



Riesgo de hipoglucemia según el esquema de insulina en pacientes hospitalizados: estudio retrospectivo

Risk of hypoglycemia according to insulin schedule in hospitalized patients: a retrospective study

Santiago Taracena Pacheco,*,† Federico Leopoldo Rodriguez Weber,*,§
Enrique Juan Díaz Greene,*,§ Gilberto Guzmán Valdivia*,¶

Citar como: Taracena PS, Rodriguez WFL, Díaz GEJ, Guzmán VG. Riesgo de hipoglucemia según el esquema de insulina en pacientes hospitalizados: estudio retrospectivo. Acta Med GA. 2025; 23 (1): 12-17. <https://dx.doi.org/10.35366/119342>

Resumen

Introducción: las recomendaciones señalan mantener 100-180 mg/dL de glucosa sérica para los pacientes no críticos en la mayoría de los escenarios; sin embargo, los métodos para conseguir estas cifras y la evidencia que apoya estas recomendaciones es conflictiva. En cuanto al método farmacológico para el control, la insulina se mantiene como el medio de primera elección, aunque los métodos para administrarla son heterogéneos en distintos medios clínicos no críticos. Ya sea esquema de administración bolo o basal-bolo, la literatura disponible mantiene resultados conflictivos. **Materiales y métodos:** mediante un estudio retrospectivo, comparativo no aleatorizado y descriptivo, se documentó la incidencia de hipoglucemia de dos tratamientos para el control de hiperglucemia con la intención de identificar cuál tiene mayor riesgo de generar hipoglucemia en pacientes no críticos. Se analizaron 40 casos documentando el tipo de esquema de insulina, las características demográficas e incidencia de hipoglucemia. **Resultados:** se registraron más eventos de hipoglucemia en el grupo de esquema basal-bolo contra el esquema bolo (21.5 versus 7.69%, $p < 0.05$). **Conclusiones:** el análisis de datos sugiere mayor riesgo de hipoglucemia en esquema basal-bolo para los pacientes no críticos; sin embargo, los autores confiamos que la experiencia obtenida con este protocolo permita la aplicación de estudios prospectivos en un futuro.

Palabras clave: insulina, hipoglucemia, esquema basal-bolo, esquema bolo.

Abstract

Introduction: recommendations call for maintaining 100-180 mg/dL serum glucose for non-critically ill patients in most settings; however, the methods for achieving these figures and the evidence supporting these recommendations are conflicting. As for the pharmacological method of control, insulin remains the first choice, although the methods of administering insulin are heterogeneous in different non-critical clinical settings. Whether bolus or basal-bolus administration scheme, the available literature maintains conflicting results.

Materials and methods: in a retrospective, non-randomized, descriptive, comparative study, the incidence of hypoglycemia in two treatments for hyperglycemia control was documented to identify which has a higher risk of generating hypoglycemia in non-critical patients. Forty cases were analyzed, documenting the type of insulin regimen, demographic characteristics, and incidence of hypoglycemia. **Results:** more hypoglycemia events were recorded between the two groups in the basal-bolus vs. bolus group (21.5 versus 7.69%, $p < 0.05$). **Conclusions:** the data analysis suggests a higher risk of hypoglycemia in non-critically ill patients in the basal-bolus schedule, but the authors are confident that the experience gained with this protocol will allow the application of prospective studies in the future.

Keywords: insulin, hypoglycemia, basal-bolus scheme, bolus scheme.

* Facultad Mexicana de Medicina Universidad La Salle. Ciudad de México, México.

† Residente Medicina interna. Hospital Ángeles del Pedregal. Ciudad de México, México. ORCID: 0000-0002-1923-7222

§ Internista, profesor del curso de Medicina Interna. Hospital Angeles Pedregal. Ciudad de México, México.

¶ Jefe de Investigación.

Correspondencia:

Dr. Santiago Taracena Pacheco.
Correo electrónico: santiago.mi@outlook.es

Aceptado: 11-03-2024.

www.medigraphic.com/actamedica



Abreviaturas:

ADA = American Diabetes Association.

EASD = European Association for the Study of Diabetes.

INTRODUCCIÓN

Una de las comorbilidades más frecuentes que requieren manejo farmacológico específico en los pacientes hospitalizados es la diabetes tipo 2. Con una prevalencia de 22% en México según la encuesta ENSANUT 2022,¹ este padecimiento es un común denominador para todos los médicos que tratan pacientes hospitalizados; sin embargo, el mejor método para tratar a los pacientes con hiperglucemia y los rangos adecuados de glucosa se mantienen difíciles de definir.

La insulina como el método de elección

El método farmacológico recomendado para control glucémico en los pacientes hospitalizados es la insulina.² Esta recomendación adoptada tanto por la *American Diabetes Association* (ADA)³ y la *European Association for the Study of Diabetes* (EASD).⁴ Se fundamenta en tres aspectos relevantes:

1. La insulina es uno de los medicamentos para control glucémico con el que se cuenta con más experiencia y ensayos clínicos.
2. Su titulación puede ser sencilla, dado que la duración de cada tipo de insulina es conocido y predecible en pacientes no críticos.
3. El costo se mantiene razonable para los tipos de insulina más veteranos.

Esto no descarta otros tratamientos farmacológicos que se han propuesto para el control de los pacientes en contextos clínicos más específicos;⁵⁻⁷ sin embargo en el futuro temprano la insulina se mantiene como el método elegido.

Los límites glucémicos deseados

Distintos grupos han llevado a cabo extensas revisiones en cuanto a los rangos de glucosa sérica deseados. La ADA y la EASD coinciden en dos aspectos fundamentales:

1. Un adecuado control glucémico mejora el pronóstico, reduce costos y mortalidad de los pacientes.
2. Los eventos de hipoglucemia (< 70 mg/dL) incrementan el riesgo de mortalidad y morbilidad independiente del diagnóstico de ingreso.

Es importante, en todo caso, considerar el contexto clínico del paciente. Los estudios que han reforzado las

recomendaciones hacia el control glucémico de los pacientes críticos por su naturaleza de ambiente contenido han hecho que este sector muy delimitado de población cuente con evidencia de mejor calidad y claridad, en comparación a las salas de pacientes hospitalizados en zonas no críticas.

Hasta este momento, las cifras recomendadas de glucosa en el sector crítico son 140 a 180 mg/dL. Estas recomendaciones surgieron del ya muy conocido *Leuven Surgical Trial*,⁸ publicado en el año 2001. Este ensayo estableció un beneficio en la mortalidad para los pacientes críticos que se mantenían entre 80-110 mg/dL, comparado con rangos mayores entre 180-215 mg/dL (20.2 versus 10.6%, p = 0.005). Posteriormente, el ensayo clínico pivote *NICE-SUGAR*⁹ planteó nuevos rangos de control (< 180 mg/dL) en el grupo experimental, comparándolos con el grupo estricto que debía mantenerse entre 80-110 mg/dL establecido por el ensayo anterior. Esto demostró una mortalidad mayor en el grupo estricto contra el grupo experimental (27.5 versus 24.9%, OR 1.14; IC95% 1.02-1.28; p = 0.02). Agregado a esto, reportaron una mayor incidencia de hipoglucemia severa en el mismo grupo (6.8 versus 0.5% (OR 14, IC95% 9.0-25.9; p < 0.001).

Estos dos ensayos pivote establecieron la recomendación en cuanto al balance de seguridad y efectividad para prevenir aumento de la mortalidad por hiperglucemia; sin embargo, traspolar estos resultados a un contexto no crítico se debería de tomar con cautela.

Para esta población que no se encuentra en una sala de cuidados intensivos e intermedios, el rango recomendado es más amplio: 100-180 mg/dL.⁸ Esta recomendación, compartida por la ADA y la EASD, está fundamentadas en estudios reconocidos por su heterogeneidad de población, metodología y rangos de control.¹⁰⁻¹²

Los esquemas basal-bolo contra la corrección rápida

El esquema basal-bolo se prefiere en comparación con el esquema de corrección rápida. Dadas las diferentes duraciones de cada tipo de insulina, se han utilizado tres métodos generales para el manejo de los pacientes no críticos. Estos son definidos de la siguiente manera:¹³

1. Esquema bolo (*Tabla 1*) (corrección rápida o "sliding scale"): dosis de insulina preestablecida, dependiendo de la glicemia del paciente en un periodo establecido (preprandial, cada seis horas, cada ocho horas).
2. Esquema basal: insulina de larga duración una o dos veces por día sin aplicación de insulina preprandial.
3. Esquema basal-bolo: insulina de larga duración, agregando corrección rápida preprandial o con horario preestablecido, como los esquemas descritos anteriormente.

Tabla 1: Ejemplo de esquema bolo.	
Glucosa capilar preprandial, cada seis horas y administrar insulina rápida subcutánea según esquema:	
<ul style="list-style-type: none"> • 180-200 mg/dL aplicar 3 UI • 201-250 mg/dL aplicar 4 UI • 251-300 mg/dL aplicar 5 UI • \geq 300 mg/dL aplicar 6 UI y reportar a médico de guardia 	
UI = unidades internacionales.	

La discrepancia entre los esquemas: buscando la respuesta correcta

A pesar de que el esquema de insulina basal-bolo es recomendado por las directrices actuales, la selección del esquema bolo se mantiene extensamente utilizada en la mayoría de los centros médicos.¹⁴

La evidencia que apoya a los esquemas de insulina basal-bolo se fundamentan en la prevención de la hiperglicemia. De manera inicial, el estudio pionero *RABBT2*¹⁵ buscó demostrar el argumento a favor del esquema con insulina basal el cual no “corregía” la hiperglicemia cuando ocurría, más bien la insulina basal-bolo lograba simular la secreción fisiológica con corrección mínima preprandial o con horario establecido si los pacientes se encontraban en ayuno.

Los resultados del estudio reportaron un mejor control en los pacientes en cuanto a la glucosa en ayuno para los que fueron sometidos al esquema basal bolo (147 versus 165 mg/dL, $p < 0.01$) y la misma cantidad de episodios de hipoglucemia en cada grupo. Esto sacudió el argumento hasta ahora utilizado del por qué no se utiliza la insulina basal, por esta falsa concepción de que la insulina de larga duración generará hipoglucemia en pacientes que se encuentran en ayuno. El siguiente estudio que buscó replicar estos resultados en pacientes quirúrgicos fue el *RABBIT 2 Surgery*,¹⁶ enfocándose en una población en ayuno prolongado, los investigadores reportaron un mejor control en el grupo con esquema basal-bolo ($p < 0.01$), contrastando con un mayor número de eventos de hipoglucemia para ese mismo grupo (< 70 mg/dL 23.1% versus 4.7%, $p < 0.001$).

Posterior a este estudio, la pregunta a responder era cuál debía de ser el mejor esquema en el balance riesgo-beneficio. Y con múltiples ensayos clínicos surgiendo para abordar esta discordancia, en el 2015 se publicó un metaanálisis¹⁷ que buscaba abarcar poblaciones en distintas condiciones. Este estudio consideró 11 ensayos clínicos

aleatorizados con 1,322 pacientes, reportando un menor riesgo de hipoglucemia en los pacientes sometidos a esquema basal-bolo (RR 3.96, IC95% 1.7-9.21); sin embargo, en ocho de los ensayos analizados no hubo diferencia en el control glucémico entre las dos poblaciones (RR 2.84, IC95% 0.94-8.59).

Esta gran discordancia entre los estudios publicados hasta el momento, nos llevó a considerar un mayor riesgo de hipoglucemia en la población con esquema basal-bolo en un área no crítica, estableciendo como hipótesis la mayor seguridad del esquema basal-bolo sobre el esquema bolo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio retrospectivo, comparativo no aleatorizado y descriptivo, que analizó la incidencia de hipoglucemia de dos tratamientos para el control de hiperglicemia con la intención de identificar cuál de ellos tiene mayor riesgo de provocarla.

Se realizó un análisis de 195 expedientes clínicos consultados en el Archivo Clínico del Hospital Angeles Pedregal, de acuerdo con el protocolo autorizado por el Comité de Bioética con el número de registro HAP 2625.

Criterios de inclusión: pacientes que ingresaron en el Hospital Angeles Pedregal con diagnóstico de hiperglicemia en el periodo 2015 a 2020, descontrol glucémico y diabetes tipo 2 descontrolada. Pacientes que recibieron su tratamiento en hospitalización de área no crítica. Pacientes que fueron tratados con insulina como tratamiento único para la glicemia durante su hospitalización y que no hubieran presentado hipoglucemia antes de iniciar el tratamiento con insulina durante su hospitalización.

Criterios de exclusión: pacientes hospitalizados en la terapia intermedia y la terapia intensiva, en los que uno de los diagnósticos a su ingreso hubiese sido hipoglucemia, hospitalización por menos de 24 horas, que no se encontrara evidencia del tratamiento con insulina en el expediente y el uso de glucocorticoides vía oral o intravenosa previo al evento de hipoglucemia.

Para la recopilación de resultados, los expedientes clínicos fueron elegidos de manera aleatoria por el Archivo Clínico para evitar sesgo de selección; no se restringieron los otros diagnósticos de ingreso incluidos los casos que requirieron intervención quirúrgica y aquellos con ingreso desde el Servicio de Urgencias.

El análisis de los expedientes fue realizado por un investigador único, el cual recopilaba las comorbilidades registradas en el expediente, las características demográficas y los diagnósticos de los pacientes. Se analizaba de manera lineal desde su ingreso hasta que ocurrían alguno de los siguientes eventos: transferencia a un área crítica (terapia

intermedia o terapia intensiva), hipoglucemia registrada o egreso del paciente. Al contar con alguno de los anteriores, el análisis se detenía y se registraba la causa. En caso de transferencia a un área crítica, se verificaba la causa de la transferencia para descartar hipoglucemia, verificando el diagnóstico de egreso o defunción para asegurar no contar con casos de hipoglucemia como detonante de su transferencia.

Posterior a esto, se registraron para su análisis únicamente los pacientes que presentaron hipoglucemia antes de su transferencia o egresaron sin presentar el evento, documentando los resultados de laboratorio clínico más cercanos a su ingreso para incluir en el análisis poblacional.

Ánalisis estadístico: se utilizó el software SPSS v29 para estadística descriptiva con prueba exacta de Fisher para comparar las medias cuando el tamaño de la muestra fuera suficiente.

RESULTADOS

De los 195 expedientes clínicos revisados, se contó con el registro de 40 pacientes posterior a la aplicación de los criterios de exclusión e inclusión para su análisis.

Ciento cincuenta y cinco expedientes revisados no cumplieron con los criterios de inclusión, por lo que no se incluyeron en el análisis final.

Cuarenta casos fueron analizados con sus características descritas en *Tabla 2*. Los grupos se distribuyeron de la siguiente manera: 14 pacientes fueron sometidos a tratamiento basal + bolo y los 26 restantes fueron tratados con esquema bolo.

El género, la edad y la glucosa de ingreso fueron similares en ambos grupos; los únicos factores que demostraban diferencias estadísticamente significativas fueron el peso de los pacientes (83.64 versus 73.73 kg, $p < 0.05$) y la prevalencia de hipertensión arterial sistémica (50 versus 26%, $p < 0.05$), siendo ambas mayores para el grupo basal-bolo.

Los resultados de laboratorio al ingreso (glucosa al ingreso, a su egreso y creatinina), no presentaron diferencia estadísticamente significativa entre los dos grupos.

En cuanto a los eventos de hipoglucemia, se determinó una diferencia estadísticamente significativa con mayor incidencia para el grupo de esquema basal-bolo en comparación al esquema bolo (21.5 versus 7.69%, $p < 0.05$).

DISCUSIÓN

El mejor método para el manejo de la hiperglicemia en los pacientes hospitalizados se mantiene incierto dada la inconsistencia de los resultados de los estudios recientes.^{18,19}

Los resultados de este análisis retrospectivo encontraron mayor incidencia de hipoglucemia en los pacientes que fueron tratados con insulina basal-bolo, lo cual no corresponde con la hipótesis que se había establecido: el esquema bolo genera mayor riesgo y eventos de hipoglucemia.

Estos hallazgos son diferentes a los estudios ya publicados. Entre las causas a considerar esta discrepancia se encuentran el tamaño de la muestra y la discordancia de peso entre los grupos, generando cambios en la dosis de insulina basal que es ponderada según el peso.

Las fortalezas y limitaciones del estudio incluyen distintos aspectos señalados en la *Tabla 3*.

Tabla 2: Descripción de grupos y eventos de hipoglucemia (N = 40).

Grupo 1: esquema de insulina basal

+ bolo a requerimiento.

Grupo 2: esquema de insulina rápida en bolo.

	Grupo 1 N = 14 (35%)	Grupo 2 N = 26 (65%)	p
Género, n (%)			
Hombres	7 (50)	15 (57.6)	NS
Mujeres	7 (50)	11 (42.4)	
Edad (años)			
Rango	27-80	41-86	
Media	59.14	61.69	NS
Mediana	61.5	62	
Dx de DT2 previo, n (%)	13 (93)	25 (96)	NS
Dx de hipertensión arterial sistémica, n (%)	7 (50)	7 (26)	< 0.05
Glucosa al ingreso (mg/dL)			
Rango	84-419	78-449	
Media	215.50	177	NS
Glucosa al egreso (mg/dL)			
Rango	88-416	94-296	
Media	188.07	168.24	NS
Creatinina (mg/dL)			
Rango	0.72-3.31	0.50-2.87	
Media	1.19	1.091	NS
Peso (kg)			
Rango	47-120	49-103	
Media	83.64	73.73	< 0.05
Estancia hospitalaria (días)			
Rango	1-11	1-7	
Media	4.90	3.46	NS
Hipoglucemia postratamiento (pacientes) n (%)	3 (21.5)	2 (7.69)	< 0.05

DT2 = diabetes tipo 2. Dx = diagnóstico. NS = no significativa.

Tabla 3: Resumen de las fortalezas y limitaciones del estudio.

Fortalezas del estudio	Limitaciones del estudio
<p>Se documentó un mayor riesgo de hipoglucemia en el grupo de la insulina basal-bolo de manera estadísticamente significativa</p> <p>Pocos ensayos en pacientes no críticos</p> <p>Selección de expedientes independiente de los investigadores</p> <p>Población mexicana</p>	<p>Análisis retrospectivo</p> <p>Población pequeña</p> <p>Grupo basal-bolo con un peso más elevado a su contraparte</p> <p>Únicamente se documentó el primer evento de hipoglucemia</p>

Entre los elementos que consideramos valiosos, es importante destacar que el estudio se llevó a cabo en población mexicana, únicamente con pacientes no críticos contando con pruebas de función renal similares y eventos de hipoglucemia con una diferencia estadísticamente significativa.

En cuanto a las limitaciones del estudio, se realizó un análisis retrospectivo, con una significativa pérdida de pacientes durante el análisis al contar con criterios de exclusión más estrictos con la intención de mantener el análisis enfocado a pacientes en áreas no críticas. Del mismo modo, un bajo número de eventos de hipoglucemia no permitió hacer pruebas estadísticas de comparación de grupos en cuanto a este resultado.

CONCLUSIONES

En el análisis retrospectivo se documentó un mayor riesgo de hipoglucemia en los pacientes no críticos que fueron tratados con esquema basal-bolo en contraste con los pacientes tratados con esquema bolo.

Los investigadores en conjunto consideramos que, para solventar estas debilidades metodológicas, se requiere de mayor número de pacientes en estudios subsecuentes. Este registro se mantiene en crecimiento constante, por lo que al incluir más pacientes se podrá mejorar la veracidad de los resultados y, de manera oportuna, lograr aplicar la experiencia obtenida en el diseño de protocolos prospectivos para el futuro.

REFERENCIAS

1. Basto-Abreu A, López-Olmedo N, Rojas-Martínez R, Aguilar-Salinas CA, Moreno-Banda GL, Carnalla M et al. Prevalencia de prediabetes y diabetes en México: Ensanut 2022. *Salud Pública Mex.* 2023; 65: s163-s168.
2. Pasquel FJ, Lansang MC, Dhatariya K, Umpierrez GE. Management of diabetes and hyperglycaemia in the hospital. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2021; 9 (3): 174-188.
3. ElSayed NA, Aleppo G, Aroda VR, Bannuru RR, Brown FM, Bruemmer D, et al. 16. Diabetes care in the hospital: standards of care in diabetes-2023. *Diabetes care.* 2023; 46 (Suppl 1): S267-S278.
4. Davies MJ, Aroda VR, Collins BS, Gabbay RA, Green J, Maruthur NM et al. Management of hyperglycemia in type 2 diabetes, 2022. A consensus report by the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetes Care.* 2022; 45 (11): 2753-2786.
5. Lorenzo-González C, Atienza-Sánchez E, Reyes-Umpierrez D, Vellanki P, Davis GM, Pasquel FJ et al. Safety and efficacy of DPP-4 inhibitors for the management of hospitalized general medicine and surgery patients with type 2 diabetes. *Endocr Pract.* 2020; 26 (7): 722-728.
6. Jervis M, Mitchell AP, Islam N, Mustafa OG, Kelly PA, Whyte MB. GLP-1 receptor agonist use during hospitalisation: Better glycaemic control compared to premixed insulin. *Diabetes Metab Res Rev.* 2022; 38 (8): e3574.
7. Estrada AK, Delgado-Maldonado T, Lara-Ramírez EE, Martínez-Vázquez AV, Ortiz-Pérez E, Paz-González AD et al. Recent advances in the development of type 2 sodium-glucose cotransporter inhibitors for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Mini Rev Med Chem.* 2022; 22 (4): 586-599.
8. Van den Berghe G, Wouters P, Weekers F, Verwaest C, Bruyninckx F, Schetz M et al. Intensive insulin therapy in critically ill patients. *N Engl J Med.* 2001; 345 (19): 1359-1367.
9. NICE-SUGAR Study Investigators, Finfer S, Chittock DR, Su SY, Blair D, Foster D et al. Intensive versus conventional glucose control in critically ill patients. *N Engl J Med.* 2009; 360:1283-1297.
10. Said E, Farid S, Sabry N, Fawzi M. Comparison on efficacy and safety of three inpatient insulin regimens for management of non-critical patients with type 2 diabetes. *Pharmacol Pharm.* 2013; 4 (7): 556-565.
11. Schroeder JE, Liebergall M, Raz I, Egleston R, Ben Sussan G, Peyser A et al. Benefits of a simple glycaemic protocol in an orthopaedic surgery ward: a randomized prospective study. *Diabetes Metab Res Rev.* 2012; 28 (1): 71-75.
12. Aidar RG, Salil G, Sundae S, Limin P, Umpierrez GE. Management of hyperglycemia in diabetic patients with hematologic malignancies during dexamethasone therapy. *Endocr Pract.* 2013; 19 (2): 231-235.
13. Webster RE, Belfer JJ, Schmidt KJ. Evaluation of basal plus versus sliding scale insulin therapy on glucose variability in critically ill patients without preexisting diabetes. *Ann Pharmacother.* 2024; 58 (6): 565-571.
14. Cheung NW, Chipp DR. Sliding scale insulin: will the false idol finally fall? *Intern Med J.* 2010; 40 (9): 662-664.
15. Umpierrez GE, Smiley D, Zisman A, Prieto LM, Palacio A, Ceron M et al. Randomized study of basal-bolus insulin therapy in the inpatient management of patients with type 2 diabetes (RABBIT 2 trial). *Diabetes Care.* 2007; 30 (9): 2181-2186.
16. Umpierrez GE, Smiley D, Jacobs S, Peng L, Temponi A, Mulligan P, Umpierrez D, Newton C, Olson D, Rizzo M. Randomized study of basal-bolus insulin therapy in the inpatient management of patients

with type 2 diabetes undergoing general surgery (RABBIT 2 surgery). *Diabetes Care.* 2011 Feb;34(2):256-61.

17. Lee YY, Lin YM, Leu WJ, Wu MY, Tseng JH, Hsu MT et al. Sliding-scale insulin used for blood glucose control: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Metabolism.* 2015; 64 (9): 1183-1192.

18. Colunga-Lozano LE, Torres FJ, Delgado-Figueroa N, Gonzalez-Padilla DA, Hernandez AV, Roman Y et al. Sliding scale insulin for non-critically ill hospitalised adults with diabetes mellitus. *Cochrane Database Syst Rev.* 2018; 11 (11): CD011296.

19. Vellanki P, Cardona S, Galindo RJ, Urrutia MA, Pasquel FJ, Davis GM et al. Efficacy and safety of intensive versus nonintensive supplemental insulin with a basal-bolus insulin regimen in hospitalized patients with type 2 diabetes: a randomized clinical study. *Diabetes Care.* 2022; 45 (10): 2217-2223.