la escala de Agatston, y se lo observó en un porcentaje bajo (21,7%) de los pacientes, posiblemente porque la tomografía puede no ser el método ideal para detectar aterosclerosis en enfermos renales, por no distinguir calcificaciones intimaes de la capa media. El control clínico adecuado, la baja franja de edad y factores relacionados al tiempo de diálisis pre-transplante o al efecto antiinflamatorio de los fármacos post-transplante pueden retardar el apareamiento de las calcificaciones.

**Conclusión:** La evaluación de la carga aterosclerótica con el empleo del *duplex scan* de las carótidas (33,3%) y del score de calcio coronario (20%) no fue frecuente, no habiendo correlación con el elevado índice de detección de disfunción endotelial observado con el examen de la reactividad braquial (86,7%). (Arq Bras Cardiol 2009;92(5):356-361)

**Palabras clave:** aterosclerosis, trasplantes, riñón, endotelio, fisiopatología.

### Introducción

El endotelio vascular (EV) es una barrera física que separa la sangre de los tejidos, capaz de liberar sustancias vasoconstrictoras y vasodilatadoras, manteniendo la homeostasis vascular<sup>1</sup>.

Se puede entender la disfunción endotelial (DE) como un desequilibrio entre los factores que relajan además de hacer la constricción del endotelio vascular. Se puede tomar la DE como un evento precoz de la aterogénesis, ya que se la considera como fundamental en la fisiopatología de los eventos cardiovasculares y en el proceso aterosclerótico<sup>2</sup>. Varios exámenes se pueden llevar a cabo, buscando la evaluación de la función endotelial (FE) además de la detección precoz de aterosclerosis<sup>3</sup>.

Se debe iniciar la evaluación de la aterosclerosis por medio del examen físico y se la debe complementar con exámenes

especializados, tales como evaluación de las arterias cervicales y periféricas y estudio del calcio coronario con empleo de la tomografía computarizada multidetector (MDCT)<sup>4</sup> del tórax.

La investigación de la aterosclerosis carotídea utiliza el *duplex scan* color vascular (DSC), buscando la detección de placas carotídeas<sup>5,6</sup>. La evaluación del score de calcio coronario (SCC), realizado mediante el empleo de la MDCT, es otro método eficaz de investigación de enfermedad cardiovascular en asintomáticos. El ECC normal es cero, y se establecen cuatro categorías de calcificación: 1-10 = mínima, 11-100 = leve, 101-400 = moderada y superior a 400 = importante. Finalmente, entre los métodos de evaluación precoz de la aterosclerosis, se destaca la técnica de evaluación de la reactividad braquial (RB) por ultrasonido. Celemajer et al.<sup>3</sup> describieron este método que se basa en la capacidad de los vasos de responder a un estímulo mecánico, regular su tono, y redistribuir su flujo tras cesión del estímulo, infiriendo el grado de disfunción endotelial del vaso<sup>7</sup>.

Este examen no es invasivo<sup>3</sup> y evalúa el porcentaje de dilatación de la arteria braquial, antes y tras pinzamiento con manguito aneroide de presión. Cuando este porcentaje es mayor que el 10%, se considera normal, o sea, función

**Correspondencia:** Cláudio Domênico Sahione Schettino •  
Rua Joana Angélica, 232, Ipanema, 22.420-030, Rio de Janeiro, RJ - Brasil  
E-mail: cdomenico@gaveacor.com.br  
Artículo recibido el 17/03/2008; revisado recibido el 03/06/2008;  
aceptado el 03/06/2008.

endotelial preservada. Actualmente, existen directrices con normativas de la técnica<sup>7</sup>. Sin embargo, pocos estudios investigaron de forma comparativa los distintos métodos de evaluación de la aterosclerosis precoz.

Este trabajo tiene por objeto evaluar la carga aterosclerótica de trasplantados renales mediante el ECC, el DSC de las carótidas y de la RB por medio del ultrasonido.

## Métodos

Se seleccionaron, de modo aleatorio, a 30 trasplantados renales del sexo masculino, todos con función renal estable, siendo que 7 eran receptores de riñón de cadáver y los demás de donadores vivos. La edad promedio fue de 41,3 años (variando entre 19 y 59 años) y se estimó el índice de masa corpórea entre 30 y 35 en el 53,3% de los pacientes, siendo que el restante presentaba índice inferior a 30. Todos los participantes del estudio presentaban más de 6 meses post-trasplante, para exclusión de los casos de rechazo agudo. La Tabla 1 resume los datos clínicos y laboratoriales de la población estudiada.

Todos los pacientes fueron sometidos a los siguientes estudios: DSC de carótidas para verificación de placas carotídeas, MDCT de tórax para determinación del ECC y prueba de la RB para evaluación de la FE.

Se realizó el examen de DSC de las carótidas para la evaluación de la presencia de placas<sup>8</sup>, siendo considerada como placa carotídea cuando ésta presentaba espesor superior a 12 mm, habiendo sido analizadas ambas carótidas en la máxima extensión posible.

La tomografía de tórax se llevó a cabo en aparato con 4 detectores, Somatom Plus Volume Zoom (Siemens, Alemania), con el punto de corte establecido como anormal cuando  $>80$  por la escala de Agaston, basado en el Artículo de Revisión sobre aterotrombosis de Moreno y Furster<sup>9</sup>, que evidenciaron que valores de ECC  $>80$ , cuando asociados al grupo intermediario por la escala de Framingham, aumentaban la probabilidad pre-prueba de mortalidad del 10% en 10 años para un valor del 27%. Se debe acordar que este examen no utiliza ningún tipo de contraste.

La técnica de la RB empleó el mismo aparato de ecocardiografía empleado para *duplex scan* de carótidas, además de manguitos para hacer la compresión de la arteria, electrodos y gel conductor para ultrasonido, siguiéndose las orientaciones del Colegio Americano de Cardiología<sup>7</sup>. Todos los pacientes estaban en ayuno de al menos 8 horas. Con relación a las consideraciones técnicas del examen, se utilizó una presión de torniquete 50 mmHg arriba de la presión arterial máxima, por un período de 5 minutos. La verificación de la presión arterial se hizo de forma manual. Solamente un caso tenía fístula arteriovenosa funcionante, lo que conllevó a examinar el brazo contralateral donde no había fístula. No hubo ninguna complicación importante, a excepción de adormecimiento en el brazo examinado, queja relatada por todos los individuos sometidos al examen, siendo que éste desapareció por completo tras desinsuflación del manguito. Seis pacientes refirieron cefalea tras uso del nitrato sublingual, y solamente un individuo hizo uso de dipirona para el alivio de la cefalea.

Todos los participantes del estudio firmaron el formulario de consentimiento informado, siendo que 7 pacientes se recusaron a realizar el examen de tomografía para determinación del ECC. El Comité de Ética de la Universidad Federal del Río de Janeiro aprobó el estudio. Para el análisis estadístico, se emplearon medidas descriptivas para caracterizar la muestra, tales como promedio, desviación-estándar, mínima y máxima. En la evaluación de la disfunción endotelial, se empleó la prueba de *Mc Nemar*, con diferencias estadísticamente significativas cuando  $p < 0,05$ .

## Resultados

La detección de la carga aterosclerótica en esta población de trasplantados renales fue significativa cuando utilizada la técnica de la reactividad braquial (86,7%) y, menos frecuente, basándose en la presencia de placa carotídea (33,3%) o en el score de calcio coronario (20%).

La Tabla 2 detalla que el promedio de aumento del diámetro de la arteria braquial, tras la fase de vasodilatación mediada por flujo, es baja (6,4%) denotando disfunción endotelial, siendo que en pacientes sanos se esperan valores superiores al 10%.

El Gráfico 1 detalla que la mayoría de los pacientes estudiados a través de RB presenta porcentual de variación del diámetro de la arteria inferior al 10%.

El Gráfico 2 revela la determinación de la aterosclerosis en trasplantados renales, confrontando los métodos de RB, Placa Carotídea, ECC.

## Discusión

En este estudio, se evaluó la carga aterosclerótica de pacientes trasplantados renales con el empleo del score de calcio coronario y del *duplex scan* de las carótidas y la reactividad braquial mediante el ultrasonido.

La aterosclerosis es una enfermedad sistémica, silente muchas veces y potencialmente mortal, siendo que la reducción de su riesgo es costo-efectiva<sup>10</sup>. Lo que se hace necesario es la estratificación de forma criteriosa, permitiendo identificar grupos de mayor riesgo para la enfermedad. El score recomendado y utilizado habitualmente es el de Framingham, que es bastante simple y de fácil aplicabilidad, pero que, sin embargo, presenta algunas limitaciones<sup>11,12</sup>. En el intento de se determinar los individuos considerados de medio riesgo, aquellos con probabilidad del 10%, de tener un evento cardiovascular en diez años, algunas pruebas han sido utilizadas, tales como, el DSC de las carótidas, el ECC y los tests provocativos de isquemia. Cabe resaltar que no hay todavía directrices establecidas para este grupo de riesgo intermediario<sup>13</sup> y que la selección de los exámenes debe ser criteriosa e individualizada, tomándose en consideración factores de riesgo presentes y datos de historia familiar.

Chambless et al.<sup>14</sup> evidenciaron que tanto la reducción de los niveles de presión y del colesterol, como el control del tabaquismo retardan la evolución de la aterosclerosis y de la incidencia de eventos coronarios. El marcador ideal de la aterosclerosis debe ser sensible, de preferencia no invasivo, debe tener relación con el desenlace de eventos cardiovasculares, con

Tabla 1 - Datos clínicos y laboratoriales de 30 pacientes trasplantados renales

Variables	Estadísticas descriptivas						
	Promedio	DE	Mínimo	1º cuartil	Mediana	3º cuartil	Máximo
Edad (años)	41,3	10,1	19,0	35,5	41,0	49,3	59,0
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	25,3	4,6	19,1	21,8	24,1	27,8	38,8
Glucosa	97,9	22,9	58,0	82,5	93,5	116,3	149,0
Urea	39,3	13,1	19,3	30,0	34,8	46,5	70,6
Cistatina C	1,35	0,30	0,90	1,16	1,32	1,60	2,08
PCR-T	8,06	26,26	0,13	0,68	1,67	4,28	144,20
Colesterol total	191,9	45,6	125,0	165,5	183,0	210,3	367,0
Triglicéridos	182,4	104,6	68,0	124,0	147,0	224,8	528,0
HDL	44,1	8,6	32,0	37,5	43,0	48,3	64,0
LDL	110,3	31,1	49,0	89,8	106,5	131,0	197,0
Sodio	140,2	2,0	137,0	138,8	140,0	141,3	145,0
Potasio	4,42	0,40	3,70	4,10	4,35	4,70	5,70
Ácido úrico	6,47	1,20	4,40	5,85	6,30	7,20	9,40
Clearance	61,5	24,2	24,7	42,7	58,7	80,2	117,1
Hemáties	5,17	0,82	3,33	4,71	4,93	5,65	7,40
Hemoglobina	14,8	2,1	9,9	13,5	14,2	15,9	21,0
Hematocrito	44,9	6,4	31,5	41,6	43,3	47,9	63,9
Von Willebrand (%)	80,5	81,6	10,0	13,4	46,5	121,4	357,6
Pro-BNP	314,1	453,6	10,6	55,7	148,4	292,0	2089,0
Interleucina 6	3,20	4,60	0,40	1,00	1,20	3,78	24,60
Espesor de la íntima	0,70	0,21	0,40	0,50	0,60	0,90	1,10
Tamaño del riñón	11,7	1,0	9,3	11,0	11,8	12,4	13,4
Flujo anast	92,5	29,9	51,0	72,0	90,0	101,8	181,3
IR	0,62	0,05	0,51	0,60	0,62	0,65	0,76
Calcio	77,0	179,8	0,0	0,0	0,0	28,6	750,0
Presión arterial promedio	107,0	20,0	73,3	93,3	106,7	117,5	153,3

IMC - índice de masa corporal; PCR - t - proteína C reactiva titulada; HDL - high density lipoprotein; LDL - low density lipoprotein; pro BNP - pro brain natriuretic peptide; IR - índice de resistencia.

buena especificidad, y permitir diferenciar la presencia o ausencia de la enfermedad cardiovascular<sup>15</sup>.

La determinación del espesor intimal carotídeo está consolidada como un óptimo marcador en la detección de la aterosclerosis. Actualmente, lo que se recomienda es que

esa evaluación tenga en cuenta el grupo de edad, el sexo y la etnia, de modo que se pueda establecer un paralelo entre la edad cronológica y la edad vascular<sup>16,17</sup>.

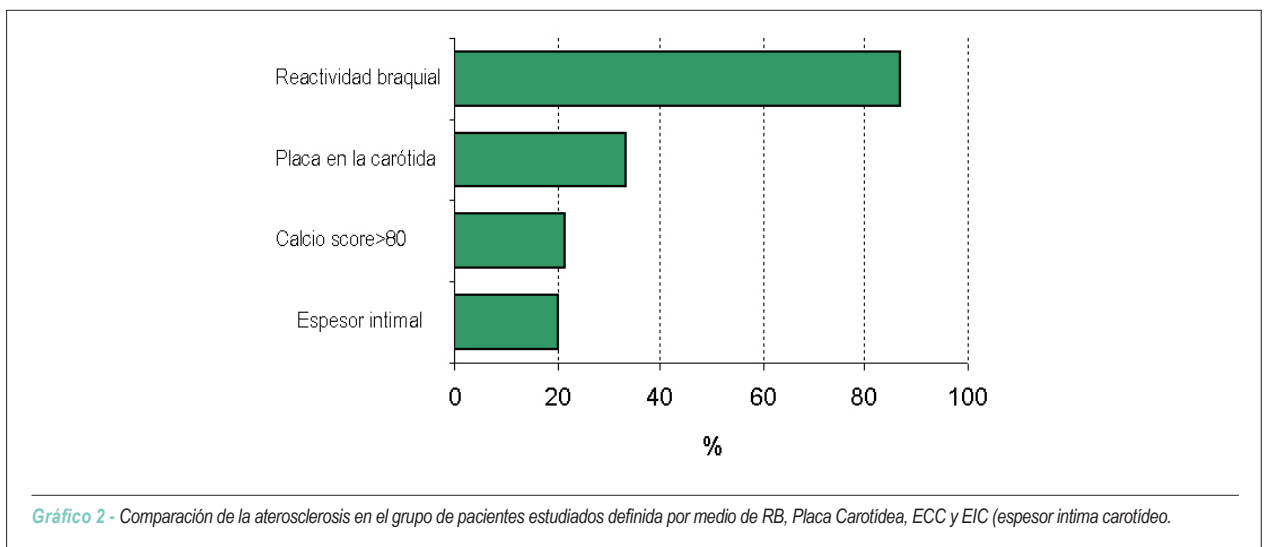
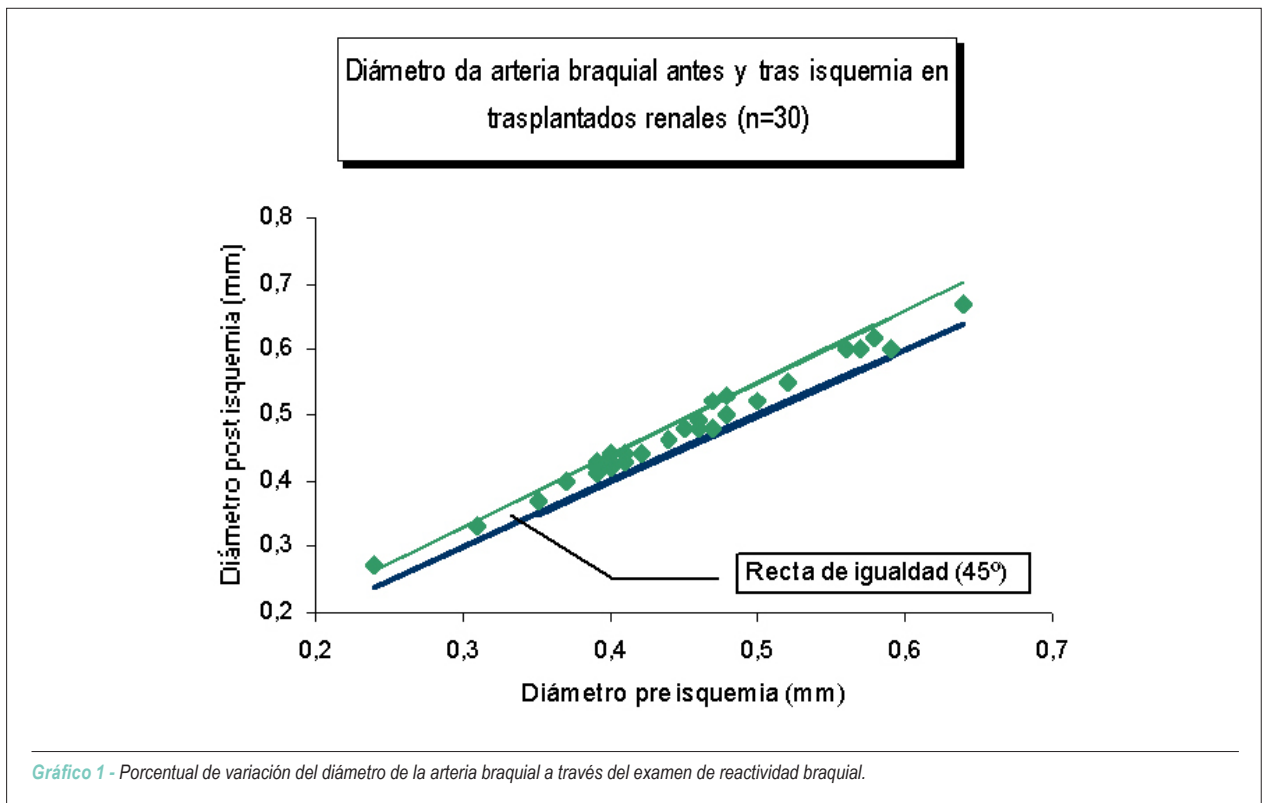
No se sabe aún cual es el mejor punto de corte del ECC, pero valores >400 tienen alta especificidad y correlación con lesión superior a un 70% de obstrucción coronaria. Newman et al.<sup>4</sup> evaluaron a 414 individuos con edad promedio de 79 años y observaron que el 38% de los individuos tenían ECC > 400. Además de ello, revelaron que el 17% de estos pacientes se considerarían normales si se utilizaba una composición de otros tres métodos (ECC, índice tobillo-brazo y EIC). Aun en edades avanzadas hay una correlación entre calcificación coronaria e infarto agudo de miocardio<sup>18</sup>.

En el presente estudio, se consideró anormal el ECC cuando >80 por la escala de Agatston, y se lo observó en 5 (21,7%) de los 23 pacientes estudiados. Este porcentual es relativamente bajo, siendo que se deben mencionar algunas posibilidades. La primera es que la tomografía puede no ser

Tabla 2 - Estadísticas descriptivas del diámetro de la arteria braquial y variación post isquemia en trasplantados renales masculinos (n=30)

	Promedio	DE	Mínimo	Máximo
Diámetro pre-isquemia (mm)	0,45	0,09	0,24	0,64
Diámetro post-isquemia (mm)	0,47	0,09	0,27	0,67
Variación (%)	6,4	2,5	1,7	12,5

Nota - variación porcentual promedio para 22 "controles" sanos = 11,9%



el método ideal para detectar aterosclerosis en enfermos renales debido a la incapacidad de distinguir calcificaciones intimales de la aterosclerosis de las calcificaciones del promedio, comunes en enfermos renales<sup>19</sup>. Además de ello, el control clínico adecuado de los pacientes estudiados puede estar retardando el apareamiento de las calcificaciones. Finalmente, la baja franja de edad del grupo (promedio de 41,3 años), la ausencia de diabéticos, el buen control

medicamentoso de la dislipidemia y de la hipertensión arterial, asociados al corto período de tiempo de diálisis pre-transplante (< 1 año) y al posible efecto antiinflamatorio de los fármacos post transplante, pueden estar retardando la calcificación coronaria.

Se sabe que la calcificación de las arterias coronarias ocurre solamente en arterias ateroscleróticas, y que la aterosclerosis es necesaria, pero no el suficiente para desarrollar un evento

coronario. En los enfermos renales, algunas variables pueden propiciar diferentes grados de calcificación coronaria, entre las cuales: el tiempo de enfermedad renal, la edad de los pacientes y la extensión de la enfermedad. No se tiene la certidumbre si un desequilibrio en la relación de calcio y fósforo, que puede estar presente en los enfermos renales, sería asimismo un factor a más a favorecer un aumento en el ECC de estos pacientes<sup>20,21</sup>.

Se ha utilizado el examen de la RB más como investigación que una herramienta clínica. Esto se debe a algunos factores, entre los cuales: técnica nueva validándose aún, es un test operador dependiente, con directrices recientemente establecidas, y que se han perfeccionando. Se sabe que la disfunción endotelial, que se evalúa mediante la técnica de la reactividad braquial, puede preceder a la formación de placas de ateroma y tal vez al daño en la microcirculación, pero quizá no logre cuantificar el impacto del daño endotelial en otros órganos<sup>21,22</sup>.

Una de las principales limitaciones de este estudio es que se trata de una evaluación transversal. O sea, para evaluación de la ateromatosis subclínica, el tiempo de exposición de los pacientes a los factores de riesgo es un dato importante. Tal vez el grupo de edad más joven de la población estudiada (promedio de 41 años) represente una segunda limitación. Respecto a los métodos utilizados, el espesor intimal carotídeo y el score de calcio coronario se deberían evaluar tendiéndose en cuenta el grupo de edad, el sexo y hasta aun la etnia. Infelizmente, todavía no hay tablas en nuestro país con estos datos. Cabe aún resaltar que el test de la reactividad braquial es nuevo, operador dependiente, y necesita una curva de aprendizaje.

Se debe destacar que la enfermedad cardiovascular es la mayor causa de mortalidad en los pacientes con insuficiencia renal crónica avanzada y en aquellos sometidos a trasplante

renal<sup>23</sup>, siendo que la detección de una carga aterosclerótica importante puede ayudar en la estratificación de riesgo de esta población.

Concluyendo, en esta casuística, la detección de la carga aterosclerótica fue más significativa en el test de reactividad braquial y menos común al se evaluar la presencia de placa carotídea al *duplex scan* o el score de calcio coronario. Por tratarse de una población de alto riesgo, trasplantados renales quizá merecieran una estrategia más agresiva de investigación diagnóstica de la función endotelial y de ateromatosis subclínica incluyendo ensayos de laboratorio, test de reactividad braquial, *duplex scan* de carótidas y evaluación del score de calcio coronario. Nuevas estrategias para disminuir el riesgo de eventos cardiovasculares incluyendo tratamientos individualizados y hasta aun más intensos pueden reducir los eventos cardiovasculares<sup>24</sup>. Más estudios se necesitarán para confirmar si la detección precoz de aterosclerosis subclínica en poblaciones de riesgo se beneficiará por una estrategia de prevención más agresiva.

### Potencial Conflicto de Intereses

Declaro no haber conflicto de intereses pertinentes.

### Fuentes de Financiación

El presente estudio no tuvo fuentes de financiación externas.

### Vinculación Académica

Este artículo forma parte de tesis de Doctorado de Claudio Domenico Sahione Schettino, por la Universidad Federal de Río de Janeiro.

## Referencias

1. Verma S, Anderson T. Fundamentals of endothelial function for the clinical cardiologist. *Circulation*. 2002; 105: 546-9.
2. Hermann J, Lerman A. The endothelium: dysfunction and beyond. *J Nucl Cardiol*. 2001; 8: 197-206.
3. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, et al. Non invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet*. 1992; 30: 1111-5.
4. Newman AB, Naydeck BL, Sutton-Tyrrell K, Edmundowicz D, leary DO, Kronmal R, et al. Relationship between coronary artery calcification and other measures of subclinical cardiovascular disease in older adults. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002; 22: 1674-9.
5. Ebrahim S, Papacosta O, Whincup P, Wannamethee G, Walker M, Nicolaides AN, et al. Carotid plaque, intima media thickness, cardiovascular risk factors, and prevalent cardiovascular disease in men and women. The British Regional Heart Study. *Stroke*. 1999; 30: 841-50.
6. Held C, Hjemsdahl P, Eriksson SV, Bjorkander I, Forslund L, Rehnqvist N. Prognostic implications of intima media thickness and plaques in the carotid and femoral arteries in patients with stable angina pectoris. *Eur Heart J*. 2001; 22: 62-72.
7. Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, et al. Guidelines for the ultrasound assessment of the endothelial-dependent flow mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol*. 2002; 39: 257-65.
8. Douglas PS. Using imaging for cardiovascular risk prediction: an overview. *J Am Soc Echocardiogr*. 2004; 17: 350-2.
9. Moreno PR, Fuster V. The year in atherothrombosis. *J Am Coll Cardiol*. 2004; 44: 2099-110.
10. Cohn JN, Quyyuni AA, Hollenberg NK. Surrogate markers for cardiovascular disease: functional markers. *Circulation*. 2004; 110 (Suppl. 4): IV31-IV36.
11. Wilson P W, D'Agostinho R B, Levy D. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation*. 1998; 97: 1837-45.
12. D'Agostinho RB Sr, Grundy S, Sullivan LM, Wilson P. CDH Risk Prediction Risk. Validation of the Framingham coronary heart disease prediction scores: results of a multiple ethnic groups investigation. *JAMA*. 2001; 286 (2): 180-7.

13. Greenland P, Gaziano M. Selecting asymptomatic patients for coronary computed tomography or electrocardiography exercise testing. *N Engl J Med*. 2003; 349: 465-73.
14. Chambless LE, Folsom AR, Davis V, Sharrett R, Heiss G, Sorlie P, et al. Risk factors for progression of common carotid atherosclerosis: the Atherosclerosis Risk in Communities Study, 1987-1998. *Am J Epidemiol*. 2002; 155: 38-47.
15. de Groot E, Hovingh K, Wiegman A, Duriez P, Smit AJ, Fruchart JC, et al. Measurement of arterial wall thickness as a surrogate marker for atherosclerosis. *Circulation*. 2004; 109 (23 Suppl. 1): III33-8.
16. Stein JH, Douglas PS, Srinivasan SR, Bond MG, Tang R, Li S, et al. Distribution and cross sectional age related increases of carotid artery intima media thickness in young adults: the Bogalusa Heart Study. *Stroke*. 2004; 35: 2782-7.
17. Stein JH. Carotid intima media thickness and vascular age: you are only as old your arteries look. *J Am Soc Echocardiogr*. 2004; 17: 686-9.
18. Thompson GR, Partridge J. Coronary calcification score: the coronary-risk impact factor. *Lancet*. 2004; 363: 557-9.
19. Sarnak MJ, Levey AS, Schoolwerth AC, Coresh J, Culleton B, Hamm LL, et al. AHA Councils on Kidney in Cardiovascular Disease. High Blood Pressure Research, Clinical Cardiology, and Epidemiology and Prevention. *Circulation*. 2003; 108: 2154-69.
20. McCullough PA, Soman S. Cardiovascular calcification in patients with chronic renal failure: are we on target with this risk factor? *Kidney Int Suppl*. 2004; 90: 518-24.
21. Kuvin JT, Karas RH. Clinical utility of endothelial function testing. *Circulation*. 2003; 107: 3243-7.
22. Vogel RA, Correti MC, Plotnick GD. A comparison of brachial artery flow-mediated vasodilatation using upper and lower arm arterial occlusion in subjects with and without coronary risk factors. *Clin Cardiol*. 2000; 23: 571-5.
23. de Souza Delgado D, Gerola LR, Hossne NA Jr, Branco JN, Buffolo E. Revascularização do miocárdio em pacientes com transplante renal. *Arq Bras Cardiol*. 2002; 79 (5): 476-9.
24. Gill JS. Cardiovascular disease in transplant recipients: current and future strategies. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2008; 3 (Suppl 2): S29-37.