**Vitamina D associada à resitência insulínica**

**RESUMO**

A vitamina D, obtida por forma endógena ou exógena, possui funções importantes no metabolismo da glicose. Sua deficiência está relacionada á resistência insulínica, uma vez que essa vitamina atua diretamente nas células β – pancreáticas facilitando a secreção de insulina. Nesta revisão, realizou-se um levantamento bibliográfico, mediante consulta nos bancos de dados PubMed, SciELO e BVS, objetivando comprovar a relação da deficiência de vitamina D com a resistência à insulina.

Palavras-chave: Resistência à insulina. Deficiência de vitaminas. Vitamina D. Insulina. Doenças metabólicas. Diabetes melito tipo 2.

1 **INTRODUÇÃO**

A expressão resistência insulínica pode ser definida como o comprometimento da remoção da glicose mediada pela insulina em todo corpo. Já clinicamente, é a incapacidade de uma quantidade conhecida de insulina exógena ou endógena de elevar a captação e a utilização de glicose em um indivíduo da maneira como ocorre na população normal. Recentemente, foi proposta uma nova associação entre a resistência à insulina e a deficiência de vitamina D (CHIH-CHIEN, 2012; AFSANEH, 2013; BINKLEY, 2013).

A vitamina D é um hormônio fundamental para a manutenção da saúde do esqueleto humano e desempenho muscular. Quando produzida em animais, é chamada colecalciferol (vitamina D3) e, se é de origem vegetal, é denominada ergocalciferol (vitamina D2). Para que a vitamina D3 se torne ativa, é necessário que ela seja metabolizada no fígado e nos rins. Portanto, esses órgãos precisam estar em pleno funcionamento para que a vitamina D possa exercer adequadamente suas funções. Quando não utilizada,ela fica armazenada no tecido gorduroso (CHIH-CHIEN, 2012; BINKLEY, 2013).

A principal ação da vitamina D é estimular a absorção de cálcio e fósforo (matérias-primas para a formação do osso) no intestino delgado, mas ela também diminui a excreção desses minerais pelos rins e aumenta a mineralização óssea (CHIH-CHIEN, 2012; BARCHETTA, 2013; BINKLEY, 2013).

Além disso, evidências recentes sugerem que a vitamina D melhora a sensibilidade à insulina e ou a secreção dela, protegendo o indivíduo de desordens como o diabetes melito e a síndrome metabólica, doenças que possuem alta prevalência na população mundial. Por isso, este estudo coloca especial ênfase para as evidências epidemiológicas e possíveis mecanismos desses efeitos. Avalia-se também as estratégias terapêuticas que envolvem a vitamina D para o tratamento da resistência à insulina, objetivando a diminuição da incidência de doenças decorrentes desse distúrbio (CHIH-CHIEN, 2012; AFSANEH, 2013; BINKLEY, 2013). Realizou-se revisão da literatura científica, por meio das bases de dados PubMed, SciELO e Medline, selecionando estudos que abordassem a associação entre resistência insulínica e deficiência de vitamina D. A busca dos artigos foi realizada utilizando as palavras chaves "vitamin D", "insulin resitance", "vitamin D AND insulin resistance”, “vitamina D e diabetes”.

A seleção inicial dos artigos foi realizada com base nos seus títulos e resumos, analisando-se os textos completos daqueles relacionados ao assunto. Um total de 32 publicações foi recuperado nesta busca, sendo artigos publicados nos últimos 10 anos, excluindo-se as repetições e se selecionando, para a exposição, aquelas consideradas mais relevantes pelos autores desta revisão.

2 **REVISÃO DE LITERATURA**

### A vitamina D é obtida a partir da exposição à luz solar, dieta e suplementos dietéticos. Quando a pele é exposta à radiação solar ultravioleta B, o 7- dihidrocolesterol é convertido em pré-vitamina D3, que é rapidamente convertida em vitamina D3 (colecalciferol). A vitamina D obtida a partir da pele e dieta é transportada no sangue para o fígado por meio da proteína de ligação da vitamina D, conhecida, em inglês, como Vitamin D bindingprotein (DBP), uma proteína de ligação específica para a vitamina D e os seus metabolitos no soro. No fígado, a vitamina D é metabolizada pela enzima P450, tranformando-se de 25- hidroxilase em 25-hidroxivitamina D, que é o principal metabólito utilizado para determinar a concentração de vitamina D no organismo do paciente em exames laboratoriais. A produção de 25- hidroxivitamina D é regulada pelo cálcio, pelos níveis de fósforo, pelo hormônio das paratireoides no plasma e pelo fator de crescimento de fibroblastos 23 (FGF -23) (COUTINHO, 1981; LENSMEYER, 2011; BINKLEY, 2013).

A deficiência de vitamina D tem sido associada a problemas de saúde, incluindo vários tipos de câncer e doenças autoimunes e metabólicas, como as diabetes melito tipo 1 e tipo 2. A associação da deficiência de vitamina D a distúrbios cardiometabólicos, doenças cardiovasculares, diabetes e síndrome metabólica foi revista recentemente em uma meta- análise realizada por Chih-Chien, (2012) de estudos publicados de forma independente. Os resultados mostraram uma redução significativa no risco de desenvolver diabetes, doenças cardiovasculares e síndrome metabólica associada em pacientes que apresentavam elevada concentração de 25 hidroxivitamina D no plasma (ENJU, 2009; LENSMEYER, 2011; CHIH-CHIEN, 2012).

3 **DISCUSSÃO**

Vários estudos indicaram uma relação entre os níveis de vitamina D e o risco de diabetes ou intolerância à glicose. A vitamina D é conhecida por desempenhar um papel importante no organismo, por ser um fator de risco no desenvolvimento de resistência à insulina e à patogênese da diabetes melito tipo 2 e,ainda,por afetar a sensibilidade à insulina ou a função das células β pancreáticas (produtoras de insulina) (HOLICK, 2007). A 25-hidroxivitamina D desempenha um papel importante na homeostase da glicose por meio de mecanismos diferentes (ENJU, 2009).

Num estudo caso-controle prospectivo realizado por Laway (2013) em um hospital terciário no norte da Índia, foram estudados 72 novos casos que detectaram o aparecimento de diabetes em jovens (idade menor que 25 anos), e um grupo controle constituído de pacientes saudáveis. A deficiência de vitamina D (em inglês, conhecida como Vitamin D Deficience - VDD) foi observada em 58,5% do grupo controle, saudáveis, ​​na faixa menor de 25 anos, e 39% tinham 25-hidroxivitamina D (25(OH) D) no intervalo de 5-10 ng / ml, indicando VDD moderado. A elevada percentagem de VDD é explicada pela diminuição da exposição ao sol atribuída à baixa incidência de radiação solar, aos meses de inverno e à diminuição de atividades ao ar livre; e ainda pela diminuição da consciência sobre a fortificação com vitamina D (suplementação). Nesse estudo, no norte da índia, revelou-se uma maior porcentagem de pessoas normais (58,5%) com deficiência de vitamina D. Embora a exposição da população ao sol seja boa na Índia, que é limitada a apenas alguns meses, a fortificação de alimentos com vitamina D não é rotina no país. O foco principal desse estudo foi avaliar o status da vitamina D em recém-diagnosticados diabetes juvenil-início e descobriu-se que a VDD foi encontrada em 94,4% das pessoas com diabetes, em comparação com 58,5% da idade e sexo correspondentes controles saudáveis. VDD foi mais prevalente em meninas (65%) em comparação com os meninos (52,4%) nos controles saudáveis, e essa diferença de gênero não foi observado no grupo de diabetes (LAWAY, 2013).

A deficiência de vitamina D é considerada uma pandemia em todas as faixas etárias em humanos. A alta prevalência de VDD foi vista em crianças normais e saudáveis ​​em diferentes idades. Vários estudos apontam a avaliação do status da vitamina D em novos casos de diabetes no grupo etário mais jovem (<25 anos) e em idade e controles pareados por sexo sem diabetes. Utilizando um valor de corte de vitamina D no soro de menos de 20 ng / mL, de alta prevalência de VDD foi observada em ambos os grupos de pessoas com ou sem diabetes (DAGA, 2012; JANG, 2013).

Vários mecanismos têm sido propostos para explicar os efeitos da vitamina D sobre a resistência à insulina, incluindo polimorfismos de genes e da função imunorreguladora da vitamina D na inflamação. A regulação do cálcio no soro por meio do paratormônio e da 25-hidroxivitamina D no seguimento de alterações de cálcio dietético e obesidade tem sido proposta para mediar os efeitos da vitamina D sobre a resistência à insulina. Há evidências de que a vitamina D pode estimular diretamente a secreção de insulina pancreática. Ela exerce seus efeitos por meio de receptores nucleares de vitamina D (KRONENBERG, 2010). Os efeitos estimulantes da vitamina D sobre a secreção de insulina só podem se manifestar quando os níveis de cálcio são adequados. A secreção de insulina é um processo dependente de cálcio e, portanto, alterações no fluxo de cálcio podem ter efeitos adversos sobre a função de secretora de células β (DAGA, 2012).

Vários estudos suportam um papel da vitamina D na função das células β pancreáticas por meio de efeitos diretos e indiretos. O efeito direto é o lugar onde a vitamina D se liga diretamente para o receptor de vitamina D de células β. O efeito indireto pode ser por meio de seu papel importante e bem reconhecido na regulação do cálcio extracelular e fluxo de cálcio através das células - β. A vitamina D pode ter um efeito benéfico sobre a melhoria da função das células- β pancreática, diminuindo a resistência à insulina, e na melhoria da inflamação sistêmica (JANG, 2013).

Existem vários mecanismos plausíveis pelos quais o status da vitamina D pode afetar a sensibilidade à insulina. Em primeiro lugar, concentrações reduzidas de vitamina D resultam em elevadas concentrações de paratormônio. O paratormônio, por sua vez, afeta a sensibilidade à insulina por meio da regulação das concentrações intracelulares de cálcio livres nas células alvo. Estudos têm mostrado que o aumento das concentrações de paratormônio foi associado à diminuição da tolerância à glicose e com a diminuição da sensibilidade à insulina. Em segundo lugar, a vitamina D pode desempenhar um papel na ação da insulina, estimulando a expressão do receptor da insulina e, assim, melhorando a capacidade de resposta da insulina para o transporte de glicose. Finalmente, a vitamina D possui um efeito modulador no sistema imunitário. Piores condições de vitamina D podem induzir uma resposta inflamatória mais elevada, a qual está associada com a resistência à insulina (ENJU, 2009; PHAM, 2015).

A vitamina D e o paratormônio também têm sido associados a uma variedade de ações incluindo o crescimento celular, diferenciação e apoptose. Ambos têm mostrado aumentar os níveis de cálcio intracelular e outras vias de sinalização rápida em uma variedade de tecidos, incluindo os adipócitos e células musculares. A vitamina D pode reduzir a adiposidade, melhorando, assim, a sensibilidade à insulina, indiretamente, por meio da melhoria da massa muscular e da redução do estado da vitamina D com o aumento da adiposidade. Além disso, a obesidade aumenta a fixação da vitamina D no tecido adiposo, uma vez que ela apresenta característica lipossolúvel, o que reduz seus níveis séricos (ENJU, 2009; BARCHETTA, 2013).

Já o efeito direto reside no fato de a vitamina D estimular diretamente a expressão de receptores de insulina e, assim, melhorar a capacidade de resposta desse hormônio para o transporte de glicose (ENJU, 2009; BARCHETTA, 2013).

Diabetes Melito tipo 2 (DM2) e deficiência de vitamina D têm fatores de risco em comum, tais como raça americana-africana, obesidade, envelhecimento e baixa atividade física (KRONENBERG, 2010). Além disso, existem associações de deficiência de vitamina D com doenças como osteoporose, doenças cardiovasculares e síndrome metabólica (THACHER, 2011; BARCHETTA, 2013).

Alguns estudos têm demonstrado uma relação entre a deficiência de vitamina D e DM2. Também alguns estudos têm demonstrado que a vitamina D pode desempenhar um papel funcional na tolerância a glicose através dos seus efeitos sobre a secreção de insulina e a sensibilidade à insulina (PARKER, 2010; LAWAY, 2013; PHAM, 2015).

Em comparação com grupos controles saudáveis, pacientes com DM2 têm significativamente menor concentração de 25(OH)D circulante, segundo o estudo “Vitamin D deficiency and youth-onset diabetes in North India” (LAWAY, 2013).

De acordo com o estudo “Vitamin D deficiency”, mediante 5677 indivíduos com intolerância à glicose mostrou-se que a suplementação com vitamina D, aumenta a sensibilidade à insulina em 54%. Outros estudos também descobriram que o aumento da ingestão de vitamina D melhora a sensibilidade à insulina (HOLICK, 2007).

No estudo “Plasma 25-Hydroxy vitamin D is associated with markers of the insulin resistant phenotype in non diabetic adults” de 2009, ENJU, mostrou-se que em 126 pessoas saudáveis existe uma relação direta entre a sensibilidade à insulina e 25(OH)D e que a deficiência de vitamina D tinha um efeito negativo sobre a função das células-β em células pancreáticas β. Um estudo de acompanhamento, através de 20 anos em 4.843 pacientes com diabetes melito tipo 2 mostrou que a ingestão de vitamina D foi associada com diminuição da prevalência do DM2 (ENJU, 2009).

Resultados dos estudos mostraram que a suplementação de vitamina D no soro diminuiu significativamente de Fasting Plasma Glucose (FPG), a insulina e homeostatic model assessment-insulin resistence (HOMA-IR) em pacientes com DM2 (ENJU, 2009).

Dados mostraram que os efeitos da vitamina D sobre a resistência à insulina foram significativos quando a concentração de vitamina D foi de 40-60 ng / ml (100-150 nmol/L), e na concentração de vitamina D, superior e inferior, não comprometeu na resistência à insulina (VON HURST, 2010)

Von Hurst (2010) mostra que a suplementação com vitamina D melhorou significativamente a sensibilidade à insulina e encontrou, ainda, uma relação inversa entre as concentrações de vitamina D e FPG, mas uma relação direta com a sensibilidade à insulina (VON HURST, 2010).

Existem alguns mecanismos para os efeitos da vitamina D: a presença de receptores de vitamina D nas células pancreáticas β, a vitamina D hidroxilase1α ativador é expressa em células pancreáticas β, a presença do elemento de resposta vitamina D no gene da insulina, a presença do receptor da vitamina D no músculo esquelético e o fato de que a 1,25(OH)D aumenta a transcrição dos genes dos receptores de insulina, e também suprime o gene da renina redução dos aumentos hiperglicêmicos induzidas nos níveis de renina no β células pancreáticas e no bloqueio da atividade da renina-angiotensina, tem sido proposto como um novo alvo para o tratamento da diabetes (VON HURST, 2010; HOSEINI, 2013).

Efeitos da vitamina D tais como as suas propriedades antiinflamatórias agem sobre a diabetes, e também no metabolismo do cálcio, do fósforo e na regulação do gene do receptor de insulina. A vitamina D também regula o receptor nuclear PPAR (receptor ativado proliferativo de peroxissoma), que tem um papel importante na sensibilidade à insulina. A deficiência de vitamina D está associada com o aumento da inflamação. A vitamina D atenua a expressão de citocinas pró-inflamatórias envolvidos na resistência à insulina, tais como as interleucinas, a IL- 1, IL -6 , TNF-a, também regula para baixo a NF -kB (fator nuclear) atividade (HOLICK, 2007; PARKER, 2010; CHIN-CHEN, 2012).

4 **CONCLUSÃO**

A vitamina D não é apenas um regulador do metabolismo ósseo e mineral, mas também um potente imunomodulador ligado a muitas das principais doenças humanas, incluindo a homeostase da glicose e resistência à insulina. Tem sido demonstrado que a deficiência de vitamina D afeta a secreção de insulina em seres humanos. Evidências sugerem o papel da vitamina D na patogênese da resistência à insulina, incluindo vários polimorfismos do gene vitamina D-relacionados e vias metabólicas e imuno-D relacionados com vitamina. Suplementação de vitamina D pode prever uma gestão adequada e atuar para melhorar a resistência à insulina.

Há evidências de que a vitamina D regula a função de células beta por qualquer influencia: a secreção de insulina, inibindo a apoptose de células-beta, ou por aumento da replicação delas.

Além disso, há uma necessidade de ensaios randomizados para avaliar os efeitos da suplementação de significativas doses de vitamina D na resistência à insulina.

**Vitamin D associated with insulin resistance**

**ABSTRACT**

Vitamin D, obtained by endogenous or exogenous form, has important functions in the metabolism of glucose. Its deficiency is associated with insulin resistance, since this vitamin acts directly on pancreatic β cells – facilitating insulin secretion. This review was made based on a bibliographical survey, by consulting PubMed, SciELO and VHL database, in order to prove the relationship between hypovitaminosis D and insulin resistance.

**Keywords:** Insulin resistance. Avitaminosis. Vitamin D. Insulin. Metabolic diseases. Type 2 diabetes mellitus.

**REFERÊNCIAS**

BARCHETTA, [I.;](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Barchetta%2520I%255Bauth%255D) DE BERNARDINIS, [M.;](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=De%2520Bernardinis%2520M%255Bauth%255D) CAPOCCIA, [D.;](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Capoccia%2520D%255Bauth%255D) BARONI, [M. G.;](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Baroni%2520MG%255Bauth%255D) FONTANA, [M.;](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Fontana%2520M%255Bauth%255D) FRAIOLI, [A.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Fraioli%2520A%255Bauth%255D); MORINI, [S.;](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Morini%2520S%255Bauth%255D) LEONETTI,F.; CAVALLO, [M. G.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Cavallo%2520MG%255Bauth%255D) Hypovitaminosis D is Independently Associated with Metabolic Syndrome in Obese Patients. Ed. Guoying Wang. PLoS ONE, Cmbridge, UK, v.8, n. 7, July.2013.

BINKLEY, N. Vitamin D: clinical measurement and use. Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions, Salt Lake city, USA, v.6, p.338-408, Oct-Dec.2006.

[CHIH-CHIEN, S.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Sung%2520CC%255Bauth%255D); [MIN-TSER, L.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Liao%2520MT%255Bauth%255D);  [KUO-CHENG, L.;](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Lu%2520KC%255Bauth%255D) [CHIA-CHAO, W](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Wu%2520CC%255Bauth%255D). Role of Vitamin D in Insulin Resistance. Journal of Biomedicine and Biotechnology, USA, v. 2012, Set. 2012.

COUTINHO, R. Noções de fisiologia da nutrição. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 1981.

DAGA, R.; LAWAY, B.; SHAH, Z.; MIR, S.; KOTWAL, S.; ZARGAR, A. High prevalence of vitamin D deficiency among newly diagnosed youth-onset diabetes melito in north India. Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**,**São Paulo, v.56, n.7,Oct. 2012.

[ENJU, L.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Liu%2520E%255Bauth%255D);  [JAMES, B. M.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Meigs%2520JB%255Bauth%255D);  [ANASTASSIOS G. P.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Pittas%2520AG%255Bauth%255D); [NICOLA M. M.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=McKeown%2520NM%255Bauth%255D); ECONOMOS, [C. D.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Economos%2520CD%255Bauth%255D) ; BOOTH, [S. L.;](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Booth%2520SL%255Bauth%255D) JACQUES [P. F.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Jacques%2520PF%255Bauth%255D)  Plasma 25- Hydroxyvitamin D is associated with markers of the insulin resistant phenotype in nondiabetic adults. The Journal of Nutrition, Bethesda/USA, p.329–334, Feb. 2009.

HOLICK MF.Vitamin D deficiency.New England Journal of Medicine, Massachussetts, v.7, p.266 – 81. Jul.2007

HOSEINI, [S. A.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Hoseini%2520SA%255Bauth%255D); AMINORROAYA, [A.;](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Aminorroaya%2520A%255Bauth%255D) [BIJANIRAJ](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Iraj%2520B%255Bauth%255D)[, A](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Aminorroaya%2520A%255Bauth%255D).; [AMINI](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Amini%2520M%255Bauth%255D), M. The effects of oral vitamin D on insulin resistance in pre-diabetic patients. Journal of Research in Medical Sciences, Isfahan, Iran, v.18, p.47-51, Jan.2013.

JANG, H.B.; LEE, H.J.; PARK, J.Y.; KANG, J.H.; SONG, J.; Association Between Serum Vitamin D and Metabolic Risk Factors in Korean Schoolgirls. Osong Public Health and Reserch perspect, Korea, v.4, p.179 – 86, Aug. 2013.

KRONENBERG, H. M. Williams Tratado de Endocrinologia. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

LAWAY, B. A. Vitamin D deficiency and youth-onset diabetes in North India. . Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia, São Paulo, v.57, n.2, Mar. 2013.

LENSMEYER, G.; BINKLEY, N. 25-Hydroxyvitamin D assays and their clinical utility. Vitamin D physiology, molecular biology and clinical applications, New York: . p. 383-99, Jan.2011.

PARKER, J.; HASHMI, O.; DUTTON, D.; ANGELIQUE M.; SAVERIO S.; NGIANGA-BAKWIN K.; AILEEN C.; OSCAR H. F. Levels of vitamin D and cardiometabolic disorders: systematic review and meta-analysis. Maturitas.  Local, v. 65, p. 225–236, Mar. 2010.

PHAM, T.M.; [EKWARU, J.P](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Ekwaru%2520JP%255BAuthor%255D&cauthor=true&cauthor_uid=26488726).; [LOEHR, S.A](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Loehr%2520SA%255BAuthor%255D&cauthor=true&cauthor_uid=26488726).; [VEUGELERS, P.J](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Veugelers%2520PJ%255BAuthor%255D&cauthor=true&cauthor_uid=26488726). The Relationship of Serum 25-Hydroxyvitamin D and Insulin Resistance among Nondiabetic Canadians: A Longitudinal Analysis of Participants of a Preventive Health Program. [PLoS One](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26488726), v. 10, Oct. 2015.

SILVA, R. C.; PARDINI, D. P.; KATER, C.E. Síndrome dos ovários policísticos, síndrome metabólica, risco cardiovascular e o papel dos agentes sensibilizadores da insulina. Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia, São Paulo, v.50 n.2, Apr. 2006.

TALAEI, A.; MOHAMADI, M.; ADGI, Z. The effect of vitamin D on insulin resistance in patients with type 2 diabetes. Diabetology & Metabolic Syndrome Journal,BioMed Central, London, UK, v.5, feb.2013.

THACHER, T.D.; CLARKE, B.L. Vitamin D insufficiency. Mayo Clinic Proceedings, v. 86, p.50-60, Jan.2011.

VON HURST, P.R.; STONEHOUSE, W.; COAD, J. Vitamin D supplementation reduces insulin resistance in South Asian women living in New Zealand who are insulin resistant and vitamin D deficient-a randomised, placebo-controlled trial. British Journal of Nutrition, v. 103, p. 549-555, Feb.2010.