

## Original

# Efecto de dietas con bajo índice glucémico en hiperlipidémicos

A. Jiménez-Cruz, H. Seimandi-Mora y M. Bacardi-Gascon

Maestría en Nutrición. Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Baja California. México.

### Resumen

**Introducción:** Se ha descrito que con las dietas de bajo índice glucémico (IG) se mejora el control metabólico de los diabéticos y el perfil metabólico de los hiperlipidémicos. A pesar de que los hábitos alimentarios de los mexicanos incluyen alimentos de bajo IG no se han descrito el efecto de comidas de bajo IG en hiperlipidémicos mexicanos. El objetivo de este estudio es comparar los efectos de dos dietas con diferente IG en pacientes hiperlipidémicos utilizando alimentos de consumo frecuente en México y valorar su efecto sobre marcadores bioquímicos.

**Métodos:** Se diseñaron seis menús, tres con dieta de IG alto y tres con IG bajo. Participaron en el estudio ocho voluntarios hiperlipidémicos. Al inicio y al final de cada dieta se valoró el peso, la glucosa, el colesterol, los triglicéridos, LDL y HDL. Cada dieta se valoró durante tres semanas y entre el final de una prueba y el principio de la segunda los participantes consumieron la dieta usual. Durante los períodos de las dietas experimentales, los participantes realizaron registro de la dieta durante un día. Para comparar los datos bioquímicos basal y al finalizar cada período de tratamiento se realizó el t-test para muestras pareadas.

**Resultados:** Con la dieta de IG bajo se observó una reducción de 10% en los niveles de colesterol ( $P < 0,05$ ) y de 13,0% de LDL ( $P < 0,02$ ). Con la dieta de bajo IG, incluyendo alimentos de consumo usual en México, se observó una mejora en colesterol y LDL.

(*Nutr Hosp* 2003, 18:331-335)

Palabras clave: Dieta. Hiperlipidemia. Índice glucémico.

### Introducción

El consumo de azúcar refinada induce una respuesta rápida y elevada de insulina lo que estimula el almacenamiento de glucógeno en el hígado y músculos.

**Correspondencia:** Dr. A. Jiménez-Cruz

2399 Eastridge Loop  
Chula Vista, CA, USA  
Tel.: + 15 266 46 82 12 33  
e-mail: ajimenez@uabc.mx

Recibido: 22-I-2003.  
Aceptado: 3-VI-2003.

### EFFECT OF LOW GLYCEMIC INDEX DIET IN HYPERLIPIDEMIA

#### Abstract

**Introduction:** After consuming a low-glycemic-index (GI) diet, patients with diabetes and hyperlipidemia showed reduced biochemical markers of dyslipidemia. Despite Mexican food habits include low-GI foods; there have not been published results on the effect of low-GI diet on hyperlipidemia. The aim of this study was to compare the effects of a low and high glycemic index (GI), using cultural based foods to Mexicans on LDL, HDL, total cholesterol, and triacylglycerol.

**Methods:** Eight volunteer's individuals with hyperlipidemia participated in the study. Six diets were designed, three with low-GI and three with High-GI. The study design included 2 times 3-week treatment periods with a 4-week washout period between treatments. Biochemical data was obtained at the start and finish of each dietary period. Subjects completed 1-day dietary diaries during the first and third weeks of each of the treatment periods. Paired t-test was used to compare biochemical data at the baseline and after the dietary treatment periods.

**Results:** At the end of the study periods, total cholesterol ( $P < 0.05$ ) and LDL ( $< 0.02$ ) were improved significantly by 10 and 13% respectively. A low GI diet containing Mexican foods during three week period may help to improve LDL and total cholesterol in individuals with hyperlipidemia.

(*Nutr Hosp* 2003, 18:331-335)

Keywords: Diet. Glycemic index. Hyperlipidemia.

El consumo de azúcar refinada también aumenta los depósitos de grasas, principalmente en el abdomen y tejido subcutáneo, lo que aumenta el riesgo de obesidad. Asimismo, la hiperinsulinemia aumenta la lipogénesis hepática, especialmente basada en los triglicéridos, y se reduce al minimizar las elevaciones de glucosa e insulina posprandial<sup>1</sup>. Los hidratos de carbono complejos que tienen menor respuesta glucémica previenen o disminuyen la obesidad por su efecto benéfico sobre los niveles de triglicéridos y colesterol<sup>2</sup>. Diversos estudios han demostrado el efecto positivo de las dietas con bajo índice glucémico

(IG) sobre los lípidos en hiperlipidémicos y diabéticos<sup>1-5</sup>. Aunque su recomendación para uso en la clínica ha sido controvertido<sup>6-9</sup>. El comité de expertos en nutrición de la OMS y la FAO recomendó que el IG se deba considerar al comparar alimentos dentro del mismo grupo<sup>10</sup>. Asimismo, el grupo de nutrición de la Asociación Europea para el estudio de diabetes señala que los alimentos con bajo IG deben sustituir a los alimentos con alto IG. Sin embargo, la asociación americana de diabetes<sup>11</sup> omite proponer la utilización del IG en el tratamiento nutricional. Diversos estudios prospectivos sugieren que una dieta con alta carga glucémica de carbohidratos refinados aumenta el riesgo de enfermedad coronaria<sup>12-15</sup>. En estudios realizados en individuos con diabetes tipo 2, se ha observado que después de tres semanas de dietas con bajo IG, basados en alto consumo de judías secas<sup>16</sup>, una reducción en LDL y colesterol total, y en periodos con dietas de bajo IG durante seis semanas<sup>17</sup> una mejoría en el peso y en la hemoglobina glucosilada.

El concepto de IG fue introducido por Jenkins en 1981<sup>18</sup>. El IG y la carga glucémica (CG) se han propuesto como un método para enumerar los alimentos en base al aumento posprandial de glucemia, que se produce al dar una cantidad determinada de carbohidratos<sup>12, 18</sup>. El IG representa la calidad de los carbohidratos, mientras que la CG representa la calidad y la cantidad y puede ser interpretada como una medida de demanda de insulina dietética<sup>3</sup>. El IG se define como el área bajo la curva posprandial de la glucosa plasmática de un alimento expresada como porcentaje de un alimento de referencia que casi siempre es glucosa. El IG expresa la rapidez mediante la cual los carbohidratos son absorbidos, digeridos y llegan al flujo sanguíneo<sup>19</sup>. Sin embargo, la respuesta a comidas combinadas no ha sido consistente<sup>7, 19, 20</sup>; se han descrito asociaciones significativas entre el IG y/o la CG y la diabetes<sup>12, 21</sup>. En el estudio prospectivo denominado: Health Professionals Studies<sup>13</sup>, se observó una asociación inversa entre el IG y el riesgo de desarrollar diabetes.

Aunque la mayoría de estudios se han enfocado a evaluar el efecto de IG en pacientes con diabetes, menos trabajos han observado efecto en hiperlipidémicos. Jenkins, en 1987, observó que diferentes subtipos de hiperlipidémicos respondían de manera diferente a la dieta con bajo IG<sup>1</sup>. Los pacientes con hipercolesterolemia tipo IIa no demostraban cambios significativos; sin embargo, los pacientes con la variedad IIb y IV presentaron reducción de triacylglycerol, LDL colesterol y colesterol total<sup>1</sup>.

En países en vías de desarrollo existe una tendencia a consumir cada vez más alimentos con alto IG, como los cereales, pan blanco, papas, comidas instantáneas, "snacks", etc., que tienen índice glucémico alto.

El objetivo de este estudio es comparar el efecto de dietas de consumo usual en México, con diferente IG, durante un periodo de tres semanas, sobre los niveles de lípidos en individuos con hiperlipidemia.

## Metodología

### Tipo de estudio

Cuasi experimental, que valora el efecto de dos dietas. Las tres primeras semanas con alimentos de índice glucémico alto, un periodo intermedio con dieta usual, y las tres últimas semanas con alimentos de índice glucémico bajo (tabla I). El proyecto fue aprobado por el comité de ética del Instituto de Nutrición de Baja California. Todos los participantes firmaron una carta de consentimiento. El estudio se realizó en el centro universitario médico asistencial y de investigación de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Baja California en Tijuana.

### Población

Se estudio a un grupo de ocho voluntarios, mayores de 18 años con niveles de colesterol o triglicéridos iguales o superiores a 200 mg/dl. Se excluyeron a todos los individuos bajo tratamiento médico que pueda modificar los niveles de lípidos sanguíneos; con enfermedades sistémicas como: hipertensión arterial, diabetes, insuficiencia renal, insuficiencia cardíaca, síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), cáncer, etc.; embarazadas y con alcoholismo.

### Dieta y fórmula para calcular el IG de las dietas experimentales

Se diseñaron dietas (tabla I) de consumo usual en México, con alimentos que contenían diferente IG usando como referencia las tablas internacionales de IG<sup>22</sup> y como alimento de referencia la glucosa.

El cálculo del IG de cada dieta se realizó de acuerdo a la fórmula descrita por Wolever y Jenkins (1986) para alimentos individuales y para alimentos mixtos<sup>23</sup>. La dieta de bajo alto IG tenía en promedio un IG de 62 y la dieta de bajo IG de 51. Los alimentos más frecuentes de la dieta de alto IG, fueron el pan, la patata, los cereales y el plátano. Los alimentos de la dieta B, con IG bajo, fueron las judías secas (frijoles) y tortitas de maíz (tortillas), y la naranja.

**Tabla I**  
Características de los ocho participantes

Variables	Promedio	Rango	DS
Edad (años) .....	41	30-64	11,25
Peso (kg) .....	76,8	53-110	19,00
Talla (cm) .....	163	155-175	8,64
IMC (m <sup>2</sup> ) .....	28,5	21-36	5,45
Glucemia en ayunas ....	100	90-118	9,05
Colesterol .....	249,5	203-296	29,06
LDL .....	53,8	40-91	15,54
HDL .....	168	130-212	27,20
Triglicéridos .....	155	92-313	71,51

DS: desviación estándar.

### Análisis bioquímico

Se tomaron muestras sanguíneas al inicio y al final de cada dieta experimental y se analizaron glucosa, colesterol total, HDL y triglicéridos. Para la determinación de glucosa en suero, se utilizó el método de glucosa oxidasa basado en la modificación de Trindler. Para la valoración de colesterol, triglicéridos y HDL, se utilizó el método enzimático. El colesterol de baja densidad se calculó usando la fórmula de Friedwald<sup>24</sup>.

### Análisis estadístico

Se realizó comparación de los niveles de colesterol, triglicéridos, LAD y LBD mediante t-test para muestras pareadas.

## Resultados

### Características de los pacientes

Las características de los participantes se presentan en la tabla I. Los ocho sujetos siguieron los dos períodos de tres semanas cada uno y cuatro semanas de "washout" (dieta usual). La mayoría de participantes consideró que no tuvo problemas en el seguimiento de la dieta. Dos participantes se quejaron de flatulencia durante la dieta de IG bajo; sin embargo, no ocasionó problemas que les impidieran continuar con la dieta. La queja de uno de los participantes fue la dificultad de mantener la dieta durante eventos especiales o compromisos sociales. De acuerdo a las referencias de los pacientes, no tuvieron necesidad de cambiar el estilo de vida durante los tres períodos del estudio.

### Dietas

En la tabla II se presenta el promedio de consumo de energía, carbohidratos, proteínas, lípidos, ácidos

<b>Tabla II</b> <i>Distribución de promedios de las dietas (A) y (B)</i>		
	<i>Dieta (A)</i>	<i>Dieta (B)</i>
Calorías.....	1.918	2.021
Carbohidratos (g).....	272	268
% .....	55	52
Proteínas (g) .....	88	99
% .....	18	19
Grasas (g) .....	60	68
% .....	27	29
AGS (g) .....	18	22
AGP (g) .....	10	17
AGM (g) .....	24	29
Colesterol (mg).....	171	171
IG.....	62	51*

\* P < 0,01.

grasos saturados, ácidos grasos monoinsaturados y fibra. No se observó diferencia estadísticamente significativa en el consumo de los principales macronutrientes. La diferencia de IG entre ambas dietas fue de 18% (P < 0,01) (tabla III).

### Antropometría y valores bioquímicos

El promedio el peso de los participantes al inicio de la dieta de alto IG fue de  $77 \pm 19$  y al final de  $76 \pm 19$  (P < 0,03); al inicio de la dieta de bajo IG el peso fue de  $76 \pm 20$  y al final de  $75 \pm 19$  (P < 0,07). En la tabla III se presentan los valores iniciales y finales de glucosa, colesterol, triglicéridos, LDL Y HDL. Se observó una reducción de 10% (P < 0,05) de colesterol total y de 18% de lipoproteína de baja densidad (P < 0,02) después de la dieta de bajo IG. Además se observó reducción de 46% de triglicéridos, aumento de 1% de HDL; sin embargo, no alcanzó significancia estadística a un nivel de P < 0,05. A pesar de una disminución en el peso (P < 0,03) después de la dieta de alto IG, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en todas las variables bioquímicas.

## Discusión

Los resultados del presente estudio demuestran que dietas de bajo IG, con alimentos de uso común en México disminuyen el colesterol total y las lipoproteínas de baja densidad en un período de tres semanas. Con las dietas de alto IG, a pesar de una reducción de peso, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en el perfil metabólico. En 1986, Wolever y cols.<sup>23</sup> observaron la reducción de colesterol y triglicéridos con dietas de bajo IG en 12 pacientes hiperlipidémicos, en quienes observaron una reducción significativa en los niveles de colesterol total, LDL y triglicéridos. En el primer estudio de Jenkins y Wolever<sup>1</sup> se observó una reducción significativa de lípidos séricos cuando se redujo el índice glucémico en la dieta; además, se observó que fue más efectivo sobre la reducción de triglicéridos. En nuestro estudio, con dieta de bajo IG se observó una reducción de 54% de triglicéridos; sin embargo, debido a la variabilidad de los datos iniciales, los resultados no tuvieron significancia estadística.

Los estudios que directamente analizan el efecto de dietas con bajo índice glucémico exclusivamente en pacientes hiperlipidémicos son limitados. El estudio de mujeres enfermeras en los Estados Unidos reportó que dietas con alto IG aumentaron el riesgo de enfermedad cardiovascular<sup>13</sup>. En un estudio realizado en adultos británicos de 1986 a 1987, en el que participaron 1.420 individuos de ambos sexos, con hiperlipidemias, se observó una relación negativa entre los niveles de HDL y el consumo de alimentos con alto IG, lo que predispone a mayor riesgo de enfermedad cardiovascular. Sin embargo, no se observó asociación estadísticamente significativa de LDL o colesterol total

**Tabla III**  
Valores bioquímicos antes y después de las dietas de estudio

Variables	Dieta de alto índice Inicio-Final		Porcentaje de cambio	Dieta de bajo índice Inicio-Final		Porcentaje de cambio
Glucosa (mg/dl)	100 ± 9	101 ± 17	1 ↑	96 ± 14	98 ± 11	1 ↑
Colesterol total (mg/dl)	262 ± 21	245 ± 33	10 ↓	254 ± 33	231 ± 26 <sup>(1)</sup>	10 ↓
LBD (mg/dl)	179 ± 28	159 ± 38	21 ↓	182 ± 35	150 ± 28 <sup>(2)</sup>	18 ↓
LAD (mg/dl)	54 ± 16	50 ± 16	7 ↓	51 ± 15	52 ± 12	1 ↑
Triglicéridos (mg/dl)	167 ± 71	180 ± 99	8 ↑	283 ± 354	153 ± 63	46 ↓
Peso (kg)	77 ± 19	76 ± 19 <sup>(3)</sup>	1 ↓	76 ± 20	75 ± 19	1 ↓

± Desviación estándar; <sup>(1)</sup> p = 0,05; <sup>(2)</sup> p = 0,02; <sup>(3)</sup> p = 0,03.

con el consumo de alimentos de diferente IG<sup>25</sup>. En ese estudio, el IG de la dieta fue la única variable que significativamente se relacionó con la concentración sérica de HDL. En nuestro estudio, aunque se observó aumento de las HDL con la dieta de bajo IG, no fue estadísticamente significativo. Sin embargo, con la dieta de alto IG se observó una reducción de 7,5% de las HDL, aunque tampoco tuvieron significancia estadística. También se ha observado que el uso de CHO diferentes a los usados por sociedades occidentales usualmente producen respuestas de glucosa sanguínea bajas, por ejemplo alimentos de bajo IG en 12 hiperlipidémicos resultó en una reducción de los niveles de insulina, lo que disminuyó el estímulo de lipogénesis hepática y lípidos sanguíneos<sup>26</sup>.

El concepto de IG es de gran importancia en diabéticos y en no diabéticos por su efecto hiperinsulinémicos, y este es factor de riesgo para arteriosclerosis. Estudios epidemiológicos prospectivos han corroborado la hipótesis de que dietas altas en carbohidratos, en fibra y en carbohidratos complejos tienen efecto protector contra enfermedad cardiovascular y diabetes tipo 2<sup>26</sup>. Salmeron y cols.<sup>14</sup> en una cohorte de 42.759 hombres entre 40 y 75 años, sin diabetes o enfermedad cardiovascular, observaron que después de ajustar a la población por edad, IMC, tabaquismo, actividad física, historia familiar de diabetes, consumo de alcohol, consumo de fibra y consumo total de calorías, el IG de la dieta se asoció positivamente con el riesgo de diabetes tipo 2.

Sin embargo, se requieren estudios de intervención a largo plazo para valorar los efectos de dichas dietas sobre las concentraciones de HDL, triglicéridos y otros factores de riesgo cardiovascular en diferentes grupos étnicos.

Los resultados de este estudio son consistentes con otros estudios que han demostrado el efecto benéfico de dietas de bajo IG en hiperlipidemias. Sin embargo, se requieren estudios a largo plazo para valorar si el efecto sobre lípidos, observado después de tres semanas se mantiene después de periodos más largos, y si existen efectos adicionales como la pérdida de peso. En países como México, donde los recursos para la salud son muy limitados, donde la población menos

favorecida económicamente no tiene acceso a servicios de salud y medicamentos, es de particular importancia, por que estrategias nutricionales y dietéticas efectivas pueden ser de bajo costo, fácilmente accesibles, y pueden producir mayor adherencia al tratamiento.

Se recomienda analizar y promover las recomendaciones sobre IG de comités de nutrición de organismos internacionales como la FAO/WHO y el comité europeo de para el estudio de diabetes<sup>10,28</sup>, quienes sugieren la utilización del IG como instrumento para el control de la diabetes y la prevención de enfermedades cardiovasculares. La sustitución de alimentos de alto IG por alimentos con bajo IG de consumo usual en México y otros países en vías de desarrollo puede ser un instrumento valioso para el manejo de pacientes con hiperlipidemias.

## Referencias

- Jenkins DJ, Wolever TM, Kalmusky J, Guidici S, Giordano C, Patten R y cols.: Low-glycemic index diet in hyperlipidemia: use of traditional starchy foods. *Am J Clin Nutr*, 1987, 46:66-71.
- Bouche C, Rizkalla SW, Lo J, Vidal H, Veronese A, Pacer N y cols.: Five-week, low-glycemic index diet decreases total fat mass and improves plasma lipid profile in moderately overweight nondiabetic men. *Diabetes Care*, 2002, 25:822-828.
- Jenkins DJA, Kendall CWC, Augustin LSA, Franceschi S, Hamidi M, Marchie A y cols.: Glycemic index: overview of implications in health and disease. *Am J Clin Nutr*, 2002, 76:266S-273S.
- Stevens J, Ahn K, Juhaeri, Houston D, Steffan L y Couper D: Dietary fiber intake and glycemic index and incidence of diabetes in African-American and white adults. *Diabetes Care*, 2002, 25(10):1715-1721.
- Heillbronn LK, Noatkes M, Clifton PM: The effect of high-and oow-glycemic index energy restricted diets on plasma lipid and glucose profiles in type 2 diabetic subjects with varying glycemic control. *J Am Coll Nutr*, 2002, 21(2):120-127.
- Ludwig DS, Eckel RH: The glycemic index at 20 y. *Am J Clin Nutr*, 2002, 76:264S-265S.
- Pi-Sunyer FX: Glycemic index and disease. *Am J Clin Nutr*, 2002, 76:290S-298S.
- Wolever TMS: American diabetes association evidence-based nutrition principles and recommendations are not based on evidence. *Diabetes Care*, 2001, 2002, 25(7):1263-1264.
- Franz MJ: Response to Wolever. *Diabetes Care*, 2001; 2002, 25(7):1264.
- Food and Agriculture Organization/World Health Organiza-

- tion: Carbohydrates in Human Nutrition: Report of a Joint FAO/WHO Report Rome, FAO Food and Nutrition Paper 66, 1998.
11. American Diabetes Association: Clinical Practice Recommendations 2002. *Diabetes Care*, 2002, 25 (Suppl. 1):S1-S147.
  12. Liu S, Willet WC, Stampfer MJ, Hu FB, Franz M, Sampson L y cols.: A prospective study of dietary glycemic load, carbohydrate intake, and risk of coronary heart disease in US women. *Am J Clin Nutr*, 2000, 71:1455-1461.
  13. Liu S, Manson JE, Stampfer MJ, Holmes MD, Hu FB, Hankinson SE y cols.: Dietary glycemic load assessed by food-frequency questionnaire in relation to plasma high-density-lipoprotein cerols in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr*, 2001, 73:560-566.
  14. Salmeron J, Ascherio A, Rimm EB, Colditz GA, Spiegelman D, Jenkins DJ y cols.: Dietary fiber, glycemic load, and risk of NIDDM in men. *Diabetes Care*, 1997, 20:545-550.
  15. Leeds AR: Glycemic index and heart disease. *Am J Clin Nutr*, 2002, 76:286S-289S.
  16. Jiménez-Cruz A, Turnbull WH, Bacardi-Gascon M y Rosales-Garay P: A low glycemic index Mexican style diet improves dyslipidemia in individuals with type 2 diabetes. (En prensa).
  17. Bacardi-Gascon M, Jiménez-Cruz A, Turnbull WH, Rosales-Garay P y Severino I: A glycemic index flexible diet improves metabolic parameters in Mexican obese type 2 diabetics during a six week period. *Int J Obesity*, 2002 (Suppl 1):S46.
  18. Jenkins DJ, Wolever TM, Taylor RH, Barker H, Fielden H, Baldwin JM y cols.: Glycemic index of foods: a physiological basis for carbohydrate exchange. *Am J Clin Nutr*, 1981, 34:362-366.
  19. Hollenbeck CB, Coulston AM y Reaven GM: Glycemic effects of carbohydrates: a different perspective. *Diabetes Care*, 1986, 9:641-647.
  20. Willet W, Manson J y Liu S: Glycemic index, glycemic load, and risk of type 2 diabetes. *Am J Clin Nutr*, 2002, 76:274S-280S.
  21. Wolever TM, Nuttal FQ, Lee R, Wong GS, Josse RG, Csima A y cols.: Prediction of the relative blood glucose response of mixed meals using the white bread glycemic index. *Diabetes Care*, 1985, 8:418-428.
  22. Foster-Powell K y Brand Miller J: International table of glycemic index and glycemic load values: 2002. 2002; *Am J Clin Nutr*, 1995, 62:871S-893S.
  23. Wolever TM y Jenkins JD: The use of the glycemic index in predicting the blood glucose response to mixed meals. *Am J Clin Nutr*, 1986: 167-172.
  24. Friedwald WT, Levy RI y Frederickson DS: Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without the use of preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*, 1972, 13:499-502.
  25. Frost G, Leeds A, Doré CS, Madeiros S, Brading S y Dornhorst A: Glycaemic index as a determinant of serum HDL-cholesterol concentration. *Lancet*, 1999, 353:1045-1048.
  26. Jenkins JD, Wolever TM, Kalinsky J, Guidici S, Giordano C, Wong GS y cols.: Low glycemic index carbohydrate foods in the management of hyperlipidemia. *The American Journal of Clinical Nutrition* 1985, 42:604-617.
  27. Marshall JA, Hamman RF y Backster J: High fat, low carbohydrates diets and the etiology of non-insulin dependant diabetes: The San Luis Valley diabetes study. *Am J Epidemiol*, 1991, 134:590-603.
  28. The Diabetes and Nutrition Study Group (DNSG) of the European Association for the Study of Diabetes (EASD) 1999: Recommendations for the nutritional management of patients with diabetes mellitus. *Eur J Clin Nutr*, 2000, 54:353-355.
  29. Murray CJ y López AD: Mortality by cause for eight regions of the world: global burden of disease study. *Lancet*, 1997, 394 (9061):1268-1276.