

ARTICULO

Lupus eritematoso sistémico en niños: caracterización de 30 casos

Maria de los Reyes Chacón de Petrola, Velmar Quintero,
Maria Elisa Flores Chavez, Alcira Torres

Unidad de Investigaciones en Inmunología
Clínica. Universidad de Carabobo. Unidad de
Inmunología. Ciudad Hospitalaria Enrique
Tejera. Valencia, Venezuela

Correspondencia: MR Chacón
de Petrola

E-mail: mreyes72ch@gmail.com

Recibido: Enero 2008 **Aprobado:** Junio 2009

El Lupus Eritematoso Sistémico (LES) pediátrico, es usualmente severo con compromiso orgánico importante. En el presente estudio se caracterizó la enfermedad, se establecieron los criterios diagnósticos iniciales y se relacionó la sintomatología con la edad y evolución del paciente. Previa consentimiento informado por escrito, se realizó un estudio longitudinal– prospectivo en 30 pacientes entre 6 y 18 años de edad, (Unidad de Inmunología - Ciudad Hospitalaria Enrique Tejera - enero 2006 - julio 2007) (22: controles cada tres meses, enero 2006 – Julio 2007 y 8 con controles previos: revisión de historias clínicas), con mínimo 4 criterios + (American College of Rheumatology) para LES. El 82.8%: sexo femenino. Promedio edad inicio: 12.37 (± 3.35): masculino: 14.4 \pm 4.7, femenino: 15.3 \pm 4.1 años ($P > 0.05$). Criterios diagnósticos iniciales más frecuentes: alteraciones inmunológicas: 68,9%, (anticuerpos anti DNA: 60% - anti Sm: 28,57% - antifosfolípidos: 27,77%), anticuerpos antinucleares positivos: 68,9% y alteraciones renales 62,1%; la asociación que se presentó con mayor frecuencia fue artritis, desórdenes inmunológicos y anticuerpos antinucleares. Evolución durante controles: signo más frecuente, (72,4%) artritis y/o artralgias (una o más articulaciones), disminuyó su incidencia entre los niños de más edad; las alteraciones en piel fueron más frecuentes en niños menores de 10 años y la elevación de la temperatura entre 11 y 15 años de edad, alteraciones renales se presentaron en 50% de los niños con edades entre los 11 y 15 años. Mala evolución asociada con: 1) rash discoide, artritis, alteraciones renales o neurológicas, serositis, y/o fiebre. 2) 5 o más criterios positivos 3) Depuración de creatinina disminuida. 4) Complemento sérico disminuido

Palabras Clave: Lupus eritematoso sistémico, pediatría, diagnóstico. LES

ABSTRACT

Pediatric systemic lupus erythematosus: characterization of 30 cases

Systemic Lupus Erythematosus (SLE) in children is usually severe, with major organic involvement. In the present study the disease was characterized; diagnostic criteria were established, and initial symptoms were related to age and evolution of the patient. After informed written consent, a prospective longitudinal study was carried out on 30 patients between 6 and 18 years of age (Immunology Unit - Enrique Tejera Hospital City - January 2006-July 2007) (22 with follow-ups every three months, January 2006 - July 2007, and 8 with prior follow-ups: review of medical records), with a minimum of 4 criteria (American College of Rheumatology) for SLE. 82.8% female. Average age of onset: 12.37 (\pm 3.35); male 14.4 \pm 4.7, female 15.3 \pm 4.1 ($P > 0.05$). Most frequent initial diagnostic criteria: immunological, 68.9%, (DNA antibodies: 60% - Anti Sm: 28.57% - antibodies: 27.77%), positive antinuclear antibodies 68.9% renal impairment 62.1%. Most frequent association: with arthritis, antinuclear antibodies and immune disorders. Developments during follow-ups: most frequent sign, arthritis and/or arthralgia in one or more joints, 72.4%; incidence decreased among older children. Skin disorders were more common in children under 10 years of age, and temperature rise in those aged 11 to 15. Renal impairment was present in 50% of children aged between 11 and 15. Poor outcome was associated with: 1) discoid rash, arthritis, kidney or neurological disorders, serositis, and/or fever. 2) 5 or more positive criteria. 3) Decreased creatinine clearance. 4) Decreased serum complement

Palabras clave: pediatric systemic lupus erythematosus, diagnosis SLE, pediatric SLE

INTRODUCCION

El Lupus Eritematoso Sistémico (LES), prototipo de las enfermedades autoinmunes, es una alteración multisistémica que se caracteriza por un cuadro clínico variable y diversas anormalidades serológicas (1). Su incidencia en adultos se estima en 2-7,6 /10⁵ por año, con una prevalencia de 12-50/10⁵: en el 20% de los pacientes la enfermedad se inicia en la infancia, ocupa el segundo lugar entre las enfermedades del colágeno infantiles, y para algunos autores, el 15% de los pacientes inicia la enfermedad antes de los 18 años, representando los niños entre el 8 y el 18% de todos los LES (2) (3) (4) (5) (6). Su diagnóstico debe ser considerado en todo niño, particularmente adolescente, con una historia de sintomatología multisistémica por más de una semana de duración y sin diagnóstico preciso (7). Aunque la presentación clínica y los hallazgos inmunológicos son similares a los reportados entre la población adulta, los niños usualmente tienen una enfermedad más severa con altos grados de compromiso orgánico (8).

Recientemente se han descrito las principales características de ésta enfermedad en niños latinoamericanos, indicando algunas diferencias en las formas de presentación relacionadas con las razas de los niños estudiados, adicionalmente también se ha reportado la existencia de una amplia variación en las formas de presentación de la enfermedad, relacionada con factores ambientales, genéticos y geográficos (9, 10).

El objetivo del presente estudio es caracterizar el LES en un grupo de pacientes pediátricos, controlados en la Unidad de Inmunología de la Ciudad Hospitalaria Enrique Tejera, entre enero del año 2006 y julio del 2007, estableciendo los criterios diagnósticos presentes en el inicio de la

enfermedad, relacionando las manifestaciones iniciales con la edad de diagnóstico, y la evolución del paciente..

..

MATERIALES Y MÉTODOS

Se trata de un estudio longitudinal– prospectivo. Se incluyeron 30 niños, entre 6-18 años de edad, con diagnóstico confirmado de LES (mínimo 4 criterios del American College of Rheumatology -ACR- positivos) (11), controlados en la Unidad de Inmunología de la Ciudad Hospitalaria Enrique Tejera, Valencia (Venezuela), de los cuales, 22 fueron evaluados cada tres meses durante el tiempo de duración del presente estudio, (enero 2006 – Julio 2007), los 8 restantes fueron caracterizados por revisión de las historias clínicas, por cuanto fueron controlados durante los años previos a la realización del estudio, por los autores del presente trabajo., (2000 – 2006) sin acudir a evaluaciones durante el lapso de tiempo considerado en el estudio. Se elaboró un instrumento de recolección, en donde se vertieron todos los datos clínicos (1.- Revisión de las historias clínicas de los 8 pacientes con controles previos al inicio del estudio. 2.- Detalles del seguimiento periódico de los 22 pacientes incluidos). Para cada paciente en el momento del diagnóstico se consideró la presencia de criterios diagnósticos para LES según AC (11). También fueron considerados los siguientes parámetros: edad, sexo, historia familiar positiva para enfermedades autoinmunes (parentesco en primero y segundo grado de consanguinidad), antecedentes previos de enfermedades, características clínicas y de laboratorio en el momento del diagnóstico, así como la evolución durante el año de seguimiento. Las manifestaciones clínicas incluyeron la presencia de alteraciones en piel y/o mucosas, articulaciones (artritis y/o artralgia por lo menos en una articulación), músculos (mialgias), riñón (proteinuria- persistente, mayor de 0,5 grs por día, y/o hematuria, cilindruria, creatinina sérica elevada), pericardio (pericarditis), sistema nervioso (convulsiones o psicosis lúpica), pleura (pleuritis), sangre (anemia, leucopenia: $<4000/\text{mm}^3$, linfopenia: $< 1500/\text{mm}^3$ o trombocitopenia: $< 100.000/\text{mm}^3$) y fiebre. Para el estudio de la sintomatología los pacientes fueron distribuidos en tres grupos etarios para el momento del diagnóstico: Grupo I: 6 - 10 años, Grupo II: 11- 15 años, y Grupo III: Entre 16 y 18 años. Los parámetros inmunológicos de laboratorio incluyeron: Complemento sérico (fracciones C3 y C4), anticuerpos antinucleares (ANA y/o anti DNA). Se consideró una buena evolución del cuadro cuando el paciente durante el año de seguimiento no tuvo hospitalizaciones ni disminuciones del complemento sérico. El consentimiento informado por escrito de los representantes legales fue requisito indispensable para la inclusión de los pacientes.

La información obtenida de los pacientes investigados fue procesada estadísticamente utilizando el programa SPSS ver 10, mediante el cual se realizaron los cálculos de frecuencias y porcentajes que se muestran en las tablas y gráficos correspondientes. También se utilizó, para realizar el análisis de significación estadística, el test t de Student para establecer la significación o no de la diferencia de promedios de dos muestras independientes. Otro test aplicado fue extensión de Freeman - Halton de la prueba de Probabilidad Exacta de Fisher para tablas de 2 X 3, para conocer la existencia o no de asociación significativa entre las variables categorizadas.

El nivel de significación fijado para las pruebas mencionadas fue de menos de 0,05 ($P < 0,05$).

RESULTADOS

El 83,8% de los pacientes fue de sexo femenino, con un franco predominio en todos los grupos etarios (Figura 1).

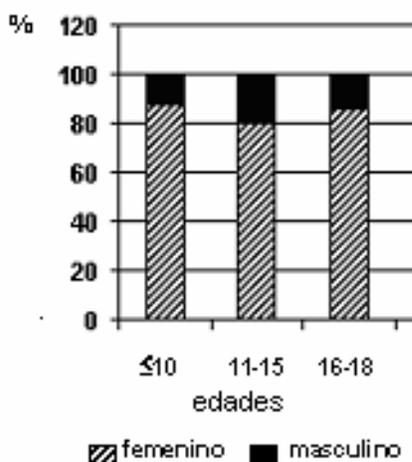


Fig. 1. Porcentaje de LES de acuerdo a las edades

La edad promedio para el momento del diagnóstico de LES de 12.37 (± 3.35) años, ($14,4 \pm 4,7$ y $15,3 \pm 4,1$ sexos masculino y femenino respectivamente, sin diferencias estadísticamente significativas). En 4 pacientes (13,33%) se encontró una historia familiar positiva para enfermedades autoinmunes (3 artritis reumatoide – 1 diabetes mellitus tipo 1), y dos pacientes refirieron LES en hermanos. El 26,66% de los pacientes reportó la presencia de enfermedades autoinmunes por lo menos 6 meses previos al diagnóstico definitivo de LES, siendo la más frecuente la púrpura trombocitopénica idiopática (4 pacientes: 3 femeninos) seguida de hepatitis autoinmune, (2 casos: masculino, 13 años y femenino, 15 años), y carditis y pancreatitis en dos pacientes.

Los criterios para LES presentes para el momento del diagnóstico se especifican en la Figura 2, los reportados con mayor frecuencia fueron: alteraciones inmunológicas (68,9%), (anticuerpos anti DNA: 60% - anti Sm: 28,57% - antifosfolípidos: 27,77%), anticuerpos antinucleares positivos (68,9%) y alteraciones renales (62,1%), siendo la asociación que se presentó con mayor frecuencia la de artritis, desórdenes inmunológicos y anticuerpos antinucleares (10% del grupo total de pacientes).

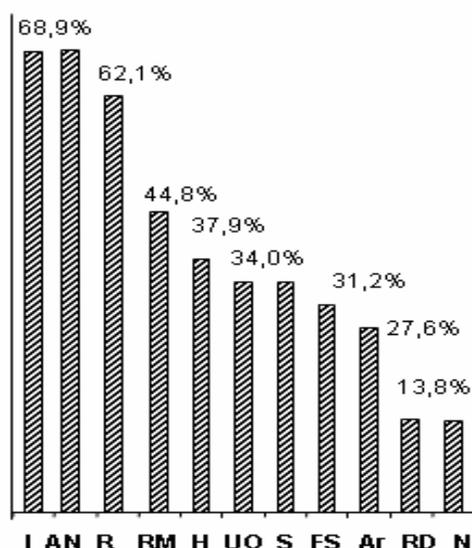


Fig. 2 Distribución porcentual de criterios positivos para LES para el momento del diagnóstico.

I : inmunológicos;
 AN: ANA;
 R: renales;
 RM: rash malar;
 H: hematológicos; UO: úlceras orales;
 S: serositis;
 FS: fotosensibilidad;
 Ar: artritis;
 RD: rash discoide;
 N: neurológicos

El patrón más frecuente de anticuerpos antinucleares fue el moteado (80% del grupo ANA positivo). Los anticuerpos anti DNA fueron positivos en el 55% de los casos ANA positivos y en el 57,14% de los negativos. En solamente un 14,81% de los casos se encontraron anticuerpos antifosfolipidicos. El patrón de autoanticuerpos mas frecuentemente encontrado en el sexo femenino fue: ANA+, anti DNA+ Antifosfolípidos +, mientras que entre los pacientes masculinos fue: ANA+, anti DNA +, anti Sm +.

Todos los pacientes con excepción de uno (96,67%) presentaron disminución de las cifras de complemento sérico en el inicio de la enfermedad.

Durante el seguimiento de los pacientes, la artritis y/o artralgias de una o más articulaciones fue el signo que se presentó con mayor frecuencia durante la evolución (72,4%), disminuyendo su incidencia entre los niños de más edad, seguido por alteraciones en piel, que se presentaron con mayor incidencia en los niños por debajo de los 10 años; la elevación de la temperatura fue más frecuente entre los 11 y 15 años de edad, mientras que las anomalías renales se presentaron durante los controles en el 50% de los niños con edades iniciales entre los 11 y 15 años de edad. (Tabla 1)

Tabla 1 Distribución porcentual de manifestaciones clínicas durante el año de control según grupos de años de edad

Síntomas	Edad			Todos
	6-10 (%)*	11 – 15 (%)*	16 – 18 (%)*	
Articulares	100	78,6	28,6	72,4
Piel	75	35,7	42,9	48,3
Fiebre	20	63,6	50	37,9
Renales	12,5	50	14,3	31
Pericarditis	25	42,9	0	28,6
Pleuritis	12,5	50	0	28,6
Mialgias	50	14,3	0	20,7
Hematológicos	12,5	7	33,3	14,3
Neurológicos	12,5	7,1	28,6	13,8

* Porcentaje en base al total de pacientes de cada grupo de edad

En relación con el funcionalismo renal, el 37,9% del grupo total estudiado presentó disminución de la depuración de creatinina en algún momento de su evolución, con la mayor incidencia para el grupo entre los 11 y 15 años; en el 30% de los pacientes con depuración normal se evidenció la presencia de proteinuria y/o cilindruria durante los controles.

Todos los pacientes fueron sometidos a tratamiento (esteroides – oral o parenteral, y/o inmunosupresores). Un 13,63% de pacientes abandonaron el control, del grupo restante, 59,09% evolucionó satisfactoriamente durante el año de seguimiento, (50% de los pacientes masculinos y 61,11% de los femeninos), sin hospitalizaciones ni recaídas; y el 40,9%, a pesar del tratamiento, presentó recaídas asociadas fundamentalmente a niveles de complemento persistentemente disminuidos y/o infecciones sobreagregadas; la presencia de enfermedad neurológica, convulsiones o psicosis lúpica ensombreció el pronóstico (75% de estos pacientes: mala evolución). No se encontró asociación significativa entre la edad de diagnóstico de la enfermedad y la evolución (Tabla 2)

Tabla 2 Relación entre la edad de inicio de la enfermedad y la evolución de los pacientes

EVOLUCIÓN	Edad (años)			TOTAL (n/%)**
	6-10 (n/%)*	11 – 15 (n/%)*	16 – 18 (n/%)*	
BUENA	5 (38,4)	6 (46,1)	2 (15,4)	13 (59,10)
MALA	3 (33,3)	5 (55,5)	1 (11,1)	9 (40,9)

* Porcentaje en base al total de pacientes de cada grupo de edad

** Porcentaje en base al grupo total controlado P>0,05.

La evolución tórpida, con hospitalizaciones se evidenció entre los pacientes que inicialmente presentaron: 1) rash discoide, artritis, alteraciones renales o neurológicas, serositis, y/o fiebre. 2) 5 o más criterios positivos 3) Depuración de creatinina disminuida. 4) Complemento sérico disminuido .

DISCUSIÓN.

Varios estudios sobre el LES pediátrico sugieren que la edad de inicio modifica la expresión de la enfermedad en términos de su presentación clínica, patrón de compromiso de órganos y alteraciones serológicas. En el presente estudio se evidencia la franca predilección de la enfermedad por el sexo femenino en los tres grupos etarios considerados; en relación con este punto, a pesar del significativo papel que juegan las hormonas sexuales en la patogénesis de la enfermedad, factores genéticos y ambientales están también íntimamente relacionados con las manifestaciones clínicas, y hay estudios similares al presente que reportan predilección por el sexo femenino entre niños menores de 11 años, aunque para otros autores esta prevalencia se hace evidente después de los 10 años de vida (1- 8- 12-13). En relación con la edad de inicio de la enfermedad de los pacientes incluidos, 12.37 (± 3.35) años, si bien fue un poco más alta entre el grupo femenino, esta diferencia no fue significativa, y se corresponde con lo reportado por otros autores (3,13).

Se ha descrito que en los primeros años de vida, la combinación del grado de inmadurez inmune con la presencia de infecciones a repetición, unido a una predisposición genética, podrían tener un papel protagónico en la patogénesis del LES; en relación con este último factor, aunque se ha publicado una mayor frecuencia de antecedentes familiares de enfermedades autoinmunes en los casos de LES pediátricos que entre los adultos (1), no obstante, en el presente estudio solamente en 5 pacientes (13,3%) la historia en este punto fue positiva, y 4 de ellos inician la enfermedad por encima de los 10 años. Sin embargo, es importante observar que, sumado al componente herencia, las condiciones geográficas y socioeconómicas afectan la calidad de vida y pueden ser un elemento importante en la patogénesis de la enfermedad, modulando su presentación clínica (14).

Los criterios presentes con mayor frecuencia en el momento del diagnóstico, fueron: alteraciones inmunológicas o renales y anticuerpos antinucleares positivos. En este particular, publicaciones previas reportan resultados heterogéneos: Uziel y col en 102 pacientes (13,3 \pm 2,6 años) describe cambios hematológicos: 94%, rash malar 49%, artritis 45% y alteraciones renales 41% (3); Falcini y col (23 pacientes) reportan como manifestación inicial de la enfermedad fiebre, malestar y pérdida de peso (8). En una revisión de las formas de presentación al inicio del LES en niños, publicada por Tucker y col (2) se precisa que es bastante variable: las alteraciones renales oscilan entre 20 y 84% dependiendo del estudio, el rash malar entre 21 y 68%, la artritis entre 39 y 74%.

Los anticuerpos antinucleares estuvieron presentes en 68,9% de los pacientes, porcentaje inferior al reportado por otros investigadores que dan cifras de positividad entre 90 y 95%. Para las alteraciones serológicas, la presencia de anticuerpos anti DNA oscila en trabajos similares entre 65 y 91,7%, y de anticuerpos antifosfolípidos entre 33 y 50%, en el presente trabajo 68,9% de los pacientes tuvieron alteraciones inmunológicas, con una mayor incidencia de anticuerpos anti DNA (60%), seguido de anticuerpos anti Sm y antifosfolípidos de 28,5% y 27,7% respectivamente, cifras semejantes a las previamente reportadas (1- 3).

En relación con las alteraciones neurológicas, presentes en 13,7% del grupo total de pacientes, (15,3% con convulsiones y 7,14% con psicosis lúpica), es de hacer notar que estas cifras muy probablemente no reflejen totalmente la realidad del grado de afectación neurológica en estos pacientes, pues hoy en día se cree que la enfermedad neuropsíquica puede estar presente en un porcentaje mucho más alto que el precisado (entre el 18 y el 46%) (1), y para algunos investigadores, dentro de este criterio deberían de incluirse, entre otros, trastornos de la función cognoscitiva, cefaleas, cambios de carácter, los cuales son de difícil diagnóstico sobre todo entre la población adolescente (15). Se ha publicado la existencia de una relación negativa entre la presencia de trastornos neuropsiquiátricos y el compromiso renal en el momento del diagnóstico, en el presente trabajo de los 18 pacientes que presentaron alteraciones renales durante el seguimiento realizado, solamente en 3 de ellos se evidenciaron alteraciones neuropsiquiátricas (13,16). Aunque es muy probable que las diferencias entre los criterios diagnósticos iniciales de las diferentes publicaciones, estén relacionadas con factores genéticos o ambientales, el presente trabajo no tiene bases suficientes para precisarlo con seguridad.

Se ha descrito que las manifestaciones articulares son poco frecuentes en niños menores de 2 años, y su incidencia aumenta con la edad de los pacientes (1); en el presente estudio, los síntomas articulares fueron los que se presentaron con mayor frecuencia, sobre todo en el grupo diagnosticado entre los 6 y 10 años de edad; los trastornos renales y la serositis (pericarditis y/o pleuritis) estuvieron presentes en mayor proporción entre los niños con edad de diagnóstico comprendida entre los 11 y 15 años, lo que coincide con lo reportado por otros autores (1) (8). Las mialgias y las alteraciones en piel fueron más frecuentes en los niños con diagnóstico entre los 6 y 10 años, a

diferencia de otros autores que indican una mayor frecuencia de estos síntomas entre pacientes diagnosticados después de los 11 años (1).

En relación con la evolución de la enfermedad, de los 22 pacientes seguidos, 40,9% evolucionaron en forma tórpida, asociándose en estos casos la presencia de 1) rash discoide, artritis, serositis, y/o fiebre, 2) falla renal o neurológica y 3) crisis de la enfermedad evidenciada por niveles séricos de complemento disminuidos. En reportes similares al presente se asocia el mal pronóstico con falla renal, alteraciones neurológicas y crisis severas de la enfermedad (13 – 17). Aunque característicamente se describe que el diagnóstico de LES en etapas más tempranas de la vida ensombrece el pronóstico, en el presente trabajo no se encontró relación entre la edad de inicio y la evolución durante el año de seguimiento (8-3). Es posible que el tiempo de control no haya permitido encontrar este tipo de asociación.

En conclusión, el LES es una enfermedad autoinmune crónica, en donde las manifestaciones clínicas son variables, al igual que las anomalías serológicas, probablemente relacionadas con factores genéticos, geográficos y socioeconómicos. En los pacientes pediátricos, dado que continuarán con la enfermedad cuando lleguen a la adultez, es importante observar si alguna de las manifestaciones clínicas observadas durante la infancia, influye o se relaciona con la enfermedad tardíamente, en épocas posteriores, con el fin de iniciar o cambiar manejos terapéuticos en los primeros años del diagnóstico.

BIBLIOGRAFIA:

1. Pluchinotta FR, Schiavo B, Vittadello F, Martini G, Perilongo G, Zulian F. Distinctive clinical features of pediatric systemic lupus erythematosus in three different age classes. *Lupus* 2007; 16:550-555.
2. Tucker LB. Making the diagnosis of systemic lupus erythematosus in children and adolescents. *Lupus* 2007; 16: 546-549.
3. Uziel, Y. Gorodnitski N, Mukamel M, Padeh S, Brik R, Barash J, Mevorach D, Berkun Y, Tauber T, Press J, Harel L, Navon P, Rubenstein M, Naparstek Y, Hashkes PJ. Lupus around the World: Outcome of a national Israeli cohort of pediatric systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2007; 16: 142-146
4. Kaufman DB, Laxer RM, Silverman ED. Stein L Systemic ***lupus*** erythematosus in childhood and adolescence--the problem, epidemiology, incidence, susceptibility, genetics, and prognosis. *Curr Probl Pediatr* 1986;16: 545-625
5. Sallmann S, Fiebig B, Hedrich CM, Heubner G, Gahr M. Systemic lupus erythematosus in children and adolescents. *Z Rheumatol* 2006; 65: 576-8, 580-2, 584-5
6. Alvarez P, Gonzalez S, Hernandez N. Compromiso cardiovascular en niños con Lupus Eritematoso Sistémico. *Rev Chil Pediatr* 2000; 71: 328-334.
7. Malleson P, Tekano J. Diagnosis and management of systemic lupus erythematosus in children. *Pediatr Child Health* 2008; 18: 61-69.
8. Falcini F, Nacci F. Systemic lupus erythematosus in the young: the importance of a transition clinic. *Lupus* 2007; 16: 613-617
9. Gomez LA. Childhood systemic lupus erythematosus in Latin America. The GLADEL experience in 230 children- *Lupus* 2008; 17:596-604.
10. Abdwani R. Childhood systemic lupus erythematosus in Sultanate of Oman: demographics and clinical analysis. *Lupus* 2008; 17: 683-686

11. Tan EM, Cohen AS, Fries JF, Masi AT, McShane DJ, Rothfield NF, Green Schaller J, Talal N, Winchester RJ. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis and Rheumatism* 1982; 25:1271-1278.
12. Rosemberg AM. Systemic lupus erythematosus in children. *Springer Semin Immunopathol* 1994; 16: 216-279
13. Olowu WA, Adelusola KA, Senbajo IO. Clinicopathology of childhood-onset renal systemic lupus erythematosus. *Nephrology (Carlton)* 2007; 12: 364-70
14. Lau CS, Yin G, Mok MY. Ethnic and geographical differences in systemic lupus erythematosus: an overview. *Lupus* 2006; 15: 715-719.
15. Beseler SM, Silverman ED. Neuropsychiatric involvement in pediatric systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2007; 16: 564-571.
16. Yu Lung, L. Neuropsychiatric symptoms in Chinese children with systemic lupus erythematosus. *Pediatrics* 2008; 121: 161-162.
17. Hiraki LT, Hamilton J, Silverman ED. Measuring permanent damage in pediatric systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2007; 16: 657-662

