

## COLESTEROL Y CÁNCER DE TIROIDES

---



El cáncer de tiroides de estirpe epitelial es la neoplasia más común del sistema endocrino y varios estudios epidemiológicos demuestran que aproximadamente 122.000 casos nuevos se diagnostican cada año en todo el mundo. Existen estudios en los que se demuestra una clara asociación entre la obesidad y el cáncer de tiroides. Sin embargo, existen pocos estudios en los que se hayan investigado los mecanismos celulares y moleculares responsables que permitan un mejor conocimiento de esta asociación.

✓ **OBJETIVO**

---

Mínimo: 1.500 €  
Óptimo: 15.000 €

✓ **UBICACIÓN**

---

Barcelona





## Descripción

El cáncer de tiroides de estirpe epitelial es la neoplasia más común del sistema endocrino y varios estudios epidemiológicos europeos han demostrado que aproximadamente 122.000 casos nuevos se diagnostican cada año en todo el mundo y más del 90% de ellos tienen su origen en la célula folicular de esta glándula.



## ¿Qué está ocurriendo?

El proceso de inflamación crónica (resistencia a la insulina/ síndrome metabólico) e inmunitario ha sido asociado en las últimas décadas como factor causal en el desarrollo y progresión de diferentes tipos de cáncer entre los que cabe destacar el cáncer endometrial y de mama en mujeres posmenopáusicas. Las incidencias de estos procesos y el cáncer epitelial de tiroides (CET) están en claro aumento y de forma paralela en nuestra sociedad. Los posibles vínculos entre ellos no son conocidos, sin embargo algunos informes indican que el tejido adiposo, a través de la secreción de ciertas adipocinas, como el metabolismo lipídico puede contribuir a la proliferación celular e indiferenciación del epitelio folicular tiroideo, especialmente en circunstancias de mayor susceptibilidad genética.

Estudios previos han demostrado una relación directa entre los niveles plasmáticos y tisulares de colesterol y lipoproteínas de baja densidad (LDL) y alta densidad (HDL), y la expresión positiva de receptores de estrógenos, con el proceso proliferativo celular en células normales y determinadas células neoplásicas (sobre todo, cáncer de mama). Que sepamos, no existen datos disponibles sobre dicha relación en el caso de tumores tiroideos de estirpe epitelial.

Nuestro grupo investigador se ha interesado en el conocimiento de esta interrelación. Es por ello, por lo que hemos realizado ya actividades preliminares en un estudio piloto que nos ha permitido la presentación de los resultados obtenidos, que a continuación se resumen, en diferentes foros de ámbito nacional e internacional de enfermedades tiroideas.

Resumen de los datos más relevantes de nuestra investigación:

1.- El análisis del perfil lipídico ha demostrado que los carcinomas pobremente diferenciados (CTPD) presentaban una menor concentración sérica de apolipoproteína (apoB) en comparación con los tumores benignos ( $0,58 \pm 0,02$  g/L,  $0,84 \pm 0,04$  g/L, respectivamente) o con tumores bien diferenciados (CDT) ( $0,82 \pm 0,04$  g/L). No se detectaron cambios significativos en la concentración



sérica de otras lipoproteínas y apolipoproteínas analizadas.

2.- El análisis de la expresión génica en tejido tumorales y en líneas celulares Nthy-ori (células sanas de tiroides humano) y CAL-62 (células anaplásicas de tiroides humano) de genes investigados relacionados con la metabolización intracelular del colesterol: ATP-bindingcassettetransporter ABCA1, ATP-bindingcassette sub-family G member 1 ABCG1, apolipoproteína A1, receptor de LDL (LDLR), receptor scavenger de tipo BI (SCARB1), citocromo-oxidasa P450 (CYP27A1), 25-hidroxicolesterol 7-alfa-hidroxilasa (CYP7B1) y 3-hidroximetilglutaril-coenzima A reductasa (HMGCR) demostró: A) aumento de la expresión del gen del receptor LDL (LDL-R) en los casos de CPDT, en comparación con los casos de CPT. B) baja regulación de la expresión génica del gen CYP7B1 en ambos subtipos de tumores. C) un patrón similar de expresión génica en la línea celular CAL-62 cuando se comparó con el tejido tumoral humano.

3.- El análisis de la expresión positiva de receptores de estrógenos mostró mayor porcentaje en adenomas (80%), en comparación con tumores malignos bien diferenciados (CPT, 61,5%; CFT 62,5%), superior en todos los casos al tejido tiroideo tiroideo normal (36%). Curiosamente, se observó que los tumores más agresivos (CTPD) eran en su mayoría negativos para la expresión de los recetores estrogénicos (sólo el 25% mostró una expresión positiva).

4.- La administración exógena de LDL en modelos celulares tiroideos mostró: A) aumento en la actividad proliferativa en ambas líneas celulares, Nthy-ori (13,7%) y CAL-62 (15,8%). B) una migración celular superior en CAL-62 respecto a Nthy-ori bajo las mismas condiciones, ya que la células CAL-62 presentó una migración de la monocapa aproximadamente en un 100% de cierre. No se observaron cambios morfológicos en ambas líneas celulares que indicaran mortalidad inducida por el tratamiento con LDL. C) la expresión génica mostró sobreexpresión del gen ABCA1 en CAL-62 (3,98 fold change, -fc-, en comparación con Nthy-ori, 2,14 fc). D) baja regulación del gen LDLR en CAL-62 en comparación con Nthy-ori (0,29 fc versus 0,51 fc). E) Tras la administración de LDL no observamos cambio significativo en la expresión génica de ABCA1 en ambas líneas celulares.



¿Por qué?

El cáncer de tiroides de estirpe epitelial es la neoplasia más común del sistema endocrino y varios estudios epidemiológicos europeos han demostrado que aproximadamente 122.000 casos nuevos se diagnostican cada año en todo el mundo y más del 90% de ellos tienen su origen en la célula folicular de esta glándula. Diferentes estudios epidemiológicos también han detectado un aumento significativo de su



incidencia en la última década en la mayoría de los países occidentales. Esta neoplasia se ha convertido en uno de los diez tipos de cáncer con mayor prevalencia, superando el cáncer de ovario, vejiga y páncreas. Existen estudios observacionales en los que se demuestra una clara asociación entre la obesidad y el cáncer de tiroides de estirpe epitelial. Sin embargo, existen pocos estudios en los que se hayan investigado los mecanismos celulares y moleculares responsables que permitan un mejor conocimiento de esta asociación. Teniendo en cuenta el aumento continuo en décadas recientes de la incidencia de estas dos importantes entidades clínicas, la investigación sobre los mecanismos patogénicos relacionados pueden ofrecer, aparte del avance del conocimiento, nuevas oportunidades terapéuticas con el beneficio consiguiente sobre los pacientes y su repercusión en la salud de la comunidad. Si los resultados resultan favorables a la hipótesis planteada, entre las recomendaciones de interés para la prevención o un mejor pronóstico del cáncer epitelial de tiroides se incluirán los preceptos de un régimen de vida más saludable, determinantes de la normalización del índice de masa corporal, así como la introducción potencial de nuevos fármacos.



## ¿Y ahora qué podemos hacer?

El **objetivo global** de nuestra propuesta es profundizar en el conocimiento del colesterol o alguno de sus metabolitos en el desarrollo y progresión tumoral tiroideos de estirpe epitelial.

Siendo nuestros **objetivos específicos**:

- 1.- Investigar el papel de las estatinas y otras terapias hipocolesterolemiantes en la progresión tumoral utilizando modelos celulares establecidos.
- 2.- Investigar en fase preclínica en modelo experimental robusto de cáncer de tiroides, la eficacia terapéutica de las estatinas y otras terapias hipocolesterolemiantes.



## PRECIPITANDO ¿A qué se dedicará tu aportación?

**Si alcanzamos la financiación mínima (1.500 €) podremos** completar los estudios *in vitro* en modelos celulares humanos con los estudios de la fase piloto preclínica, donde se podrán testar [fármacos](#) hipolipemiantes utilizados para disminuir el [colesterol](#) y los [triglicéridos](#) en sus distintas formas.



**Si nos acercamos a la financiación óptima (15.000€) podremos** generar un modelo experimental robusto de cáncer epitelial de tiroides de mal pronóstico que nos permitirá evaluar el efecto de dietas que contiene colesterol y ácidos grasos saturados. Determinándose el perfil lipídico, la funcionalidad de las LDL y HDL, la concentración de diversos esteroides implicados en los procesos de malignidad tumoral, así como la concentración intratumoral de lípidos y la expresión génica de los principales componentes implicados en la homeostasis lipídica.

Si los resultados de los estudios farmacológicos son favorables, permitirán plantear su equivalente en humanos con vistas a encontrar un nuevo abordaje terapéutico en estos pacientes.

**En caso de superar el objetivo óptimo de financiación (25.000€),** nos permitiría contratar un investigador en formación a tiempo parcial



### ¿Quieres saber más?

- 1 Asociación Española Contra el Cáncer (AECC)  
<https://www.aecc.es/es>
- 2 Asociación Española de Cáncer de Tiroides <https://www.aecat.net/>
- 3 Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM)  
<https://seom.org/>
- 4 Federación Española de Enfermedades Raras (FEDER)  
<https://enfermedades-raras.org/>



### Repercusiones del proyecto

Las características de este proyecto de investigación y si la hipótesis fuera cierta, aumentaría el interés de los Médicos de Familia en el tratamiento combinado de la obesidad y/o trastorno lipídico y la enfermedad nodular tiroidea, dada la elevada frecuencia de ambos problemas en la población en general.

Igualmente, los resultados de esta investigación alertaría a los especialistas en Pediatría a investigar la presencia de nódulos tiroideos en etapas más precoces de la vida, principalmente la adolescencia, considerando el problema de salud pública que representa en la actualidad la obesidad infantil con las alteraciones lipídicas que comporta dicho trastorno.



Además, el proyecto presentado puede contribuir a un mayor interés académico hacia la investigación del tejido adiposo, los parámetros de insulino-resistencia, como marcadores inflamatorios en los mecanismos de carcinogénesis.



## Otros datos

**Mato E**, Barceló-Batlloiri S, Orera I, Selva L, Corra M, González C, Bell O, **Lerma E**, **Moral A**, **Pérez JI**, de Leiva A. The proteomic 2D-DIGE approach reveals the voltage-dependent anion channel 2 as a potential therapeutic target in epithelial thyroid tumours. *Mol Cell Endocrinol* 2015. 15;404:37-45. doi: 10.1016/j.mce.2015.01.021.

**Mato E**, Puras G, Bell O, Agirre M, Hernández RM, Igartua M, Moreno R, Gonzalez G, de Leiva A and Pedraz JL. Selective antitumor effect of sorafenib loaded PLGA nanoparticles conjugated with cetuximab on undifferentiated / anaplastic thyroid carcinoma cells. *J Nanomed Nanotechnol*, 2015. 6:3. DOI: 10.4172/2157-7439.1000281

Zafon C, Puig-Domingo M, Biarnés J, Halperin I, Bella MR, Castells I, González C, Megía A, Santos L, García-Pascual L, Reverter JL, Pizarro E, **Mauricio D**; en nombre del Consorcio para el Estudio del Cáncer de Tiroides (CECaT). A descriptive study of the characteristics of differentiated thyroid cancer in Catalonia during the period 1998-2012. The CECaT registry. *Endocrinol Nutr*. 2015;62:264-9. doi: 10.1016/j.endonu.2015.03.005

Puig-Domingo M, Luque RM, Reverter JL, López-Sánchez LM, Gahete MD, Culler MD, Díaz-Soto G, Lomeña F, Squarcia M, Mate JL, Mora M, Fernández-Cruz L, Vidal O, Alastrué A, Balibrea J, Halperin I, **Mauricio D**, Castaño JP. The truncated isoform of somatostatin receptor 5 (sst5TMD4) is associated with poorly differentiated thyroid cancer. *PLoS One*. 2014;9:e85527. doi:10.1371/journal.pone.0085527

**Revilla G**, **Corcoy R**, **Moral A**, **Escolà-Gil JC**, **Mato E** Cross-Talk between Inflammatory Mediators and the Epithelial Mesenchymal Transition Process in the Development of Thyroid Carcinoma. *Int J Mol Sci*. 2019 May 18;20(10). pii: E2466. doi: 10.3390/ijms20102466.

Cedó L, García-León A, Baila-Rueda L, Santos D, Grijalva V, Martínez-Cignoni MR, Carbó JM, Metso J, López-Vilaró L, Zorzano A, Valledor AF, Cenarro A, Jauhiainen M, Lerma E, Fogelman AM, Reddy ST, **Escolà-Gil JC**, Blanco-Vaca F. ApoA-I mimetic administration, but not increased apoA-I-containing HDL, inhibits tumour growth in a mouse model of inherited breast cancer. *Sci Rep*. 2016 Nov 3;6:36387. doi: 10.1038/srep36387.



Cedó L, Reddy ST, **Mato E**, Blanco-Vaca F, **Escolà-Gil JC**. HDL and LDL: Potential New Players in Breast Cancer Development. J ClinMed. 2019 Jun 14;8(6). pii: E853. doi: 10.3390/jcm8060853.

**Giovanna Revilla**, Monica de Pablo Pons, Lucía Baila-Rueda, Annabel García-León, David Santos, Ana Cenarro, Marcelo Magalhaes, R. M. Blanco, **Antonio Moral**, **José Ignacio Pérez**, Gerard Sabé, **Cintia González**, **Victoria Fuste**, **Enrique Lerma**, Manuel dos Santos Faria, Alberto de Leiva, **Rosa Corcoy**, **Joan Carles Escolà-Gil**, & **Eugenia Mato**. Cholesterol and 27-hydroxycholesterol promote thyroid carcinoma aggressiveness. Scientific Reports 2019, <https://doi.org/10.1038/s41598-019-46727-2>



## Ubicación

Nuestro grupo de investigación multidisciplinar está formado por los grupos de investigación en Endocrinología, Diabetes y Nutrición, Bases Metabólicas del Riesgo Cardiovascular, Cirugía General y Digestiva, Investigación Clínica en Oncología y Patología Molecular del Cáncer, todos ellos, del Instituto de Investigación Biomédica Sant Pau (IIB Sant Pau) del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau de Barcelona y formamos parte del *Centro de Investigación Biomédica en Red (Ciber) en las áreas temáticas de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN) y Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas (CIBER-DEM)*.

El IIB Sant Pau nace el 17 de mayo de 2009, fruto de los esfuerzos del Instituto de Investigación y otras 9 entidades de su entorno para converger en un centro de investigación de alto nivel orientado a desarrollar nuevas técnicas y procesos que permitan mejorar la calidad de vida del ciudadano.

El proceso de evaluación realizado por el Instituto de Salud Carlos III durante 2010 culminó con la acreditación oficial del IIB Sant Pau a principios de 2011 como un organismo de investigación e innovación sanitaria.

Además IIB Sant Pau pertenece como entidad consorciada a los Centros de Investigación Biomédica en Red (Ciber) <https://www.ciber.es/>. Las áreas temáticas del Ciber son estructuras estables de investigación cooperativa que, bajo la forma de consorcios públicos de investigación dotados de personalidad jurídica, fueron creados por iniciativa del Instituto de Salud Carlos III con el propósito de impulsar la investigación de excelencia en áreas prioritarias de Biomedicina y Ciencias de la Salud, que se realiza en el Sistema Nacional de Salud y en el Sistema de Ciencia y Tecnología. La importancia de este objetivo para la Ciencia, la Salud y la sociedad en



general hace necesario que el ISCIII asuma la promoción y apoye la financiación de estos Ciber.

Nuestro grupo forma parte del Consorcio Centro de Investigación Biomédica en Red de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBERBBN) y Centro de Investigación Biomédica en Red de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas (CIBERDEM).



## ¿Quién está detrás de este proyecto?

### El grupo de investigación está formado por los Departamentos de:

**Endocrinología Diabetes y Nutrición (IIB-SantPau, CIBER-BBN, AGAUR)** coordinado por los Drs. Dídac Mauricio y Rosa Corcoy. Dicho grupo lleva en marcha desde hace más de 3 décadas proyectos de investigación con dedicación preferente a las áreas de Diabetes Mellitus y Neoplasias Endocrinas, de índole básica y trasnacional. Además de los Servicios Hospitalarios de Anatomía Patológica, Bioquímica, Inmunología, Medicina Nuclear, Radiodiagnóstico, Oncología y Sección de Cirugía Endocrina. El grupo cuenta con el Laboratorio de Endocrinología Experimental y la colaboración de las plataformas tecnológicas complementarias del IIB-Sant Pau

**Bioquímica, grupo “Bases metabólicas del riesgo cardiovascular” (IIB-SantPau, CIBERDEM, AGAUR).** La parte experimental está coordinada por el Dr. Escolà-Gil cuya trayectoria ha sido reconocida por repetidas ayudas a proyectos principalmente del ISCIII y la participación en una acción europea sobre HDL (COST Action BM0904). Su objetivo principal es la generación de conocimiento en el área de las enfermedades metabólicas y su relación con el riesgo cardiovascular y cáncer, así como su aplicación al laboratorio clínico de un hospital universitario como el nuestro, especialmente interesado en las actividades terciarias. Estos objetivos son posibles por el mantenimiento de líneas de investigación más básicas, dedicadas a estudiar desde la función de determinadas proteínas implicadas en el metabolismo lipoproteico a mecanismos fisiopatológicos en las que éstas juegan un papel.

En relación con la solicitud de ayuda a este proyecto conviene resaltar la existencia de un Comité de Neoplasias Endocrinas y de una colección de 500 piezas operatorias de patología tumoral (adenomas y carcinomas) registradas en el ISCIII bajo la custodia del equipo investigador. En el área de diabetes, obesidad y síndrome metabólico, nos ha interesado especialmente la patogenia de la DM2, diferenciándola de la autorreactividad inmunológica (LADA, diabetes autoinmune clásica juvenil y adulta)





**La Etiopatogenia del Carcinoma Diferencial de Tiroides (CDT)** ha sido en los últimos años objeto de especial dedicación, con contribuciones en la búsqueda de nuevos marcadores de predicción diagnóstica en los nódulos tiroideos y pronóstica en relación a los mecanismos de desdiferenciación de CPT y CFT hacia la máxima malignidad o Anaplasia (transcriptómica y proteómica). En relación a los estudios de diferenciación del CDT en correlación con el colesterol y sus metabolitos.

Además, nuestro grupo está involucrado en la investigación de nuevas estrategias quimioterápicas y su adecuada y específica vehiculización con la ayuda de nanopartículas es recientemente un aspecto innovador en realización conjunta con el Grupo Investigador *NanoBioCel (CIBER-BBN, IP JL Pedraz)*, en estudios con líneas celulares propias de tejido tiroideo sano y neoplásico

**En Resumen:** Los miembros del grupo investigador compaginan sus actividades asistenciales con su dedicación investigadora/docente, participando en diferentes proyectos de investigación lo que ha facilitado el aprendizaje de la metodología específica para este proyecto.

#### **ARTICULOS DEL GRUPO INVESTIGADOR RELACIONADOS CON ESTE PROYECTO**

**1.- Lerma E, Mora J, Prat J, de Leiva A.** (2005) Telomerase activity in thyroid neoplasms. In : Progress in Thyroid Cancer Research. Nova Science Publisher, Inc. New York, USA, 117-137. **2.- Lerma E, Mora J,** and thyroid study group from Sant Pau Hospital.(2005)Telomerase activity in "suspicious" thyroid cytology. Cancer. 25;105(6):492-7. **3.- Alvarez-Nuñez F, Bussaglia E, Mauricio D, Ybarra J, Vilar M, Lerma L, de Leiva A, Matias-Guiu X** and the Thyroid Neoplasia Study Group. (2006) PTEN promoter methylation in sporadic thyroid carcinomas. Thyroid. 16(1):17-23.**4.- González GC, Capel I, Rodríguez-Espinosa J, Mauricio D, de Leiva A, Pérez A.** (2007)Thyroid Autoimmunity at onset of type 1 diabetes as a predictor of thyroid dysfunction. Diabetes Care 30(6):1611-1612. **5.- Montero-Conde C, Martín-Campos JM, Lerma E, Giménez G, Martínez-Guitarte JL, Combalía N, Montaner D, Matías-Guiu X, Dopazo J, de Leiva A, Robledo M, Mauricio D.** (2008) Molecular profiling related to poor prognosis in thyroid carcinoma. Combining gene expression data and biological information. Oncogene. 6;27(11):1554-61. **6.- Hawa MI, Thivolet C, Mauricio D, Alemanno I, Cipponeri E, Collier D, Hunter S, Buzzetti R, de Leiva A, Pozzilli P, Leslie RD; Action LADA Group.** (2009) [Metabolic syndrome and autoimmune diabetes: action LADA 3](#). Diabetes Care. 32(1):160-4. **7.- Hawa MI, Kolb H, Schloot N, Beyan H, Paschou SA, Buzzetti R, Mauricio D, De Leiva A, Yderstraede K, Beck-Neilsen H, Tuomilehto J, Sarti C, Thivolet C, Hadden D, Hunter S, Scherthaner G, Scherbaum WA, Williams R, Brophy S, Pozzilli P, Leslie RD; Action LADA consortium.** (2013) [Adult-onset autoimmune diabetes in Europe is](#)



[prevalent with a broad clinical phenotype: Action LADA 7](#). Diabetes Care. Apr;36(4):908-13. doi: 10.2337/dc12-0931. Epub 2012 Dec 17. Erratum in: Diabetes Care. 2014;37(5):1494. **8.-** Mollo A, Hernandez M, Marsal JR, Esquerda A, Rius F, Blanco-Vaca F, Verdaguer J, Pozzilli P, **de Leiva A**, Mauricio D; Action LADA 8. **(2013)**[Latent autoimmune diabetes in adults is perched between type 1 and type 2: evidence from adults in one region of Spain](#). Diabetes Metab Res Rev. **2013** Sep;29(6):446-51. doi: 10.1002/dmrr.2411. Erratum in: Diabetes Metab Res Rev. 29(8):693. **9.-** [Vinagre I](#), [Sánchez-Quesada JL](#), [Sánchez-Hernández J](#), [Santos D](#), [Ordoñez-Llanos J](#), [De Leiva A](#), [Pérez A](#). (2014). Inflammatory biomarkers in type 2 diabetic patients: effect of glycemic control and impact of LDL subfraction phenotype [Cardiovasc Diabetol](#) 4;13:34. **10.-** [Mato E](#), [González C](#), [Moral A](#), [Pérez JL](#), [Bell O](#), [Lerma E](#), [de Leiva A](#). (2014) ABCG2/BCRP gene expression is related to epithelial-mesenchymal transition inducer genes in a papillary thyroid carcinoma cell line (TPC-1) J MolEndocrinol, 28;52(3):289-300.**11.-** [Mato E](#), [Barceló-Batllori S](#), [Orera I](#), [Selva L](#), [Corra M](#), [González C](#), [Bell O](#), [Lerma E](#), [Moral A](#), [Pérez J I](#), [de Leiva A](#) (2015) The proteomic 2D-DIGE approach reveals the protein voltage-dependent anion channel 2 as a potential therapeutic target in epithelial thyroid tumours. Mol. Cell. Endocrinol.21;404C:37-45. **12.-** [PurasG.](#), [Mato E](#), [Bell O](#), [Agirre M](#), [Hernández R](#), [Igartua M](#), [Moreno R](#), [González G](#), [de Leiva A](#), [Pedraz J L](#) (2015) Selective antitumoral effect of sorafenib loaded PLGA nanoparticles conjugated with cetuximab on undifferentiated / anaplastic thyroid carcinoma cells. J.NanomedNanotechnol 6:3, <http://dx.doi.org/10.4172/2157-7439.1000281>. **13.-** [Hernandez M](#), [Mollo A](#), [Marsal JR](#), [Esquerda A](#), [Capel I](#), [Puig-Domingo M](#), [Pozzilli P](#), [de Leiva A](#), [Mauricio D](#); [Action LADA consortium](#) (2015) Insulin secretion in patients with latent autoimmune diabetes (LADA): half way between type 1 and type 2 diabetes: action LADA 9.[BMC EndocrDisord](#). 9;15:1. **14.-** [Aulinas A](#), [Colom C](#), [García Patterson A](#), [Ubeda J](#), [María MA](#), [Orellana I](#), [Adelantado JM](#), [de Leiva A](#), [Corcoy R](#). Smoking affects the oral glucose tolerance test profile and the relationship between glucose and HbA1c in gestational diabetes mellitus. Diabetic Medicine 2015.Published online: 27 OCT 2015 DOI:10.1111/dme12966.

