

RECONSTRUCCIÓN MAMARIA CON COLGAJO LIBRE DE RECTUS ABDOMINIS

ALBERTO PÉREZ-MORELL¹, ALBERTO CONTRERAS², VIRGINIA NAVARRETE³, ALEJANDRA GUTIERREZ¹, JESÚS ACUÑA¹, LUIS PEÑA², JORGE CASTRO¹

¹SERVICIO DE CIRUGÍA PLÁSTICA, ²SERVICIO DE PATOLOGÍA MAMARIA, HOSPITAL ONCOLÓGICO PADRE MACHADO, ³ECO COLOR, CARACAS, VENEZUELA

RESUMEN

OBJETIVOS: Presentar las ventajas y técnica quirúrgica de la reconstrucción mamaria con el colgajo de rectus abdominis libre. **MÉTODOS:** Paciente femenina de 43 años de edad con un carcinoma ductal infiltrante de la mama derecha a quien se le practicó una mastectomía radical con incisión preservadora de piel más reconstrucción con colgajo libre de rectus abdominis en junio de 2001. **RESULTADOS:** Reconstrucción mamaria inmediata con mínima morbilidad en la pared abdominal. Las anastomosis a la arteria y vena toracodorsales se demostró su permeabilidad por eco Doppler. A los 40 días posoperatorios se le colocó un injerto de piel de espesor parcial sobre el colgajo. **CONCLUSIONES:** El colgajo de rectus abdominis libre es un método reconstructivo superior con menor morbilidad, recuperación temprana y mejor aporte sanguíneo.

PALABRAS CLAVE: Colgajo libre de rectus abdominis, reconstrucción mamaria inmediata, mama, cáncer, tratamiento, cirugía.

SUMMARY

OBJECTIVES: To present the advantages and surgical technique of the rectus abdominis free flap for breast reconstruction. **METHODS:** A 43 year old female patient with a ductal carcinoma in the right breast. She had a skin sparing mastectomy with a free flap reconstruction in June 2001. **RESULTS:** Immediate breast reconstruction with minimal mobility in the abdominal wall the artery and vein anastomosis to the toracodorsal vessels were patent by eco Doppler. After 40 days a partial thickness skin graft was needed to cover the flap. **CONCLUSIONS:** The rectus abdominis free flap is a better reconstructive operation, with less mobility, early recovery, with superior blood supply.

KEY WORDS: Rectus abdominis free flap, immediate breast reconstruction, breast, cancer, treatment, surgery.

INTRODUCCIÓN

La reconstrucción mamaria ha evolucionado con el tiempo de ser un procedimiento diferido a ser inmediato. En estos momentos no se justifica que la reconstrucción mamaria sea diferida por miedo a que oculte una recidiva tumoral o retarde el inicio de la quimioterapia neoadyuvante⁽¹⁻³⁾.

Recibido: 08/01/2004 Revisado: 12/02/2004

Aprobado para Publicación: 16/02/2004

Correspondencia: Dr. Alberto Pérez Morell
Servicio de Cirugía Plástica, Hospital Oncológico
Padre Machado, Av. Alejandro Calvo Laird, Urb. Los
Rosales, Caracas, Venezuela
E-mail: albertoperezmorell@hotmail.com

Para la reconstrucción mamaria se han descrito diferentes métodos: expansor seguido de un segundo tiempo con prótesis^(4,5), prótesis mamaria⁽⁶⁾, prótesis-expansor⁽⁷⁾, reconstrucción con tejido autólogo en la forma de colgajos pediculados o libres⁽⁸⁻¹²⁾. La reconstrucción con el propio tejido de la paciente es el método más defendido por sus ventajas: no se coloca material extraño al cuerpo como son las prótesis, con el pasar del tiempo se guarda la simetría mamaria, no así en la mama reconstruida con prótesis que al pasar los años por el aumento de peso de la paciente queda de menor tamaño a la mama contralateral. Con las prótesis siempre queda la posibilidad de tener que cambiarlas (13). Por eso se promueve la reconstrucción con tejido autólogo.

La reconstrucción mamaria con el colgajo de dorsal ancho fue descrita en el año de 1978 por Bostwick⁽¹⁴⁾. Este colgajo produce poca morbilidad y la paciente se recupera rápidamente. La técnica quirúrgica ha mejorado con el fin de darle mayor volumen a la mama, es así como la porción de tejido adiposo que lleva el colgajo es mayor. Este es el llamado colgajo de latissimus dorsi extendido^(15,16). Otra forma de darle mayor volumen ha sido modificando la isla de piel⁽¹⁷⁾.

A partir de 1982 se describe el colgajo pediculado miocutáneo de rectus abdominis⁽¹⁸⁾. Para mejorar la irrigación del colgajo se ha descrito el realizarlo con anastomosis microquirúrgicas entre los vasos epigástricos inferiores del colgajo y los vasos toracodorsales y, se le llamó colgajo supercagado⁽¹⁹⁾, o la anastomosis entre la vena epigástrica inferior y la vena toracodorsal o colgajo superdrenado⁽²⁰⁾, o anastomosando entre sí los vasos epigástricos inferiores o colgajo turbocargado⁽²¹⁾.

El colgajo de rectus abdominis libre es una operación más sofisticada, practicada en todo el mundo, inclusive en Ibero-América desde hace varios años⁽²²⁻²⁴⁾.

Presentamos el primer caso de colgajo libre

de rectus abdominis para mama, realizado en el Hospital Oncológico Padre Machado de Caracas en junio de 2002 con el fin de mostrar la técnica quirúrgica y explicar las ventajas sobre el colgajo pediculado del mismo músculo, para incentivar a otros en continuar trabajando, y así, realizarlo más frecuentemente en nuestro país. Hacemos una revisión cronológica y actualizada sobre los diferentes métodos y colgajos para reconstruir la mama.

Caso clínico

Se presenta el caso de una paciente femenina de 43 años que consultó al Servicio de Patología Mamaria del Hospital Oncológico Padre Machado por presentar un carcinoma ductal infiltrante de la mama derecha estadio II-B. La paciente no tenía cirugía previa abdominal. Se le practicó un eco Doppler de los vasos toracodorsales y epigástricos superiores e inferiores para evaluar el calibre, flujo, ausencia de arterioesclerosis.

Simultáneamente con la mastectomía radical modificada derecha con incisión preservadora de piel se levantó el colgajo ipsilateral de recto abdominal (Figura 1). Se diseña la isla de piel y se buscan los vasos epigástricos inferiores lo más distal posible casi en la emergencia de la arteria epigástrica inferior de la ilíaca externa. A este nivel las dos venas satélites se convierten en un solo vaso, lo que ayuda a simplificar la microcirugía y asegurar el retorno venoso. Una vez preparado los vasos receptores y constatada su viabilidad Figura 2, se secciona el recto abdominal a nivel umbilical y luego se seccionan los vasos epigástricos inferiores sin ligarlos ya que estos soportarán al colgajo Figura 3. Antes de seccionar el pedículo del colgajo se administran 5000 unidades de heparina endovenosa como única dosis. Se coloca el colgajo en el defecto Figura 4 y se practican las anastomosis vasculares, primero la vena y luego la arteria con nylon 8-0, irrigando los vasos con una solución de 100 unidades de heparina por



Figura 1. Diseño colgajo libre de rectus abdominis.



Figura 3. Colgajo con su pedículo.

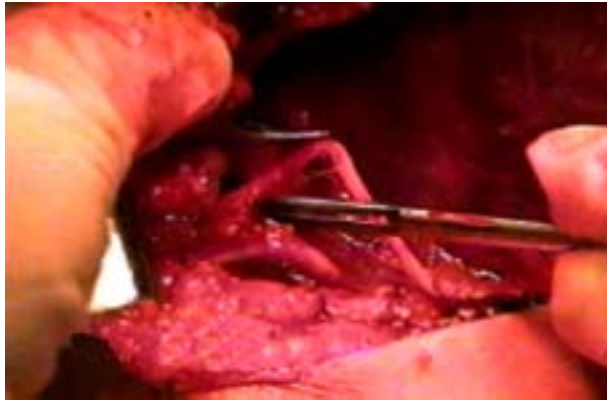


Figura 2. Preparación vasos receptores.



Figura 4. Colocación del colgajo en el defecto.

mL. Se constata la adecuada perfusión del colgajo Figura 5. Se obtiene un buen resultado Figura 6. La paciente en el posoperatorio pasa a una unidad de cuidados especiales posoperatorio egresando a los 7 días con control ambulatorio.

A pesar de la permeabilidad vascular de la anastomosis, la paciente tuvo pérdida de la piel del colgajo Figura 7 y tuvo que injertarse a los 40 días posoperatorio Figura 8.



Figura 5. Adecuada perfusión del colgajo.



Figura 6. Resultado inmediato.



Figura 7. Tejido celular subcutáneo sano.



Figura 8. Injerto de piel.

DISCUSIÓN

La reconstrucción con el colgajo pediculado de rectus abdominis se realiza en forma rutinaria en nuestro país en muchos centros, con una duración de la intervención quirúrgica de 3 a 4 horas.

¿Por qué preferir hacerlo en forma microquirúrgica en un tiempo más largo y con el riesgo de necrosis del colgajo por trombosis en la anastomosis?

Por las ventajas que le ofrece a la paciente. Es una operación superior más sofisticada, practicada en forma rutinaria en muchos centros del mundo ⁽²⁵⁻²⁹⁾.

El colgajo libre produce menor morbilidad en el paciente, con mejor perfusión por ser la arteria epigástrica inferior, en la que se basa el colgajo, el vaso dominante del mismo; permite una mejor selección de reconstrucción que se traduce en la posibilidad de llevar más tejido que el que ofrece un colgajo monopediculado, con menor debilidad de la pared abdominal. El colgajo es más fácil orientarlo en el lugar donde se reconstruirá la mama. Esto al cirujano le confiere mayor libertad y versatilidad. Si le sumamos que las anastomosis las podemos realizar con la ayuda de lupas de aumento 4X a 6X sin necesidad de microscopio, con mayor comodidad, realmente estamos frente a una mejor intervención ⁽³⁰⁻³²⁾.

Los avances más significativos en la reconstrucción mamaria han sido: el colgajo pediculado de recto abdominal, la subsecuente aplicación como colgajo libre y la mastectomía con incisión preservadora de piel ⁽³³⁾.

Nuestra paciente el día siguiente de la intervención se encontraba muy recuperada con escaso dolor. De hecho para cerrar el defecto en el abdomen no tuvimos que disecar en forma tan amplia como cuando se hace en forma pediculada.

Se le realizaron eco Doppler en el

posoperatorio y se constató la permeabilidad de la anastomosis. Presentó pérdida de la piel del colgajo, por lo que tuvo que ser intervenida a los 40 días del posoperatorio y, se le colocaron injertos de piel de espesor parcial. Otra forma, hubiera sido colocarle un colgajo de dorsal ancho sobre el colgajo libre como esta descrito, pero por razones económicas, no se realizó.

Si revisamos la histórica de la descripción de los diferentes colgajos para reconstrucción mamaria, nos encontramos que los diversos colgajos libres para mama fueron descritos antes que el colgajo pediculado de recto abdominal, como el colgajo miocutáneo glúteo superior descrito por Fujino y col. ⁽³⁴⁾, en 1976. El colgajo es realizado en pacientes que no son candidatas a reconstruirse con recto abdominal libre por tener muy escaso panículo adiposo en el abdomen, ausencia de vasos perforantes periumbilicales o sección de arterias epigástricas inferiores y, en pacientes con pérdida de colgajo de recto abdominal. No es una cuestión de que el colgajo de glúteo superior sea mejor que el de recto abdominal, más bien es una opción reconstructiva. Por ejemplo, en pacientes delgadas con panículo adiposo en las regiones glúteas, a quien se les practicará una mastectomía radical, en vez de realizarles un colgajo de dorsal ancho más prótesis, se les puede reconstruir con el colgajo de glúteo superior, el cual, tiene todas las ventajas que el tejido autólogo puede ofrecer más la capacidad de soportar bien la radioterapia sin el problema extrusión de prótesis, que se ve con la utilización de prótesis, aún estén cubiertas por músculo.

El colgajo de glúteo inferior libre, fue descrito por primera vez por Le-Quang en 1978. Él realizó la intervención en tres pasos: expansión de la piel de la región mastectomizada, transferencia del colgajo y reconstrucción de la areola pezón. Luego presentó su casuística de 65 casos con dicho colgajo para una variedad de reconstrucciones ⁽³⁵⁾.

El colgajo microquirúrgico de recto

abdominal fue descrito por Holmstrom ⁽³⁶⁾, en 1979, antes de la descripción por Hartrampf y col. ⁽¹⁸⁾, en 1982, del colgajo pediculado de recto abdominal. Como se puede ver, los colgajos microquirúrgicos de mama se realizan hace más de 25 años.

El tejido adiposo sobre la cresta ilíaca que se les acumula a las damas con el pasar de los años inspiró en el siglo XVI a Peter Paul Rubens para pintar Las Tres Gracias. En honor a dicho pintor, el Dr. Carl R Hartrampf nombró al colgajo libre basado en la arteria circunfleja ilíaca profunda, que irriga el tejido adiposo sobre la cresta ilíaca, como colgajo adiposo de Rubens ⁽³⁷⁾. Dicho colgajo es otra opción reconstructiva.

Otro colgajo libre descrito más recientemente es el colgajo anterolateral de muslo. Basado en la arteria circunfleja femoral lateral. Permite realizar la reconstrucción en forma simultánea (no así los colgajos glúteos). El pedículo puede tener un promedio de 11 cm, la isla de piel 4 cm x 8 cm a 7 cm x 22 cm, la porción adiposa de 10 cm x 12 cm a 14 cm x 22 cm. Deja una cicatriz que no es tan fácil de ocultar ⁽³⁸⁾.

En la reconstrucción inmediata, los vasos toracodorsales quedan expuestos posterior a la mastectomía, de modo que luego de evaluar su buen estado se puede practicar las anastomosis. En las reconstrucciones diferidas han surgido dificultades para encontrar en buenas condiciones los vasos receptores en la axila, por la fibrosis o antecedentes de radioterapia. Es por ello que se ha descrito a los vasos mamarios internos como una mejor alternativa ⁽³⁹⁻⁴¹⁾.

En el estudio de Freng, donde comparó los vasos toracodorsales y mamarios internos, encontró que el diámetro de la arteria mamaria interna es significativamente mayor que el diámetro de la arteria toracodorsal. La arteria mamaria interna derecha es significativamente mayor que la arteria mamaria interna izquierda. Para este autor los vasos mamarios internos

“son una importante alternativa y algunas veces superior “a los vasos toracodorsales (42).

El lugar recomendado para hacer la anastomosis en el III espacio intercostal. En el trabajo de Majumder y Batchelor al cual invitamos a leer, explica en detalle el abordaje y complicaciones. El área de que se dispone para exponer los vasos mamarios internos luego de extirpar la extremidad anterior del III cartílago costal resulta de sumar la altura del segundo y tercer espacios intercostal aproximadamente 3 cm más los 1,5 cm de la altura del cartílago extirpado suma 4,5 cm de arriba hacia abajo, que al multiplicarlo por la distancia del borde del esternón al borde libre del cartílago extirpado aproximadamente 3 cm resulta en un área de 9 a 13,5 cm². Las complicaciones del uso de los vasos mamarios internos, aparte de la falla del colgajo, es la producción de un neumotórax iatrogénico a pesar de que la fascia del músculo triangular del esternón da cierta separación entre los vasos y la pleura ⁽⁴³⁾.

Otro aspecto de la utilización del colgajo libre de recto es la diferencia estadísticamente significativa de menor necrosis grasa en los colgajos reconstruidos utilizando los vasos epigástricos inferiores como colgajo libre (44-46).

No hay duda que el colgajo de rectus abdominis libre es una intervención superior al colgajo pediculado. Se requiere de una mayor curva de aprendizaje y la formación de un equipo multidisciplinario para poder realizarlo de rutina en nuestros hospitales y clínicas. Esperamos que así como el colgajo libre para el área de cabeza y cuello ya es conocido y aceptado como superior a un colgajo pediculado, en un futuro cercano los colgajos libres de mama también sean realizados más frecuentemente de nuestros centros de salud.

El colgajo libre miocutáneo de rectus abdominis para reconstrucción mamaria no es imposible de hacerlo. Ofrece más beneficios al paciente que el colgajo pediculado. El llevar mayor cantidad de tejido, bien vascularizado, con menor morbilidad y más rápida recuperación del paciente justifican el esfuerzo para continuar realizándolo.

REFERENCIAS

1. Jahkola T, Asko-Seljavaara S, von Smitten K. Immediate breast reconstruction. *Scand J Surg.* 2003;92(4):249-256.
2. Singletary SE, Kroll SS. Skin-sparing mastectomy with immediate breast reconstruction. *Adv Surg.* 1996;30:39-52.
3. Hidalgo D, Borgen P, Petrek J, Heerdt A, Cody H, Disa J. Immediate reconstruction after complete skin-sparing mastectomy with autologous tissue. *J Am Coll Surg.* 1998;187(1):17-21.
4. Maxwell G, Falcone P. Eighty-four consecutive breast reconstruction using a textured silicone tissue expander. *Plast Reconstr Surg.* 1992;89(6):1022-1034.
5. McGeorge D, Mahdi S, Tsekouras A. Breast reconstruction with anatomical expander and implants: Our early experience. *Br J Plast Surg.* 1996;49(6):352-357.
6. Rimareix F, Masson J, Couturaud B, Revol M, Servant J. [Breast reconstruction by inflatable anatomical implants: Retrospective study of 65 cases]. *Ann Chir Plast Esthet.* 1999;44(3):239-245.
7. Spear S, Majidian A. Immediate breast reconstruction in two stages using textured, integrade-valve tissue expanders and breast implants: A retrospective review of 171 consecutive breast reconstructions from 1989 to

1996. *Plast Reconstr Surg.* 1998;101(1):53-63.
8. Mendelson BC. Latissimus dorsi breast reconstruction: Refinement and results. *Br J Surg.* 1983;70(3):145-149.
 9. McCraw J, Papp C, Edwards A, McMellin A. The autogenous latissimus breast reconstruction. *Clin Plast Surg.* 1994;21(2):279-288.
 10. Hartrampf CR Jr, Bennett GK. Autogenous tissue reconstruction in the mastectomy patient: A critical review of 300 patients. *Ann Surg.* 1987;205(5):508-519.
 11. Arnez ZM, Bajec J, Bardsley AM, Scamp T, Webster MH. Experience with 50 free TRAM flap breast reconstruction. *Plast Reconstr Surg.* 1991;87(3):470-478.
 12. Schusterman MA, Kroll SS, Weldon ME. Immediate breast reconstruction: Why the free TRAM flap over the conventional TRAM flap? *Plast Reconstr Surg.* 1992;90(2):255-262.
 13. Kroll SS. Why autologous tissue? *Clin Plast Surg.* 1998;25(2):135-143.
 14. Bostwick J 3rd, Vasconez LO, Jurkiewicz MJ. Breast reconstruction after a radical mastectomy. *Plast Reconstr Surg.* 1978;61(5):682-693.
 15. Chang DW, Youssef A, Cha S, Reece GP. Autologous breast reconstruction with the extended latissimus dorsi flap. *Plast Reconstr Surg.* 2002;110(3):751-759.
 16. Heitmann C, Pelzer M, Kuentscher M, Menke H, Germann G. The extended latissimus dorsi flap revisited. *Plast Reconstr Surg.* 2003;111(5):1697-1701.
 17. Papp C, McCraw J. Autogenous latissimus dorsi breast reconstruction. *Clin Plast Surg.* 1998;25(2):261-266.
 18. Hartrampf CR, Schefflan M, Black PW. Breast reconstruction with a transverse abdominal flap. *Plast Reconstr Surg.* 1982;69(2):216-225.
 19. Yamamoto Y, Nohira K, Sugihara T, Shitomi Y, Ohura T. Superiority of the microvascular augmented flap: Analysis of 50 transverse rectus abdominis myocutaneous flaps for breast reconstruction. *Plast Reconstr Surg.* 1996;97(1):79-83.
 20. Yanaga H, Tai Y, Kiyokawa K, Inoue Y, Rikimaru H. An ipsilateral superdrainaged transverse roectur abdominis myocutaneous flap for breast reconstruction. *Plast Reconstr Surg.* 1999;103(2):465-472.
 21. Berrino P, Santi P. Hemodynamic analysis of the TRAM. Applications to the "recharged" TRAM flap. *Clin Plast Surg.* 1994;21(2):233-245.
 22. Schusterman MA, Kroll SS, Weldon ME. Immediate breast reconstruction: Why the TRAM over the conventional TRAM flap? *Plast Reconstr Surg.* 1992;90(2):255-261.
 23. Linares E, Ugalde M, Ochoa F, Fuentes A. Reconstrucción mamaria con colgajo TRAM libre. Se justifica el riesgo? *Cir Plast.* 2001;11:49-60.
 24. Rioja L, Redondo A, García E, Soto R, Fidalgo F, Torres J, et al. Reconstrucción mamaria mediante colgajo TRAM libre. *Cir Plast Iberolatinoamer.* 2002;28:39-49.
 25. Schusterman MA, Kroll SS, Miller MJ, Reece GP, Baldwin BJ, Robb GL, et al. The free transverse rectus abdominis musculocutaneous flap for breast reconstruction: One center's experience with 211 consecutive cases. *Ann Plast Surg.* 1994;32(3):234-242.
 26. Chowchuen B, Chowchuen P. Immediate breast reconstruction with free TRAM flap: A case report with a 10-year follow-up and radiological imaging. *J Med Assoc Thai.* 2001;84(7):1037-1045.
 27. Nejedly A, Tvdek M, Kletensky J. Breast reconstruction using free tram flap transfer-ten years experience. *Acta Chir Plast.* 2001;43(2):35-38.
 28. Park MC, Lee JH, Chung J, Lee SH. Use of internal mammary vessel perforator as a recipient for free TRAM breast reconstruction. *Ann Plast Surg.* 2003;50(2):132-137.
 29. Dos Santos MJ. Microsurgery in breast reconstruction. Myocutaneous free flap from the anterior rectus abdominis. *Acta Med Port.* 1998;11(3):253-257.
 30. Serletti JM, Moran SL. Microvascular reconstruction of the breast. *Semin Surg Oncol.* 2000;19(3):264-271.
 31. Gherardini G, Arnander C, Gylbert L, Wickman M. Pedicled compared with free tensverse rectus abdominis myocutaneous flaps in breast reconstruction. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg.* 1994;28(1):69-73.
 32. Nieminen T, Asko-Seljavaara S, Suominen E, Kuokkanen H, von Smitten K. Free microvascular tram flaps: Report of 185 breast reconstructions. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg.* 1999;33(3):295-300.
 33. Grotting JC, Beckenstein MS, Arkoulakis NS. The art and science of autologous breast reconstruction. *Breast J.* 2003;9(5):350-360.
 34. Fujino T, Harashina T, Enomoto K. Primary breast reconstruction after a standard radical mastectomy by a free flap transfer. *Plast Reconstr Surg.* 1976;58(3):371-374.

35. Le-Quang C. [Secondary microsurgical reconstruction of the breast and free inferior gluteal flap]. *Ann Chir Plast Esthet.* 1992;37(6):723-741.
36. Holmstrom H. The free abdominoplasty flap and its use in breast reconstruction. An experimental study and clinical case report. *Scand J Plast Reconstr Surg.* 1979;13(3):423-427.
37. Hartrampf CR Jr, Noel RT, Drazan L, Elliott FL, Bennett GK, Beegle PH. Ruben's fat flap for breast reconstruction: A peri-iliac soft-tissue free flap. *Plast Reconstr Surg.* 1994;93(2):402-407.
38. Wei F, Suominen S, Cheng M, Celik N, Lai Y. Anterolateral thigh flap for postmastectomy breast reconstruction. *Plast Reconstr Surg.* 2002;110:82-88.
39. Dupin CL, Allen RJ, Glass CA, Bunch R. The internal mammary artery and vein as a recipient site for free-flap breast reconstruction: A report of 110 consecutive cases. *Plast Reconstr Surg.* 1996;98(4):685-689.
40. Ninkovic MM, Schwabegger AH, Anderl H. Internal mammary vessels as a recipient site. *Clin Plast Surg.* 1998;25(2):213-221.
41. Clark CP 3rd, Rohrich RJ, Copit S, Pittman CE, Robinson J. An anatomic study of the internal mammary veins: Clinical implications for free-tissue-transfer breast reconstruction. *Plast Reconstr Surg.* 1997;99(2):400-404.
42. Feng LJ. Recipient vessels in free-flap breast reconstruction: A study of the internal mammary and thoracodorsal vessels. *Plast Reconstr Surg.* 1997;99(2):405-416.
43. Majumder S, Batchelor A. Internal mammary vessels as recipients for free TRAM breast reconstruction: Aesthetic and functional considerations. *Br J Plast Surg.* 1999;52(4):286-289.
44. Kroll S, Gherardini G, Martin JE, Reece GP, Miller MJ, Evans GR, et al. Fat necrosis in free and pedicled TRAM flaps. *Plast Reconstr Surg.* 1998;102(5):1502-1507.
45. Jewell RP, Whitney TM. TRAM fat necrosis in a young surgeon's practice: Is it experience, technique, or blood flow? *Ann Plast Surg.* 1999;42(4):424-427.
46. Amir A, Silfen R, Hauben DJ. Fat necrosis after a transverse rectus abdominis myocutaneous flap? How about massage? *Plast Reconstr Surg.* 2000;106(5):1216-1267.