**ENFERMEDAD CELIACA Y LOS MEDIOS DIAGNÓSTICOS.**

**HOSPITAL PEDIATRICO DOCENTE WILLIAM SOLER. 2019**

AUTORES:

 Lic. Mabel L. Andrade Ruiseco1

Dr. Wladimiro F. García Pérez2

Dra. Beatriz Alfonso González3

 Dra. Gissel García Menéndez4

 Dra. Yusimy Davas Andrade5

 Lic. Lilian Zenaida Escalona Muñoz6

1. Hospital William Soler/Dpto. Medios Diagnósticos, La Habana, Cuba. mabelar@infomed.sld.cu. 2, 3, 5. Hospital William Soler/Servicio de Gastroenterología, La Habana, Cuba. wladimir@infomed.sld.cu. 4. Hospital Hermanos Ameijeiras/Dpto. Genética Molecular, La Habana, Cuba, 6. Hospital William Soler/Dpto. Medios Diagnósticos, La Habana, Cuba.

**RESUMEN:**

INTRODUCCION: La enfermedad celiaca es una entidad autoinmune que tiene como detonante la ingesta prolaminas en personas genéticamente susceptibles. OBJETIVOS: Estudiar un grupo de niños a través de medios diagnósticos adecuados para el diagnóstico de Celiaquía y precisar los criterios según la certeza de dichos instrumentos. METODO: Estudiamos 52 niños que, desde la clínica, implicaba medios diagnósticos como la obtención de biopsias duodenales y la clasificación histológica según Marsh, el laboratorio clínico para la determinación de anticuerpos antitransglutaminasa tisular y el laboratorio de biología molecular, que determinó la presencia de moléculas de HLA DQ2 – DQ8 como genética de la enfermedad celiaca RESULTADOS: Como resultado obtuvimos el diagnóstico certero de 26 pacientes con enfermedad celiaca y algunas consideraciones importantes para ser aplicadas en nuestros centros. CONCLUSIONES: El uso de los medios diagnósticos es vital para la certeza diagnóstica de enfermedad celiaca. Sólo el 50% de los pacientes estudiados reunían los criterios de celiaquía.

PALABRAS CLAVES: Enfermedad celiaca, medios diagnósticos, resultados.

**SUMMARY:**

INTRODUCTION: Celiac disease is an autoimmune entity that triggers the ingestion of prolamins in genetically susceptible people. OBJECTIVES: To study a group of children through diagnostic means suitable for the diagnosis of Celiac disease and to specify the criteria according to the certainty of said instruments.METHOD: We studied 52 children who, from the clinic, involved diagnostic means such as obtaining duodenal biopsies and histological classification according to Marsh, the clinical laboratory for the determination of tissue anti-transglutaminase antibodies and the molecular biology laboratory, which determined the presence of molecules of HLA DQ2 - DQ8 as genetics of celiac disease. RESULTS: As a result, we obtained the accurate diagnosis of 26 patients with celiac disease and some important considerations to be applied in our centers. CONCLUSIONS: The use of diagnostic means is vital for the diagnostic certainty of celiac disease. Only 50% of the patients studied met the celiac criteria.

KEY WORDS: Celiac disease, diagnostic means, results.

**I- INTRODUCCIÓN:**

 La enfermedad celiaca (EC) es una enteropatía autoinmune sensible al gluten y otras prolaminas con base genética que se genera al contacto del paciente con proteínas presentes en el trigo, la cebada y el centeno, que provoca tanto síntomas intestinales como extra intestinales. La [celiaquía](https://celicidad.net/no-la-celiaquia/) (EC) es una enfermedad infradiagnosticada debido, entre otras cosas, a la gran variedad de síntomas que pueden presentar los celiacos, de hecho, se estima que entre el 80 y el 85% están aún sin diagnóstico. Los síntomas dependen de la edad del paciente y no siempre son fáciles de asociar con la EC. Por eso es necesario que la información sobre las manifestaciones clínicas llegue al mayor número posible de profesionales de la salud, tanto a los de Atención Primaria como a las distintas especialidades de la Medicina en las que puede verse esta enfermedad. **Las pruebas de diagnóstico de la celiaquía son cuatro que podemos agrupar en dos variantes, la clínica y los exámenes complementarios: 1- sintomatología clínica durante la ingestión de dieta regular y evolución clínica durante una dieta de exclusión y, por otro lado, 2- pruebas serológicas, 3- estudios genéticos y 4- diagnóstico histológico y de éstas, al menos tres deben estar presentes para poder confirmar el diagnóstico de enfermedad celiaca.(1)(2)(3)**

Clínica: El primer paso para **diagnosticar la celiaquía,** es pensar en ella y eso se hace comprendiendo la gran variedad de síntomas y manifestaciones que una persona celiaca puede presentar, que no son los clásicos asociados a la enfermedad. Así que la primera de las pruebas de diagnóstico de la celiaquía o el primer criterio, **es presentar una clínica sugestiva, ya sea con síntomas digestivos o extradigestivos.** Dieta Sin Gluten (DSG): La dieta tiene que ser **seguida estrictamente durante un tiempo mínimo de 6 meses.** Durante ésta y a la finalización de los seis meses de dieta sin gluten estricta suele producirse **una clara mejoría clínica** y una negativización de los anticuerpos, aunque la recuperación de la lesión inflamación intestinal tarda más en desaparecer por completo, pudiendo pasar hasta dos años en recuperarse de las lesiones.(4)(5)

Serología: De cara a la sospecha de celiaquía se procede a indicar un estudio serológico, según las posibilidades, que sería: anticuerpos antitransglutaminasa tisular o αTGt, ésta de procedencia nacional fabricada por el Centro de Ingeniería Genética de Sancti Spiritus. Los [anticuerpos](https://celicidad.net/anticuerpos-de-la-celiaquia/) pueden resultar negativos y sin embargo, ante una clínica susceptible de celiaquía, el especialista debería seguir el estudio del paciente y realizar más pruebas de diagnóstico. Esta serología tiene también el valor de poder ser usada en la comprobación del tratamiento de restricción dietética o DSG y marcan la diferencia en cuestiones de violación o contaminación de la misma.(6)(7)(8)(9)(10)

Pruebas genéticas: Los **marcadores genéticos son otras de las pruebas fundamentales de diagnóstico de la celiaquía.** La celiaquía requiere de predisposición genética para llegar a desarrollarse y actualmente son dos alelos del sistema HLA los que señalan una relación directa con la enfermedad. **Éstos son el DQ2, presente en casi el 90% de los celiacos, el DQ8, que aparece casi en un 5 % de los celiacos.** Sin embargo, los últimos estudios del genoma humano señalan que podría haber muchos más genes implicados en el desarrollo de la celiaquía.

La [prueba genética de celiaquía](https://celicidad.net/prueba-genetica-celiaquia/) nos ayudará a confirmar el diagnóstico, en el caso de que haya más pruebas positivas, pero por sí sola no puede diagnosticar ya que simplemente significa que existe riesgo de desarrollarla, más del 30% de la población tiene genética compatible con enfermedad celiaca, pero sólo entre un 1 y un 2% desarrolla la enfermedad. Sin embargo, si la prueba genética es negativa, podemos descartar en 99% la celiaquía.(11)(12)

Biopsia: Estándar de oro para el diagnóstico, debe ser realizada si hay una sintomatología susceptible de celiaquía, una serología positiva o negativa y una genética compatible. Es fundamental hacerla siempre que hay sospecha para poder determinar con precisión si hay celiaquía y cuál es el grado de lesión del intestino. Para determinar el grado de lesión del intestino se sigue la [clasificación de Marsh](https://celicidad.net/clasificacion-marsh-los-grados-de-lesion-del-intestino-en-celiacos/), que toma el nombre del Dr. **Michael Marsh, médico inglés, que en el año 1992,** publicó una clasificación anatomo-patológica de las biopsias duodenales en esta entidad, que se sigue aplicando de forma rutinaria a nivel mundial. Su gran acierto fue **la inclusión por primera vez de otras lesiones inflamatorias, que cursan sin atrofia vellositaria dentro de la enfermedad celíaca. Y que debe ser repetida después de un año de tratamiento dietético, sobre todo si no contamos con los demás marcadores.(13)(14)(15)**

Como vemos esta entidad necesita del concurso multidisciplinario de varios medios diagnósticos como son Laboratorio Clínico, Laboratorio de Anatomía Patología, Laboratorio de Biología Molecular. En este trabajo mostraremos el uso de ellos en el diagnóstico de la Enfermedad Celiaca.

**II- MATERIALES Y MÉTODO**

Se estudiaron 52 niños que acudieron a la consulta de Gastroenterología del Hospital Docente Universitario William Soler (HWD) en el período de enero 2017 a diciembre 2018 con sintomatología compatible con Enfermedad Celiaca como fueron, aspecto delgado, retraso en el crecimiento, distención abdominal, palidez mucosa y otros, además que dieran su consentimiento a participar en el estudio.

 Para ello se confeccionó un algoritmo de trabajo en el cual implicamos un grupo de procederes de nuestros Medios Diagnósticos que tributan con su resultado al diagnóstico de la EC. Debido a la etiología de la enfermedad y su expresión en diferentes órganos y sistemas se hace necesario aunar todos estos resultados y evitar el sub diagnóstico de la misma.

|  |
| --- |
|  **CONSULTA DE GASTROENTEROLOGIA** |

|  |
| --- |
|  **NIÑOS CON CLINICA DE ENFERMEDAD CELIACA** |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **ESTUDIO SEROLOGICO** | **ENDOSCOPIA DIGESTIVA****BIOPSIA DUODENO** | **ESTUDIO GENETICO****SISTEMA HLA** |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **TRANSGLUTAMINASA TISULAR** | **CLASIFICACION DE MARSH** | **ALELOS DQ2 – DQ8** |

Se tomó muestra de sangre capilar para la determinación de IgA α-transglutaminasa tisular por el método cubano de inmunodifución de HeberFast Line, reactivo cubano fabricado en el CIGB de Sancti Spiritus el cual aporta los resultados en corto tiempo

Se realizó endoscopia digestiva alta con equipo Olympus Lucera 260 y se tomaron 4 muestras duodenales con fórceps FB-21 y otras dos de bulbo duodenal, pasándolas a formol 10% para evitar deterioro; éstas fueron enviada al Dpto. de Anatomía Patológica del HWS y analizada según la clasificación de Marsh modificada por Oberhüber y que establece los siguientes tipos: Marsh 0, mucosa pre infiltrativa; Marsh1, incremento en el número de linfocitos intraepiteliales; Marsh 2, hiperplasia de las criptas; Marsh 3, atrofia vellositaria, 3ª- parcial, 3b- subtotal, 3c- total; este proceder se considera el estándar de oro para el diagnóstico de enfermedad celiaca, pero se ha demostrado que ningún estudio por sí sólo es definitorio.

Dentro de los complementarios adicionales realizados tenemos el frotis duodenal que fue testado por el Dpto. de Gastroenterología, HWS, en la búsqueda de la parasitosis Giardia lamblia debido a su fuerte relación con la mucosa del duodeno y el test rápido de ureasa "Gastropyl" para el diagnóstico del Helicobacter pylori, frecuente en la población infantil; determinaciones éstas que ayudaran para el análisis de los factores que complejizan el diagnóstico de la enfermedad.

Para el estudio genético se tomaron muestras de sangre venosa con anticoagulante EDTA y se enviaron al Hospital Hermanos Ameijeiras al Dpto. de Biología Molecular con el fin de determinar la presencia o no de los alelos DQ2- DQ8 de HLA por técnica de PCR-TR empleando sondas tipo Tapman Genevinset HLA.

Cada paciente fue introducido en una base de datos ACCESS 2016 al respecto para el análisis de los resultados

**III- RESULTADOS:**

**TABLA 1: TOTAL DE NIÑOS, ESCOLARES Y ADOLESCENTES - 52**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **EDAD** | **SEXO****FEMENINO** | **SEXO****MASCULINO** | **TOTAL****SEGÚN EDADES** |
| **1 – 5 AÑOS** | **11** | **13** | **24** |
| **6 – 11 AÑOS** | **11** | **4** | **15** |
| **12 - 18 AÑOS** | **9** | **4** | **13** |
| **TOTAL****SEGÚN SEXO** | **31** | **21** | **52** |

Aunque el sexo no es definitorio en nuestra casuística tenemos más niñas que varones coincidiendo con lo que plantea Pelkowski y colaboradores quien plantea que el sexo femenino prevalece 2.8 a 1, y sí tenemos concordancia con muchos autores en lo referido a la edad de debut pues nuestro grupo de 1 a 5 años fue el de mayor número, 24 pacientes.(16)

**TABLA 2: SINTOMAS Y SIGNOS EN 52 PACIENTES.**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **SINTOMAS Y SIGNOS** | **PACIENTES** | **POR CIENTO** |
| **ASPETO DELGADO** | **39** | **75,0** |
| **DOLOR ABDOMINAL** | **35** | **67,6** |
| **DIARREAS/CONSTIPACION** | **29** | **55,8** |
| **ANOREXIA** | **29** | **55,8** |
| **INTOLERANCIA LACTEA** | **30** | **57,7** |
| **DISTENSION ABDOMINAL** | **13** | **25,0** |

Dentro de los síntomas y signos más referidos se observaron el aspecto delgado en 39 pacientes y el dolor abdominal en 35, constituyendo los mayores por cientos, pero no podemos dejar de mencionar la anorexia y la distención abdominal que son muchas veces la causa de la consulta conjuntamente con las diarreas,

**Tabla 3 - RESULTADOS DE ESTUDIOS SEROLOGICOS Y GENETICOS**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **TIPO DE COMPLEMENTARIO** | **PACIENTES** | **%** |
| **α-ANTITRANSAMINASA TISULAR** | **+** | **35** | **67,3** |
| **-** | **17** | **32,7** |
| **TOTAL** | **52** | **100** |
|  |
| **ALELOS HLA DQ2 - DQ8** | **PRESENTE** | **36** | **69,2** |
| **AUSENTE** | **16** | **30,8** |
| **TOTAL** | **52** | **100** |
| **DQ2** | **PRESENTE** | **29** | **55,8** |
| **DQ8** | **PRESENTE** | **6** | **11,5** |
| **DQ2 - DQ8** | **PRESENTE** | **1** | **1,9** |

En nuestro grupo se encontraron los anticuerpos antitransglutaminasa tisular en 35 de los 52 pacientes testados, esta prueba es muy usada, pero como sabemos tiene en ocasiones falsos positivos, además, es tributaria en pacientes con dieta libre pues estos anticuerpos se negativizan a los 6 meses de estar con dieta sin gluten, la ventaja de esta técnica, es cubana, rápida, de poca complejidad en su realización y sirve para evaluar trasgresiones y/o contaminaciones de la dieta.

Al analizar el comportamiento de la presencia o no de los alelos DQ vemos que de los 52 pacientes estudiados, 34 tenían la presencia de 1 o 2 de éstos, pero 16 no los tenían presentes, esto confirma lo reportado por otros autores que tener la presencia de los mismos solamente no es condición suficiente para el diagnóstico de EC, ya que el 30% de la población tiene estos alelos presentes así como el paciente celiaco tiene en 90 a 95 % el DQ2 y en menor cuantía el DQ8, como también se reportan la presencia de ambos.

**TABLA 4 RESULTADOS DE COMPLEMENTARIOS**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **TIPO DE COMPLEMENTARIO** | **PACIENTES** | **POR CIENTO** |
| **FROTIS DUODENAL PARASITOLOGICO** | **+** | **23** | **44,2** |
| **-** | **29** | **55,8** |
| **T** | **52** | **100** |
|  |
| **TEST DE UREASA GASTROPYL®** | **+** | **18** | **34,6** |
| **-** | **34** | **65,4** |
| **T** | **52** | **100** |

Dentro de los estudios complementarios realizados tenemos las infecciones asociadas como fueron la Giardiasis y la Helicobacteriosis, per sé no son muy significativas; FD: 23 positivos y TU: 18 positivos, pero pudimos observar que las relaciones de las infecciones concomitantes nos enmascaran, en ocasiones, el diagnóstico de EC

**TABLA 5 RESULTADOS DE CLASIFICACION DE MARSH:**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **TIPO DE RESULTADOS** | **PACIENTES** | **POR CIENTOS** |
| **TIPO 1- LINFOCITOS INTRAEPITELIALES****(LIE)** | **>40** | **40** | **76,9** |
| **<40** | **12** | **23,1** |
| **TOTAL** | **52** | **100** |
|  |
| **TIPO 2- HIPERPLASIA GLANDULAR****(HPGL)** | **PATOLOGICAS** | **20** | **38,5** |
| **NORMALES** | **32** | **61,5** |
| **TOTAL** | **52** | **100** |
|  |
| **TIPO 3- VELLOSIDADES INTESTINALES****(V - P o N)** | **PATOLOGICAS** | **7** | **13,5** |
| **NORMALES** | **45** | **86,5** |
| **TOTAL** | **52** | **100** |

Aunque las lesiones descritas por Marsh tipo 1, 2 o 3 se consideran compatibles con el diagnóstico de EC, ningún tipo descrito por sí sólo se considera patognomónico de esta entidad; como podemos ver en nuestra casuística, lo más notorio fueron los clasificados en Marsh 1 con 40 pacientes que corresponden al aumento de LIE más de 40 % pero todos estos casos no concluyeron con el diagnóstico de la enfermedad pues, como refieren otros autores, otras patologías de índole infecciosa puedes enmascarar el cuadro

La clasificación Marsh 2, que expresa HPGL es una lesión más precisa de enfermedad celiaca y la observamos en 20 pacientes, así como la atrofia vellositaria o Lesión Marsh 3 que se observó en 7 casos y que era en épocas pasadas el signo de esta enfermedad.

**TABLA 6: RELACION CLÍNICA, α-TRANSGLUTAMINASA, HLA e HISTOLOGÍA.**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **CRITERIOS** | **RESULTADOS** | **PACIENTES** | **POR CIENTOS** |
|  |
| **CLINICOS** | **PRESENTES** | **52** | **100** |
|  |
| **TRANSGLUTAMINASA** | **POSITIVA** | **35** | **67.3** |
| **NEGATIVA** | **17** | **32.7** |
|  |
| **ALELOS DQ** | **PRESENTES** | **36** | **69.2** |
| **AUSENTES** | **16** | **30.8** |
|  |
| **HISTOLOGÍA** | **LIE>40** | **40** | **76.9** |
| **HPGL** | **20** | **38.5** |
| **ATROFIA VELLOSITARIA** | **7** | **13.5** |

El resultado al relacionar todos los estudios realizados nos permitió ver que solamente 26 pacientes cumplían con todos los parámetros para el diagnóstico de enfermedad celiaca, al partir de la clínica sugerente con 52 pacientes, una prueba transglutaminasa que nos brindó 37 pacientes positivos que al enfrentarlos a la biopsia y al estudio genético se depuraron quedando sólo el 50%, nos dice cuán difícil es llegar al diagnóstico de certeza de una enfermedad que conlleva restricciones de dieta de por vida.

Sólo los individuos que tengan la predisposición genética pueden en algún momento de sus vidas enfermar con celiaquía, pero sin el activador medio ambiental ésta no se expresa de ahí la necesidad de identificar al individuo sintomático que necesita ser biopsiado y puesto en tratamiento.

Nuestro planteamiento es, de los 4 criterios que hemos analizado se deben tener al menos 3 positivos para ser diagnosticado como celiaco

**IV- CRITERIOS DE CELIAQUIA:**

1- Clínica sugestiva de EC con síntomas y signos digestivos y/o extradigestivos, respuesta a la dieta sin gluten, que conduce a la normalización de las pruebas serológicas y a la resolución de las lesiones histológicas

2- Biopsia duodenal con clasificación según criterios de Marsh modificada 1, 2 o 3, patrón de oro

3- Pruebas serológicas, en nuestro medio, determinación de IgA anti transglutaminasa tisular positiva.

4- Prueba genética con la determinación de los alelos HLA DQ2 - DQ8.

Como se observa de estos cuatro criterios, tres dependen de nuestros medios diagnósticos que deben ser usados con responsabilidad y certeza para dar evidencia científica a nuestros médicos, para un diagnóstico certero de la enfermedad celiaca.

**V- CONCLUSIONES:**

1- El uso de los medios diagnósticos es vital para la certeza diagnóstica de Enfermedad Celiaca.

2-. Una sola de las determinaciones planteadas en este trabajo no conlleva al diagnóstico de Enfermedad celiaca.

3- Sólo el 50 % de los pacientes estudiados reunían los criterios de la EC.

4- La biopsia duodenal nos ayuda en el diagnóstico de infecciones asociadas a la mucosa en el paciente celiaco o no.

**VI- REFERENCIAS:**

1- Arranz E, Garrote JA. Enfermedad celíaca. Introducción al conocimiento actual de la enfermedad celíaca. 2ª edición. Ergon Madrid. 2011 ISBN: 978-84-8473-XXX-X

2- Polanco, Isabel. Libro Blanco de la Enfermedad Celíaca. Ed: ICM. Consejería de Sanidad de la Comunidad de Madrid. 2014. ISBN 978-84-936109-4-4

3- Castañeda Guillot C. Celiac disease in Cuba, forty years of experiences and realities for its diagnosis Rev Cub. Ped. 2016; 88(4):483-97.

## 4- Martínez de Zabarte Fernández JM, García Romero R, Ros Arnal I, López Campos M, Ubalde Sainz E.Enfermedad celíaca: ¿qué características tienen nuestros pacientes en el momento del diagnóstico? Rev Pediatr Aten Primaria. 2016;18(70):141-9.ISSN 1139-7632

5- Felipe Moscoso JA, Rodrigo Quera P. Enfermedad Celiaca: Revisión. Rev. Med. Clinica Las Condes. 2015; 26(5):556-710 doi: 10.1016/j.rmclc.2015.09.007

## 6- Galván JA, Castañeda C, Rodríguez EA, Alvarez R, Turcaz N, Novoa LI, Palenzuela DO. Pesquisaje de la enfermedad celiaca en un grupo de niños cubanos sanos de la provincia de Pinar del Río. Biotecnol Apl 2010; 27(4): ISSN 1027-2852.

## 7- Galván Cabrera JA. Estudio de la enfermedad celíaca mediante el desarrollo de un ensayo inmunocromatográfico para la determinación de α-antitransglutaminasa. **[t**esis doctoral]. La Habana:Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología; 2011.

**8- Valdés Landaburo R, Reyes Vera JM, Lara Martín M, López Bernal OJ, Tamargo Barbeito TO, Bello Peña I.** Utilidad diagnóstica de los anticuerpos antitransglutaminasa tisular en niños con síntomas digestivos crónicos y sospecha de celiaquía. 2011Hospital Pediátrico Universitario Jose Luis Miranda,Acta Médica del Centro. 2011; 5(2):

9- J. Stamnaes y L.M. Sollid; Celiac disease: Autoimmunity in response to food antigen; Seminars in Immunology, 2015; 27(5):343-52.

## 10- Mabel Leonides Andrade Ruiseco ML,Wladimiro Francisco García Pérez WF,Rosario Rodríguez Anisimenko R,Yusimy Davas Andrade Y. Uso del HeberFast Line® anti-transglutaminasa para pesquisa de enfermedad celiaca en pacientes pediátricos Rev. Cub. Pediatr. 2017; 89(4): ISSN 0034-7531

### 11- Torres Odio S, Martínez Córdova Z, Calzadilla Lugo F, García González I, Santana Porbén S, Noa Pedroso G, Hernández Casas Y, et al. Comportamiento de los alelos HLA-DQB1\*02 y HLA-DQB1\*03 en pacientes con diagnóstico presuntivo de enfermedad celíaca. Rev Cub Med. 2011; 50(3):

### 12- Torres Odio S, Martínez Córdova Z. Base genética de la enfermedad celiaca en el diagnóstico. Rev Cub Med, 2012; 51(2):

13- Marsh MN, Growe PT. Morphology of the mucosal lesion of gluten sensivity in architecturally normal duodenal mucosal biopsies. Am J Clin Pathol. 2001; 116:63-71.

14-Bao F, Bhagat G. Histopathology of celiac disease. Gastrointest. Endosc. Clin. N. Am. 2012; 22(4):679-94.

15- Oberhuber G. Histopathology of celiac disease. Biomed Pharmacother. 2000; 54(7):368-72.

16- Pelkowski TD, Viera AJ, et al.: Celiac disease: diagnosis and management, Am Fam Physician. 2014; 89(2):99–105.