

ARTÍCULO ORIGINAL

# Resultados del tratamiento de nódulos tiroideos quísticos y predominantemente quísticos mediante inyección percutánea de etanol

## Results of the cystic and predominantly cystic thyroid nodules' treatment by percutaneous ethanol injection

Lázaro Lorda Galiano<sup>1</sup> Jacinto Oscar Navas Igarza<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Hospital Militar Central Dr. Carlos J. Finlay, La Habana, La Habana, Cuba

### Cómo citar este artículo:

Lorda-Galiano L, Navas-Igarza J. Resultados del tratamiento de nódulos tiroideos quísticos y predominantemente quísticos mediante inyección percutánea de etanol. **Medisur** [revista en Internet]. 2024 [citado 2026 Feb 11]; 22(6):[aprox. 6 p.]. Disponible en: <https://medisur.sld.cu/index.php/medisur/article/view/45267>

### Resumen

**Fundamento:** los nódulos tiroideos quísticos, generalmente benignos, pueden causar síntomas clínicos. La inyección percutánea de etanol se reconoce como tratamiento de primera línea para los quistes y nódulos tiroideos con un componente líquido predominante.

**Objetivo:** describir los resultados del tratamiento de nódulos tiroideos quísticos y predominantemente quísticos mediante inyección percutánea de etanol.

**Métodos:** se realizó un estudio descriptivo, en pacientes con bocio nodular benigno y nódulos quísticos y predominantemente quísticos dominantes, tratados con la inyección percutánea de etanol. Las variables categóricas se describieron por frecuencias absolutas y porcentajes; y para las numéricas se calculó la media y la desviación estándar. Los cambios entre los volúmenes inicial y final de los nódulos fueron evaluados mediante la prueba t de Student para muestras relacionadas.

**Resultados:** a los 12 meses de realizado el tratamiento, el por ciento de reducción del volumen de los nódulos se comportó como sigue: media  $92,50 \pm 5,5$  mínimo 81,0 y máximo 99,8. El éxito clínico fue completo en el 100 % de los pacientes, así como la eficacia de la técnica. Como efecto adverso solo se presentó el ardor en 2 pacientes (8,33 %). Ningún paciente presentó complicaciones durante el estudio.

**Conclusiones:** el tratamiento con la inyección percutánea de etanol en pacientes con bocio nodular y nódulos tiroideos quísticos o predominantemente quísticos dominantes es seguro y eficaz, con efectos adversos transitorios y muy bajo índice de complicaciones.

**Palabras clave:** Bocio nodular, inyecciones, terapéutica, etanol

### Abstract

**Foundation:** Cystic thyroid nodules, usually benign, can cause clinical symptoms. Percutaneous ethanol injection is recognized as first-line treatment for thyroid cysts and nodules with a predominant liquid component.

**Objective:** To describe the results of the cystic and predominantly cystic thyroid nodules' treatment by percutaneous ethanol injection.

**Methods:** A descriptive study was conducted in patients with benign nodular goiter and cystic and predominantly cystic dominant nodules, treated with percutaneous ethanol injection. Categorical variables were described by absolute frequencies and percentages; and for the numerical ones the mean and standard deviation were calculated. The changes between the initial and final volumes of the nodules were evaluated using the Student t test for related samples.

**Results:** 12 months after the treatment, the percentage reduction in the volume of the nodules behaved as follows: mean  $92.50 \pm 5.5$  minimum 81.0 and maximum 99.8. Clinical success was complete in 100% of the patients, as was the efficacy of the technique. The only adverse effect was burning in 2 patients (8.33%). No patient presented complications during the study.

**Conclusions:** Treatment with percutaneous ethanol injection in patients with nodular goiter and cystic or predominantly cystic dominant thyroid nodules is safe and effective, with transient adverse effects and a very low rate of complications.

**Key words:** Goiter, nodular, injections, therapeutics, ethanol

**Aprobado:** 2024-10-02 09:43:48

**Correspondencia:** Lázaro Lorda Galiano. Hospital Militar Central Dr. Carlos J. Finlay. La Habana [vicepreucimed@infomed.sld.cu](mailto:vicepreucimed@infomed.sld.cu)

## Introducción

La inyección percutánea de etanol (IPE) se ha utilizado en el tratamiento de carcinomas hepatocelulares pequeños, lesiones hepáticas metastásicas y adenomas paratiroideos, así como en otras neoplasias endocrinas benignas como los adenomas adrenocorticales productores de aldosterona. Su empleo en el manejo de nódulos tiroideos funcionales autónomos fue introducido en la práctica clínica en 1990. En la actualidad se sugiere como un procedimiento ambulatorio efectivo, seguro y económico para el tratamiento de los nódulos tiroideos benignos.<sup>(1, 2)</sup>

Los nódulos tiroideos quísticos, aunque generalmente benignos, pueden causar síntomas clínicos (problemas compresivos o estéticos). Los resultados clínicos de la IPE se evalúan mediante la reducción del volumen y la mejora de los problemas clínicos (es decir, la mejora de los problemas estéticos, las molestias a la deglución o los síntomas compresivos).<sup>(3)</sup>

La mayoría de los autores<sup>(4, 5, 6)</sup> considera que la IPE representa el tratamiento de primera línea para los quistes y nódulos tiroideos con un componente líquido predominante.

En Cuba no se ha generalizado la inclusión de la IPE como tratamiento de primera línea en pacientes con enfermedad nodular tiroidea benigna. En el Hospital Militar Central Dr. Carlos J. Finlay se realiza este procedimiento como alternativa de primera línea frente al tratamiento quirúrgico y la observación clínica, en pacientes con enfermedad nodular benigna sintomática o con molestias cosméticas.

El objetivo de este estudio es describir los resultados del tratamiento de nódulos tiroideos quísticos y predominantemente quísticos mediante IPE.

## Métodos

Se realizó un estudio longitudinal, prospectivo, en pacientes con diagnóstico de bocio nodular benigno, con nódulos quísticos y predominantemente quísticos dominantes, tratados con la IPE en el Hospital Militar Central Dr. Carlos J. Finlay, en el periodo comprendido entre noviembre de 2021 y julio de 2022. Se seleccionaron para el estudio 31 pacientes que cumplieron los siguientes criterios de inclusión:

- Pacientes mayores de 18 años de edad.

- Pacientes sin antecedentes familiares de cáncer de tiroides.

- Pacientes con nódulo dominante quístico (>90 % de componente fluido) o predominantemente quístico (51-90 % de componente fluido), con un volumen  $\geq 3 \text{ cm}^3$ .

- Pacientes con citología negativa de malignidad.

- Pacientes con TSH dentro de parámetros normales (0,37- 4,7 mUI/L)

Se excluyeron pacientes con nódulo sospechoso de malignidad; con síntomas de hiperfunción tiroidea; o que no aceptaron la realización del procedimiento.

Las variables utilizadas en el estudio fueron: edad (años cumplidos en el momento de la inclusión en el estudio), sexo (femenino, masculino), valor de la hormona estimulante de la tiroides TSH (valor de la TSH, al inicio y a los seis y doce meses de realizado el tratamiento), indicación para el tratamiento (síntomas compresivos, molestias a la deglución, preocupación estética), puntuación cosmética\* (1- nódulo no palpable ni visible; 2- nódulo palpable pero no visible; 3- nódulo visible a la deglución o hiperextensión del cuello; y 4- nódulo visible a simple vista), tamaño del nódulo\* (pequeño,  $\leq 10 \text{ ml}$ ; mediano, 11 a 30 ml; grande,  $> 30 \text{ ml}$ ), volumen inicial (volumen (ml) del nódulo al inicio del tratamiento), volumen final (volumen (ml) del nódulo al final de cada periodo de seguimiento: al mes, tres meses, seis meses y doce meses de realizado el tratamiento), por ciento de reducción del volumen\* (se calculó por la fórmula  $\frac{Vi - Vf}{Vf} \times 100$ , donde Vi es volumen inicial y Vf volumen final), volumen total de etanol (cantidad de ml de etanol inyectado a cada nódulo), número de sesiones (cantidad de veces que se aplicó la inyección a cada nódulo), eficacia de la técnica\* (reducción  $> 50 \%$  del volumen inicial del nódulo a los 12 meses de tratamiento), éxito clínico\* (completo: resolución completa de los síntomas; parcial: mejoría de los síntomas, pero aún presentes; ausente: sin mejoría de los síntomas), efectos secundarios\*: eventos no deseados que son algo esperados durante o después del procedimiento (ardor, dolor, disfonía transitoria, edema facial), complicaciones menores\*: eventos no deseados que resuelven sin terapia, sin consecuencias o que requieren terapia nominal, sin

hospitalización; complicaciones mayores\*: eventos no deseados que requieren terapia con hospitalización menor (<48 horas) o que requieren terapia importante, aumento no planificado en el nivel de atención u hospitalización prolongada (>48 horas).

Las variables marcadas con el asterisco (\*) se definieron de acuerdo con la propuesta de estandarización de terminología y criterios de reporte de 2019.<sup>(7)</sup> Las cualitativas se describieron por frecuencias absolutas y porcentajes; para las cuantitativas se utilizó la media, con la desviación estándar, así como el valor mínimo y el máximo. Los cambios entre los volúmenes inicial y final de los nódulos se evaluaron mediante la prueba t de Student para muestras relacionadas. Los datos fueron ingresados y analizados en el programa IBM SPSS 23. Se trabajó con un nivel de confiabilidad de un 95%.

Esta investigación se realizó cumpliendo con los principios de la Declaración de Helsinki, de las normas CIOMS-OMS para investigaciones en humanos y de la Declaración Universal sobre Bioética y Derechos humanos.

A todos los pacientes incluidos en el estudio se les explicó el procedimiento a realizar, con los posibles efectos adversos y complicaciones descritas en la literatura. Se les solicitó el consentimiento informado por escrito, en un modelo con esta explicación detallada y las otras opciones de tratamiento dispuestas en el centro. Los datos solo se emplearon con fines investigativos, sin revelar la identidad de los pacientes. La investigación fue aprobada por el Comité de Ética del Hospital Militar Central Dr. Carlos J. Finlay.

Para el procedimiento se utilizó aguja 23 G, jeringas de 5 y 10 ml, etanol 99 %, torundas y equipo de ultrasonido Aloka Alpha 5, con transductor de 7,5 MHz.

Los pacientes fueron colocados en posición decúbito supino, con una pequeña almohada detrás de las escápulas para mantener el cuello en hiperextensión. Después de la esterilización de la piel, se insertó la aguja acoplada a una jeringa, bajo guía ecográfica hasta el centro de la lesión objetivo. Se aspiró el contenido líquido, dejando escasa cantidad, para facilitar la inyección del etanol. Una vez realizada la

aspiración y manteniendo la aguja en la misma localización, se evacuó el contenido aspirado y se le conectó otra jeringa con el etanol para realizar la inyección. La difusión de etanol a través de la lesión se controló como ecogenicidad intensa en la observación en tiempo real mediante ecografía. En todos los casos se inyectó el 30 % del volumen del nódulo, estimado por ecografía antes de cada aplicación, teniendo como límite máximo 4ml. No se aspiró el etanol inyectado. Las sesiones de inyección se realizaron mensualmente, previas evaluaciones del volumen nodular por ecografía y evaluación clínica. Se consideró el tratamiento concluido cuando: a) desaparecieron los síntomas o las molestias cosméticas en los pacientes; b) el volumen nodular se redujo por debajo de los 3 cm<sup>3</sup>.

La IPE fue realizada por el mismo investigador, con experiencia en la punción con aspiración con aguja fina, apoyado por otro investigador especialista en Imagenología experimentado en ultrasonido, quien realizó todas las evaluaciones ecográficas.

Se mantuvo comunicación telefónica con todos los pacientes y fueron valorados en consulta de seguimiento al mes, a los tres, a los seis meses y a los doce meses de realizado el tratamiento. Al inicio del tratamiento y en cada consulta de seguimiento se le realizó a cada paciente evaluación clínica, ecografía (inicial y evolutiva), se aplicó la puntuación cosmética, y se realizó evaluación del estado funcional de la glándula a los seis y doce meses del tratamiento, mediante el valor de la TSH.

## Resultados

La edad media de los pacientes incluidos en este estudio fue de  $43,6 \pm 14,02$  mínimo 21 y máximo 79 años. Predominó el sexo femenino (90,3 %) y el valor de la TSH se mantuvo en niveles normales durante el período de seguimiento. La indicación más frecuente fue la preocupación estética, presente en 28 pacientes (90,3 %).

Las puntuaciones cosméticas presentes al inicio del tratamiento fueron la 3 y la 4, con 48,4 % y 51,6 % cada una, lo cual se fue desplazando a las tres primeras puntuaciones según avanzó el seguimiento, hasta concentrarse a los 12 meses en las puntuaciones 1 y 2 (58,1 % y 41,9 %). (Tabla 1).

**Tabla 1-** Comportamiento de la puntuación cosmética al inicio y durante el seguimiento.

Puntuación cosmética	Al inicio		Al mes		3 meses		6 meses		12 meses	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
1	-	0	-	0	-	0	3	9,7	18	58,1
2	-	0	10	32,3	19	61,3	24	77,4	13	41,9
3	15	48,4	21	67,7	12	38,7	4	12,9	-	0
4	16	51,6	-	0	-	0	-	0	-	0
<b>Total</b>	<b>31</b>	<b>100</b>	<b>31</b>	<b>100</b>	<b>31</b>	<b>100</b>	<b>31</b>	<b>100</b>	<b>31</b>	<b>100</b>

El 58,1 % de los pacientes presentó nódulos de tamaño mediano, y el 22,6 % nódulos grandes, presentaciones que fueron reduciéndose hasta

lograr un 100 % de nódulos pequeños desde los seis meses. (Tabla 2).

**Tabla 2-** Comportamiento del tamaño de los nódulos desde el inicio y durante el seguimiento.

Tamaño del nódulo	% inicial	% al mes	% 3meses	% 6meses	% 12 meses
Pequeño	19,4	74,2	90,3	100	100
Mediano	58,1	25,8	9,7	0	0
Grande	22,6	0	0	0	0

La media del volumen total de etanol inyectado a los nódulos durante el tratamiento fue de  $6,3 \pm 2,8$  mínimo 2 y máximo 12 ml. Con relación al número de sesiones fue de  $1,7 \pm 0,6$  mínimo 1 y

máximo 3 sesiones.

Hubo una reducción estadísticamente significativa del volumen de los nódulos ( $p < 0,001$ ). (Tabla 3).

**Tabla 3-** Variaciones del volumen de los nódulos durante el periodo de seguimiento.

Periodo de seguimiento	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
Al inicio	21,3	8,8	7,9	41,0
Al mes	8,7	3,2	3,4	16,4
3 meses	6,3	2,6	0,8	10,7
6 meses	3,6	1,7	0,5	6,7
12 meses	1,6	1,4	0,03	5,7

La media del porcentaje de reducción del volumen de los nódulos fue de  $56,7 \pm 10,5$  mínimo 33,1 y

máximo  $86,9; 68,6 \pm 11,7$  mínimo 41,4 y máximo  $92,7; 81,1 \pm 9,4$  mínimo 58,9 y máximo 96,2 y

92,5 ± 5,5 mínimo 81,0 y máximo 99,8 al mes, 3,6 y 12 meses de realizado el tratamiento. La eficacia de la técnica se observó en el 100 % de los casos.

El éxito clínico fue completo en el 100 % de los pacientes, a los 12 meses de seguimiento post tratamiento. El ardor fue el efecto adverso que se presentó, referido por 2 pacientes (8,33 %). No se observaron complicaciones durante el estudio.

## Discusión

La edad media de los pacientes incluidos en este estudio fue de 43,6 ± 14,0. Deandrea y colaboradores<sup>(8)</sup> informan en su estudio una edad media de 53 ± 13 y 45 ± 14 en los grupos de Turín y Foggia respectivamente. Por su parte, Halenka y colaboradores<sup>(9)</sup> encontraron una edad media de 49,0. Después de los 40 años, especialmente después de los 60, el bocio nodular es más común.<sup>(1)</sup>

El predominio del sexo femenino en este estudio se corresponde con otras investigaciones.<sup>(4, 8)</sup> En general, existe una clara evidencia del predominio de la enfermedad tiroidea en el sexo femenino.<sup>(9, 10)</sup>

El valor de la TSH durante todo el estudio se mantuvo dentro de los límites normales, resultados similares a los mostrados por otros autores que sugieren que la IPE en nódulos quísticos y mixtos no interfiere con el funcionamiento de la glándula, a diferencia de otros tipos de tratamiento.<sup>(11)</sup>

La indicación más frecuente que se presentó en esta investigación fue la preocupación estética, que resulta la causa más frecuente de indicación quirúrgica del bocio nodular benigno,<sup>(12)</sup> en correspondencia con el empleo de la IPE como alternativa a la cirugía.

La desaparición de la puntuación cosmética 4 (predominante al inicio del tratamiento), al mes de seguimiento pos tratamiento y la presencia a los seis meses de realizado el tratamiento de la puntuación cosmética 1 (con predominio de esta a los doce meses de seguimiento); así como el incremento de los nódulos pequeños y la desaparición de los nódulos grandes y medianos durante el periodo de seguimiento, manifiestan los resultados positivos del tratamiento con la IPE para la reducción del volumen de los nódulos tiroideos quísticos y predominantemente quísticos, y la consecuente mejoría clínica de los

pacientes con bocio nodular y estos tipos de nódulos dominantes.

La guía de práctica clínica de la Asociación Europea de Tiroides de 2020<sup>(13)</sup> para el uso de ablación guiada por imágenes en nódulos tiroideos benignos, recomienda la IPE como tratamiento de primera línea para los nódulos tiroideos quísticos benignos.

La media del volumen total de etanol inyectado, así como el número de sesiones realizadas en este estudio difieren de lo referido en otros estudios.<sup>(9, 14)</sup> No existe consenso internacional en cuanto a la frecuencia de la IPE, el volumen de etanol a inyectar en cada sesión, ni el límite de sesiones a realizar.<sup>(1, 2, 10)</sup>

La tasa de eficacia se define como el porcentaje de nódulos tratados con éxito.<sup>(8)</sup> En este estudio fue del 100 %, con una reducción media del volumen de los nódulos de 92,5 a los 12 meses de seguimiento. Solymosi y colaboradores<sup>(14)</sup> reportan una tasa de eficacia del 79,4 % en un período de seguimiento de 11 años, con una reducción media del volumen de los nódulos de 70,2 %. Por su parte, Halenka y colaboradores.<sup>(9)</sup> reportan una tasa de eficacia del 100 % en un período de seguimiento de 12 meses, con una reducción media del volumen de los nódulos de 95,0 %.

En este estudio dos pacientes (8,33 %) refirieron ardor moderado durante la realización de la IPE, que fue cediendo inmediatamente al finalizar el procedimiento, y desapareció antes de la hora siguiente. Halenka y colaboradores<sup>(9)</sup> observaron solo complicaciones menores, y fue el dolor local leve y transitorio el más frecuente (58/200, ≈29 %), que generalmente desapareció dentro de varias horas, pero no más tarde de tres días después del procedimiento. Dos pacientes (2/200, 1 %) con quistes complejos grandes experimentaron disfonía que duró de 7 a 14 días, y desapareció espontáneamente sin necesidad de un examen especializado adicional. El tratamiento de los pacientes con nódulos tiroideos con la IPE es generalmente bien tolerado y las complicaciones en su mayoría son menores y transitorias.<sup>(4, 10)</sup>

El tratamiento con la IPE en pacientes con bocio nodular y nódulos tiroideos quísticos o predominantemente quísticos es seguro y eficaz, con efectos adversos transitorios y complicaciones muy poco frecuentes a los 12 meses del tratamiento.



## Conflicto de intereses:

Los autores declaran que no existe ningún conflicto de intereses.

## Contribución de autores:

Conceptualización: Lázaro Lorda Galiano

Curación de datos: Lázaro Lorda Galiano, Jacinto Oscar Navas Igarza

Análisis formal: Lázaro Lorda Galiano

Investigación: Lázaro Lorda Galiano, Jacinto Oscar Navas Igarza

Metodología: Lázaro Lorda Galiano

Administración del proyecto: Lázaro Lorda Galiano

Recursos: Lázaro Lorda Galiano, Jacinto Oscar Navas Igarza

Supervisión: Lázaro Lorda Galiano, Jacinto Oscar Navas Igarza

Validación: Lázaro Lorda Galiano, Jacinto Oscar Navas Igarza

Visualización: Lázaro Lorda Galiano

Redacción- borrador original: Lázaro Lorda Galiano

Redacción - revisión y edición: Lázaro Lorda Galiano

## Financiación:

Hospital Militar Central Dr. Carlos J. Finlay. La Habana.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lorda L, Navas J, Ortega B. Consideraciones actuales de la inyección percutánea de etanol en el bocio nodular benigno. *Rev Cub Med Mil* [Internet]. 2023 [ cited 22 Sep 2023 ] ; 52 (3): [aprox. 19p]. Available from: <https://revmedmilitar.sld.cu/index.php/mil/article/view/2930/2111>.

2. Felício JS, Conceição AM, Santos FM, Sato MM,

Bastos Fde A, Braga de Souza AC, et al. Ultrasound-Guided Percutaneous Ethanol Injection Protocol to Treat Solid and Mixed Thyroid Nodules. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2016 ; 7: 52.

3. Hahn SY, Shin JH, Na DG, Ha EJ, Ahn HS, Lim HK, et al. Ethanol ablation of the thyroid nodules: 2018 consensus statement by the Korean Society of Thyroid Radiology. *Korean J Radiol*. 2019 ; 20 (4): 609-20.

4. Alcántara DMD, Borges LMB, Nunes TFA, Pita GB, Rocha VB, Lavinhas JM, et al. Percutaneous injection of ethanol for thyroid nodule treatment: a comparative study. *Arch Endocrinol Metabol*. 2021 ; 65 (3): 322-7.

5. He L, Zhao W, Xia Z, Su A, Li Z, Zhu J. Comparative efficacy of different ultrasound-guided ablation for the treatment of benign thyroid nodules: Systematic review and network meta-analysis of randomized controlled trials. *PLoS ONE*. 2021 ; 16 (1): e0243864.

6. Hegedüs L, Frasoldati A, Negro R, Papini E. European Thyroid Association Survey on Use of Minimally Invasive Techniques for Thyroid Nodules. *Eur Thyroid J*. 2020 ; 9: 194-204.

7. Mauri G, Pacella C M, Papini E, Solbiati L, Goldberg SN, Ahmed M, et al. Image-guided thyroid ablation: proposal for standardization of terminology and reporting criteria. *Thyroid*. 2019 ; 29 (5): 611-8.

8. Deandrea M, Trimboli P, Creanza A, Garino F, Mormile A, Bertolino S, et al. Long-term follow-up of cystic thyroid nodules treated with percutaneous ethanol injection (PEI) using two different approaches. *Eur J Endocrinol*. 2020 ; 183 (5): 489-95.

9. Halenka M, Karasek D, Schovanek J, Frysak Z. Safe and effective percutaneous ethanol injection therapy of 200 thyroid cysts. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*. 2020 ; 164 (2): 161-7.

10. Cesareo R, Tabacco G, Naciu AM, Crescenzi A, Bernardi S, Romanelli F, et al. Long-term efficacy and safety of percutaneous ethanol injection (PEI) in cystic thyroid nodules: a systematic review and meta-analysis. *Clinical Endocrinology*. 2022 ; 96 (2): 97-106.

11. Braga M, Trippia MA, Stolf AR, Mesa Jr C, Graf

H. Tratamiento de nódulos tiroideos autónomos y quísticos con inyección intranodular de etanol. Rev Assoc Med Bras [Internet]. 2002 [ cited 23 Mar 2023 ] ; 48 (4): [aprox. 12p]. Available from: <https://www.scielo.br/j/ramb/a/QGS5fhsjYbktmjFjkfqm4bq/?lang=pt&format=pdf>.

12. Siddappa AK, Kadli SU, Kailas CT, Chandrasekhar RL. A study on management of multinodular goiter at a tertiary care hospital. Int J Surg. 2019 ; 3 (3): 186-89.

13. Papini E, Monpeyssen H, Frasoldati A, Hegedüs L. 2020 European thyroid association clinical practice guideline for the use of image-guided ablation in benign thyroid nodules. Eur Thyroid J. 2020 ; 9 (4): 172-85.

14. Solymosi T. Percutaneous ethanol injection efficacy in the treatment of benign thyroid nodules. Ten-year follow-up of 254 patients. Orv Hetil. 2020 ; 161 (6): 224-31.