

Fondo genético probable en la apendicitis aguda

Acad. Dr. Ivanhoe A. Gamboa-Ojeda, * Dr. Alberto Vázquez-Benítez, ** Dr. Elías Lorenzana-Merlín, ***
Dra. María Santa Leticia Sánchez-Cuautle****

Resumen

Objetivo: determinar la existencia de posibles factores genéticos en la apendicitis aguda con el estudio del árbol genealógico como instrumento.

Material y métodos: en un estudio de 108 árboles genealógicos (56 mujeres y 52 varones) de médicos, pasantes y/o estudiantes pasantes de medicina y población voluntaria que contestó un cuestionario, se inquirió sobre si habían sido o no apendicectomizados ellos y/o alguno de sus parientes de primer grado (padres y hermanos en este caso).

Resultados: se encontraron a seis sujetos que contestaron positivamente (5.55%) y a 102 (94.45%) que no. Los primeros reunieron a 32 parientes de primer grado y los segundos a 437. Entre aquéllos hubo ocho apendicectomizados y entre éstos 32. La prueba de Ji cuadrada tuvo un valor de 9.874 con $p < 0.002$. Se concluyó que aún considerando varios sesgos: el del recuerdo, el del tipo privativo de contestantes, el que no se exigió estudio anatomo-patológico y otros, el valor de la Ji cuadrada refuerza la idea, ya expresada antes según varias referencias, de que es probable que existan factores genéticos que predispongan a la apendicitis aguda. Tal vez un riesgo máximo de repetición para un pariente de primer grado de alguien que ha sido apendicectomizado, sea tan alto como de 25%; pero hacen falta más estudios para hacer algunas aproximaciones mejores. El modelo de herencia que más se ajustaría al tipo de herencia es el multifactorial.

Palabras clave: genética, propósito, árbol genealógico.

Summary

Objective: To determine the existence of possible genetic factors in acute appendicitis with only the genealogic tree as an instrument.

Material and methods: On 108 pedigrees taking as propositos 56 women and 52 adult males, physicians, medical students or individuals from the general population who accepted to answer the questionnaire, we know whether their first-degree relatives (parents or siblings) were or were not appendicectomized.

Results: Six propositos answered affirmatively (5.55%) and 102 (94.45%) answered negatively. The first group had 37 first-degree relatives and the second group had 437, with eight and 32 appendicectomized individuals among them, respectively. Chi square test had a value of 9.874 ($p < 0.002$). Conclusions: Despite many biases such as memory, the special answered type, the lacks of pathology studies in certain cases, the chi square value founded reinforced the idea that probably it exists some genetic factors in acute appendicitis. Perhaps the highest risk for a first-degree relative to acquire the infectious could be as high as 25%, but it is necessary for more epidemiological surveys to improve the accuracy. Inheritance model more adjusted to acute appendicitis is the multifactorial one.

Key words: Genetics, Purpose, Genealogical tree.

Introducción

Antecedentes generales

La apendicitis es una enfermedad bastante común que puede ocurrir a cualquier edad y ser un trastorno súbito o

crónico. La primera modalidad es la más frecuente y suele ser, casi siempre, de solución quirúrgica urgente⁽¹⁻³⁾.

La apendicitis es sumamente rara en la lactancia y en la primera infancia y tiende a prevalecer en hombres adolescentes, en la juventud y en la edad madura temprana. En los sujetos de la tercera edad ocurre también apendicitis pero, en muchísimas ocasiones, de manera silenciosa, de tal modo que el cuadro con frecuencia es poco claro. No es rara la historia de apendicitis ocurrida en un hombre viejo que apenas si presenta síntomas y que "brota" cuando ya el apéndice se ha perforado. Las estadísticas citan que hasta 30% de los ancianos con apendicitis sufre perforación. No es desusual que el diagnóstico se establezca cuando ha aparecido obstrucción intestinal hasta 5 o 6 días después de la perforación. De suyo, en las edades extremas de la vida se ha citado que la perforación puede ocurrir con más probabilidad; de ahí que los cuadros de apendicitis sean muchas veces fatales en los ancianos.

* Profesor Titular y Tutelar, Depto. de Genética, Facultad de Medicina de la Univ. Autónoma de Puebla. Secretario del Capítulo Oriente de la AMC.

** Clínica 1 de los Servicios Coordinados de Salud en Puebla, Pue. Jefatura.

*** Facultad de Medicina de la Univ. Autónoma de Puebla.

**** Unidad de Investigación sobre Envejecimiento, IMSS de Puebla.

Recibido para publicación: 13-06-2000.

Aceptado para publicación: 28-06-2000.

Es posible que la pobreza, propiciando condiciones de salud desventajosas, tenga cierta participación en el trastorno. Se ha constatado que en poblaciones adultas jóvenes hay un poco más de varones afectados que mujeres⁽⁴⁾.

Se conoce poco sobre la patogenia del apéndice inflamado; sólo se ha establecido que la obstrucción se llega a encontrar hasta en 40% de los casos, muchas veces con ulceración previa de la mucosa. En los estudios emprendidos para conocer la etiología precisa, sembrando el contenido intraluminal del apéndice extirpado, se han encontrado microorganismos locales del tipo de la *E. coli*, así como enterococos y estreptococos hemolíticos; pero no se sabe si éstos llegan a la pared del apéndice por invasión directa de la mucosa, por vía linfática o sanguínea. Es posible que bacterias del género *Yersinia* participen en la génesis del padecimiento. Se han hallado anticuerpos contra ellas hasta en 30% de los casos. También se han encontrado apendicitis debidas a clamidias o a oxiuros⁽⁵⁾.

En ocasiones el cuadro llega a ser de tal magnitud que ocurre perforación. En ese momento ocurre una complicación grave que tiene perfiles propios, clínicos y radiológicos^(6,7).

En el laboratorio son comunes los hallazgos de elevación discreta de la fórmula blanca, con desviación nuclear a la izquierda. Se menciona que la acentuación de la "sombra de los músculos psoas" en la placa simple de abdomen, es un dato que acompaña frecuentemente a la apendicitis. A veces, en apenas 5 % de los casos, puede observarse un fecalito. En la actualidad, el ultrasonograma, simple o en su modalidad Doppler, ha venido a constituirse en un medio importante para hacer el diagnóstico de un apéndice inflamado. No es definitivo en muchos casos, pero ayuda⁽⁸⁾. En algunas ocasiones un embarazo se puede complicar con una apendicitis⁽⁹⁾.

Recientemente se ha propuesto una etiología neuroinmune para el desarrollo del apéndice inflamado⁽¹⁰⁾ y en cierta cantidad de casos se refiere la presencia de masas cecales en pacientes con apendicitis⁽¹¹⁾.

A partir del advenimiento de los métodos de cirugía poco invasivos, como la laparoscopia, se han hecho notables reducciones en el tiempo, riesgo y evolución postoperatoria de la apendicitis⁽¹²⁻¹⁴⁾. Hay consenso en suponer que la apendicectomía ha sido una antes y otra después de la introducción de la laparoscopia⁽¹⁵⁾.

Cuando se hacen estudios anatomo-patológicos sobre la pieza apendicular extirpada, hay informes de negatividad entre 9 al 40% de los casos, por lo que el diagnóstico clínico debe de enfatizarse aplicándose el médico en una anamnesis exhaustiva pero, sobre todo, en la exploración y en los estudios auxiliares de gabinete. El diagnóstico diferencial debe de hacerse con un cálculo urinario que se encuentre descendiendo por el uretero, con litiasis vesicular y pielonefritis; en las mujeres el diagnóstico diferencial debe hacerse con enfermedad inflamatoria pélvica, ruptura de embarazo tubario,

torsión del ovario o de un quiste ovárico de regular tamaño. En ocasiones otros diagnósticos como gastroenteritis, amebomas en el colon ascendente, enteritis regional (enfermedad de Crohn) y diverticulitis de Meckel, pueden simular una apendicitis⁽¹⁶⁾.

El tratamiento es eminentemente quirúrgico. Generalmente, si la cirugía está bien realizada, no hay complicaciones; pero, a veces puede presentarse infección necrotizante de los tejidos perivecinos⁽¹⁷⁾. Es posible que la apendicitis que se perfora represente una entidad separada⁽¹⁸⁾. Algunos casos raros de apendicitis en recién nacidos se han debido a fíleo meconial⁽¹⁹⁾.

Antecedentes específicos

En el catálogo de enfermedades mendelianas del profesor Víctor A. McKusick, una obra de referencia mundial para los genetistas clínicos, la apendicitis se encuentra señalada como una entidad con propensión a guardar cierto fondo genético. Tiene asignado el número 100770⁽²⁰⁾.

Un autor, Baker⁽²¹⁾, ya desde 1937, informó de una familia donde ocurrieron varios casos de apendicitis. Otros autores, mucho más recientes, como Basta y cols⁽²²⁾ hacen un análisis matemático de varios árboles genealógicos donde hay agregación familiar para la apendicitis, señalando que existe evidencia para una transmisión del trastorno de tipo poligénico.

Finalmente, otro grupo el de Shamis y cols⁽²³⁾ informó en 1994, haber estudiado a 2,331 personas, las cuales integraban, en los diversos árboles genealógicos, hasta dos generaciones de 782 familias. Halló evidencia que apoya un factor de predisposición familiar.

Esta investigación fue emprendida para determinar un mejor conocimiento de la patología apendicular, en este caso sobre las presuntas bases genéticas del trastorno. Otra pretensión era la de sentar la posibilidad de un cálculo de riesgo para parientes de primer grado una vez que se ha presentado un caso en una familia.

Material y método

Se estudiaron 120 genealogías de sujetos voluntarios, la mayoría estudiantes, pasantes de medicina y/o médicos que aceptó contestar un cuestionario simple donde las preguntas principales fueron cuatro: a) ¿ha sido apendicectomizado?, b) ¿alguno de sus parientes de primer grado (padres, hermanos o hijos) lo ha sido también? En caso afirmativo a la pregunta anterior, c) ¿de qué género son o fueron los apendicectomizados?, y la última pregunta d) ¿cuál es su edad actual?

Otras preguntas generales incluyeron al género del sujeto entrevistado y otros datos.

A todos los entrevistados, independientemente de que declararan haber sido apendicectomizados o no, se les hizo un árbol genealógico que comprendía al *propósito* (caso por el cual se conoce a la familia), a los padres y a los hermanos.

El estudio se estimó de retrocohorte, analítico y basado sólo en la anamnesis. De acuerdo a los criterios de Feinstein⁽²⁴⁾ por maniobra se consideró la existencia de parientes de primer grado apendicectomizados en cada grupo.

El estudio se realizó en la ciudad de Puebla, en los meses de septiembre a octubre de 1999.

Se trató de conocer cuántos de los sujetos *propósito*, independientemente de que hubiesen sido sometidos o no a cirugía por apendicectomía intencional, tenían parientes de primer grado que hubiesen sido también sometidos al mismo tipo de cirugía.

Se eliminaron, por datos incompletos en la elaboración del árbol genealógico, a 12 sujetos, quedando los 108 del estudio.

Se tomó como apendicitis a la inflamación aguda del apéndice. Para ser considerado un cuadro como tal debió de haber presentado: dolor en fossa ilíaca derecha, náusea, vómito o diarrea, fiebre, leucocitosis en la biometría hemática y signo de McBurney positivo; el padecimiento debió en todos los casos de haber quedado resuelto con apendicectomía. No se consideró gravedad del cuadro apendicular ni complicaciones.

Los datos se analizaron cualitativamente. Se usó estadística descriptiva simple y prueba de Ji cuadrada, considerada para la metodología de esta pesquisa como “de una sola cola”.

En esencia, se trató de conocer si en la muestra estudiada la apendicitis pudiera guardar una base genética ocurriendo más casos entre los familiares de primer grado de los sujetos *propósito* que sí hubiesen sido apendicectomizados, que entre los familiares de primer grado de los sujetos que no hubiesen sido apendicectomizados.

La hipótesis nula (H_0) establecía que la apendicitis no guarda un fondo familiar porque los parientes de primer grado de los casos de los propósitos sí apendicectomizados serían numéricamente semejantes a los casos de parientes de primer grado apendicectomizados de un propósito no apendicectomizado. Se eligió validar esta hipótesis si la $p > 0.05$ con la prueba de Ji cuadrada.

La hipótesis alternativa (H_1) establecía que la apendicitis sí guarda un fondo familiar porque los parientes de primer grado de los casos de los propósitos sí apendicectomizados serían numéricamente más que los casos de parientes de primer grado apendicectomizados de un propósito no apendicectomizado. Se eligió validar esta hipótesis si la $p < 0.05$ con la prueba de Ji cuadrada.

Se guardó en todo caso el anonimato de los *propósitos* que aportaron datos.

Resultados

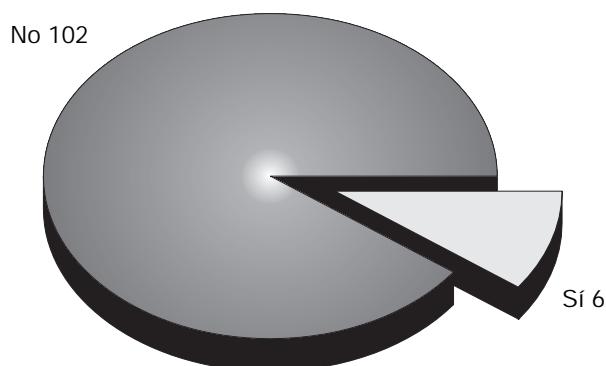
De los 108 árboles genealógicos considerados, 56 fueron elaborados con datos proporcionados por mujeres y 52 con datos de varones. Hubo 12 menores de 20 años al momento de la entrevista, 86 entre 21 y 50 años y 10 mayores de esta edad.

Hubo sólo seis casos (5.55 %) de sujetos apendicectomizados (Figura 1), tres hombres y 3 mujeres. Estos casos tuvieron 32 parientes de primer grado en total, de los cuales, 8 (25.0%) habían sido sometidos también a apendicectomía. Los 102 casos de propósitos no apendicectomizados tuvieron 437 parientes de primer grado en total, de los cuales 32 habían sido apendicectomizados (7.32%) (Figura 2). La prueba de Ji cuadrada para confrontar estos datos tuvo, con un grado de libertad, un valor de 9.874, siendo $p < 0.002$. (el valor exacto era $p = 0.00175$). Esto validó la hipótesis alternativa con un margen aceptable de confiabilidad.

Los árboles genealógicos, condensados, de las seis familias positivas a un miembro más con apendicectomía, están en la figura 3.

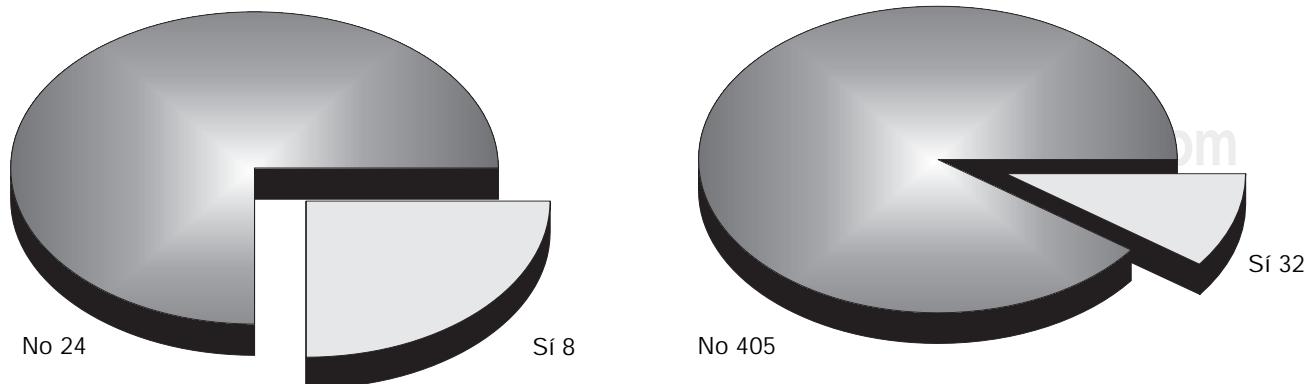
Discusión

Aunque los resultados de esta pesquisa van de acuerdo en la existencia de cierto factor genético en la apendicitis, vale la pena señalar varios sesgos que pudieran estar influenciando adversamente los resultados. Así, en primer lugar, existe el llamado “sesgo del recuerdo”, el cual se aplicaría tanto a los datos suministrados por los sujetos que sí fueron apendicectomizados como a los que no lo fueron. Para los primeros, este sesgo implicaría la posibilidad de acordarse más (o haber estado más pendiente) de la ocurrencia de otro caso de apendicitis similar al que el *propósito* tuvo (la apendicectomía misma). Así, debe señalarse que el sesgo tergiversaría los resultados a favor de la relación.



Los apendicectomizados fueron sólo 6 de 108 (exactamente 5.55%).

Figura 1. Relación de apendicectomizados entre 108 sujetos encuestados.



Los apendicectomizados tenían 25% de parientes apendicectomizados.

Los no apendicectomizados tenían 7.32% de parientes apendicectomizados.

χ^2 cuadrada = 9.874, $p < 0.002$.

Figura 2. Apendicectomizados entre los parientes de 1er grado de los encuestados.

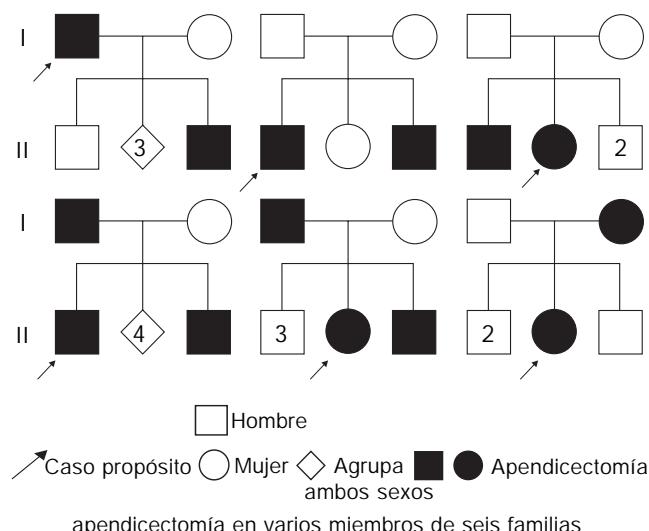


Figura 3. Descontando el caso propósito hay 32 sujetos censables, parientes de primer grado, en las seis familias, de los cuales ocho fueron también apendicectomizados (los cónyuges no cuentan).

También, para los sujetos que aportaron datos y que fueron considerados como *propósitos* no apendicectomizados, el sesgo del recuerdo se debe considerar, pero adversamente, de tal modo que los entrevistados tienen tendencia a no recordar quién de sus parientes sí fue sometido a una cirugía (la apendicectomía misma) que a él mismo nunca le fue practicada.

Resumiendo, el sesgo actúa en dos sentidos: favorablemente para los *propósitos* si intervenidos y desfavorablemente para los no intervenidos (es un sesgo "de dos colas"). Esta posibilidad es algo que se trató de obviar insistiendo en la

fidelidad de los datos y, hasta donde se pudo, se evitó; pero quizás no fue así en algunos pocos casos.

Por otro lado, es posible también que algunos sujetos de cada grupo, sometidos a laparotomías exploradoras por otras razones diferentes a la apendicitis, hubiesen llegado al quirófano terminando por ser operados del apéndice, cuando la causa principal de la intervención fue otra y el cirujano quitó el apéndice "en previsión". Estos casos se trataron de obviar incluyendo sólo a verdaderas cirugías intencionadas del apéndice, con punto de McBurney positivo y todo el cortejo signo/sintomatológico presente del mal; pero también pudiera haberse considerado indebidamente algún caso. Sin embargo, con todo, creemos que no serían tantas las ocurrencias como para hacer descender importantemente el valor de la χ^2 cuadrada.

Otro sesgo que debe considerarse es que cierta cantidad de los entrevistados fue médico, pasante de medicina o estudiante, y es posible que esto centrara la atención hacia quiénes de sus familiares fueron sometidos a apendicectomía y quiénes no. Cabría la posibilidad de que por el tipo de ocupación se sesgara un poco el resultado, aunque tampoco se consideró de peso mayor. Desde luego, el diseño correcto de investigación debería incluir sólo a sujetos cuyas piezas quirúrgicas hubiesen sido sometidas al escrutinio del estudio histopatológico, así que los resultados aquí encontrados los señalamos con las reservas del caso.

Con todo, la prueba de χ^2 cuadrada reveló que los casos de apendicitis tuvieron tendencia a concentrarse más en las familias donde había ocurrido (u ocurrió después) uno o más casos. El estudio parecería apuntar en el sentido que está descrito en la literatura, de que sí existe cierto factor genético en la apendicitis, tal como lo han señalado Baker, Basta y Shamis⁽²¹⁻²³⁾.

Este factor no es insólito. El fenómeno hereditario es un hecho incontrovertible. ¿Por qué no aceptar que heredamos de nuestros padres semejanzas internas, apéndices con luces cerradas o abiertas, con tal o cual diferente composición en su tejido linfoide, de mayor o menor longitud? Así, aunque en la etiología de la apendicitis deben de intervenir muchos factores (nutricionales, de hábitos de evacuación, etc.) no es despreciable la presunta carga genética que pudiera existir y en los que se inscriben los resultados de esta pesquisa.

En este estudio se apuntó que si ocho de 32 parientes de primer grado de un sujeto apendicectomizado fueron también apendicectomizados; el porcentaje correspondiente es de 25 %. Pero sería incorrecto asumir que éste podría ser el riesgo de recurrencia que pudiese extraerse después del análisis. Una mejor precisión debería de incluir quizás un centenar de casos *propósitos* con al menos un pariente de primer grado apendicectomizado. Aquí se ilustran dos árboles genealógicos donde hubo tres casos de sujetos, parientes de primer grado entre sí, apendicectomizados; pero esto podría ser algo poco común aunque es posible que en la memoria del cirujano que lee esto surjan varios recuerdos de familias así.

Para hacer más precisiones a los resultados de este estudio hacen falta, indudablemente, estudios más amplios. Sin embargo, resumiendo, podría decirse que los resultados de esta pesquisa apoyan la probable existencia de un cierto factor de naturaleza genética en la apendicitis, del tipo de herencia llamado multifactorial.

Comentarios

La apendicitis es una entidad sumamente frecuente. Puede representar, cuando se consideran sus porcentajes, un problema de salud pública, pues más de 2 % de la población (aparentemente) termina siendo apendicectomizada. Para hacer más precisiones sobre esta entidad hacen falta estudios epidemiológicos que indaguen su presencia en poblaciones de la tercera década de la vida, por ejemplo; y en sujetos en quienes se tenga la certeza de que el apéndice fue retirado porque se encontraba verdaderamente infectado. Esto plantea abordajes metodológicos de investigación diferentes a éste, más complejos pero más completos, que pudieran redituar resultados más confiables.

Pese a todo, podría apuntarse que parece existir una cierta tendencia, biológicamente apoyada por la diversidad genética de algunas de las enfermedades infecciosas que la medicina atiende, para que tengan un sustrato genético y una de éstas es la apendicitis.

Se concluye que los resultados de este estudio permiten reforzar la idea, expresada ya por los resultados de otros estudios, referentes a que la apendicitis puede tener una base genética. Esta conclusión cumpliría el objetivo general pro-

puesto. Asimismo, la posibilidad (máxima, pero que muy probablemente debe ser menor) de riesgo de repetición para un pariente de primer grado quien ha sido apendicectomizado, de que él también lo sea, es de 25 %. Sin embargo, la muestra ha sido pequeña para extraer esta conclusión, que tal vez, si se hiciese un estudio más grande, diese porcentajes menores. Esta conclusión cumpliría (parcialmente) el objetivo específico propuesto.

Referencias

1. Silen W. Acute appendicitis. In: Harrison's principles of internal medicine. 13th ed. Ed McGraw Hill; 1994: p. 1433-5.
2. Vargas Domínguez A, Ortega León LH, Miranda Fraga P. Utilidad de la clínica en el diagnóstico de apendicitis. 1995; 63: 93-6.
3. Martínez-De Jesús FR, Gallardo Hernández R, Morales Guzmán M, Pérez Moralez A. Retardo en la hospitalización, el diagnóstico y la intervención quirúrgica de la apendicitis aguda. Rev Gastroenterol Mex 1995; 60: 17-21.
4. Baeza Herrera C, Guido Ramírez O, González Galicia JA, Rojas Aro E. Apendicitis en niños menores de tres años. Rev Gastroenterol Mex 1994; 59-3.
5. García-Murray OJ, García-Murray E, García-Pérez O, López Zendejas G, Vazquez del Mercado CR. Evaluación de 100 apendicectomías en un hospital pediátrico privado. Rev Mex Pericul y Pediatr 1997; 25: 32-6.
6. García-García D, Hernández-Suárez JF. Apendicitis aguda perforada: signos radiológicos. Rev Mex Radiol 1995; 49: 139-41.
7. Ortega León LH, Vargas Domínguez A, Miranda Fraga P. Complicaciones locales de la apendicitis. Rev Gastroenterol Mex 1994; 59.
8. Eriksson S, Josephson T, Styrud J. A high degree of accuracy is possible in the diagnosis of appendicitis. Laboratory test, ultrasonography and computerized tomography are of great value. Lakartidningen 1999; 96: 3058-61.
9. Hee P, Viktrup L. The diagnosis of appendicitis during pregnancy and maternal and fetal: outcome after appendectomy. Int J Gynaecol Obstet 1999; 65: 129:35
10. Di Sebastiano P, Kink T, di Mola FF, Weihe E, Innocenti P, Friess H, Buchler MW. Neuroimmune appendicitis. Lancet 1999; 354: 461-6.
11. Poon RT, Chu KW. Inflammatory cecal masses in patients presenting with appendicitis. World J Surg 1999; 7: 713-6 (discussion 716).
12. del Río Martín JV, Ashraf Memon M. La justificación para apendicectomía laparoscópica. Rev Esp Enferm Diag 1999; 91: 447-55.
13. Van Glaubeke E, Larroquet M, Khairouni A, Audry G, Grapin C, Gruner M. Treatment of appendiceal peritonitis in Jildren by video laparoscopic conversion. Jirurgie 1999; 124: 304-6.
14. Strassmann V, Velhote MC, Santoro S, Malzoni CE, Klajner S, Borges PC. Laparoscopy appendectomy with linear stapler. Rev Hosp Clin Fac Med Sao Paulo 1998; 53: 230-3.
15. Nguyen DB, Silen W, Hodin RA. Appendectomy in the pre- and post-laparoscopic eras. J Gastrointest Surg 1999; 3: 67-73.
16. Bergeron E, Richer B, Gharib R, Giard A. Appendicitis is a place for clinical judgement. Am J Surg 1999; 177: 460-2.
17. Fujiwara H, Nomura H, Yasuda K, Kuroda D, Kato M, Ohyanagi H. Acute appendicitis complicated with necrotizing soft tissue infections in the elderly: report of a case. Hepatogastroenterology 1999; 46: 1702-5.
18. Kraemer M, Kremer K, Leppert R, Yang Q, Ohmann C, Fuchs KH. Perforating appendicitis: is it a separate disease? Acute Abdominal Pain Study Group. Eur J Surg 1999; 165: 473-80.
19. Kokoska ER, Silen ML, Tracy TF Jr, Dillon PA, Kennedy DJ, Cradock TV, Weber TR. The impact of intraoperative culture on treatment and outcome in Jildren with perforated appendicitis. J Pediatr Surg 1999; 34: 749-53.

20. McKusick VA. Appendicitis. In: Mendelian inheritance in man. 12th ed. Baltimore, MA, USA: John Hopkins Medical University Press; 1998: p. 172.
21. Baker EGS. A family pedigree for appendicitis. *J Hered* 1937; 28: 187-91.
22. Basta N, Morton BE, Mulvihill JJ, Radovanovic A, Radojcic C, Marinkovic D. Inheritance of acute appendicitis: familial aggregation and evidence of polygenic transmission. *Am J Hum Genet* 1990; 46: 377-82.
23. Shamis I, Livshitz G, Feldman U. Ethnicity and familial factors in the etiology of acute appendicitis. *Am J Hum Biol* 1994; 6: 351-8.
24. Feinstein A. Retrospective case-control (Trohoc) studies. In: Clinical epidemiology. The architecture of clinical research. WB Saunders Company; 1985: pp. 533-6.