

Índices para la evaluación de la resistencia a la insulina en individuos mexicanos sin diabetes

Paloma Almeda-Valdés,^{1,2} Omar Y. Bello-Chavolla,^{2,3} César R. Caballeros-Barragán,¹

Donají V. Gómez-Velasco,² Tania Viveros-Ruiz,² Arsenio Vargas-Vázquez^{2,3} y Carlos A. Aguilar-Salinas^{1, 2}

¹Departamento de Endocrinología y Metabolismo; ²Unidad de Investigación de Enfermedades Metabólicas. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán; ³Programa PECEM, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México

Resumen

Objetivo: Evaluar la correlación entre índices subrogados de resistencia a la insulina y el valor M obtenido mediante pinza euglicémica-hiperinsulinémica, así como su sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivo y negativo, en mexicanos sin diabetes. **Método:** Se realizó una pinza euglicémica-hiperinsulinémica en individuos con glucosa en ayuno y hemoglobina glucosilada normales. Se estimaron los índices HOMA-IR, QUICKI, HOMA2%S, TyG, TyG*índice de masa corporal (IMC) y triglicéridos/colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad. Se estimaron coeficientes de correlación de Pearson entre los resultados y el valor M ajustado por masa libre de grasa. Se construyeron curvas ROC para evaluar su desempeño y se estimaron la sensibilidad, la especificidad y los valores predictivos de los índices. **Resultados:** Se incluyeron 57 individuos, el 68.4 % mujeres, de 32.9 ± 11 años, con IMC de 26.5 ± 3.9 kg/m². El índice subrogado con mejor correlación con el valor M fue HOMA2%S ($r = 0.428$), con la mayor área bajo la curva ROC (0.683; intervalo de confianza del 95 %: 0.503-0.864) HOMA-IR, y con mejor sensibilidad (92.8 %) y especificidad (51.1 %) TyG*IMC. **Conclusiones:** Los índices subrogados para estimar la resistencia a la insulina muestran una correlación significativa con el valor M obtenido con el método de referencia. Se requieren más estudios para determinar puntos de corte en población mexicana.

PALABRAS CLAVE: Pinza euglicémica-hiperinsulinémica. HOMA-IR. QUICKI. HOMA2%S. Índice TyG. Índice TG/HDL.

Abstract

Objective: To evaluate the correlation between surrogate index for the evaluation of insulin resistance with the M value obtained with the euglycemic-hyperinsulinemic clamp as well as their sensitivity, specificity, and positive and negative predictive values. **Method:** The euglycemic-hyperinsulinemic clamp was performed in subjects having both normal fasting glucose and glycated hemoglobin concentrations. HOMA-IR, QUICKI, HOMA2%S, TyG, TyG*body mass index (BMI) and triglyceride/HDL indexes were calculated. Correlations coefficients were estimated between indexes results and the M-value adjusted by fat-free mass. Areas under the ROC curve were constructed to evaluate overall performance, sensitivity, specificity and predictive values of the surrogate indexes. **Results:** 57 subjects, 68.4% women, with a mean age of 32.9 ± 11 years-old were included. The surrogate index with the best correlation with the M value was HOMA2%S ($r = 0.428$), HOMA-IR had the greatest area under the ROC curve (0.683; 95 % confidence interval: 0.503-0.864) and TyG*BMI the best sensitivity (98.2 %) and specificity (51.1 %). **Conclusions:** The surrogated indexes for the evaluation of insulin resistance show a significant correlation with the M value obtained with the gold standard. Additional studies are required to determine cut-off values in Mexican population.

KEY WORDS: Euglycemic-hyperinsulinemic clamp. HOMA-IR. QUICKI. HOMA2%S. TyG index. TG/HDL index.

Correspondencia:

Carlos A. Aguilar-Salinas
E-mail: caguilaralinas@yahoo.com

Fecha de recepción: 16-08-2018
Fecha de aceptación: 20-08-2018
DOI: 10.24875/GMM.18004578

Gaceta Med Mex. 2018;154(Suppl 2): S50-S55
Disponible en PubMed
www.gacetamedicademexico.com

Introducción

Los principales procesos regulados por la insulina son la estimulación de la captación de glucosa en el músculo y el tejido adiposo, y la inhibición de la producción hepática de glucosa. El término «resistencia a la insulina» se refiere a una disminución en la respuesta metabólica de las células a la insulina o bien a una incapacidad de la insulina inyectada para disminuir la glucosa sanguínea.¹ La resistencia a la insulina ocasiona alteraciones en la homeostasis de la glucosa y los lípidos. Es una característica de la obesidad y un factor de riesgo para el desarrollo de diabetes tipo 2.²

La cuantificación correcta y confiable de la resistencia a la insulina es importante para el diagnóstico, el tratamiento, el pronóstico y la monitorización de pacientes, así como para la evaluación de fármacos. La pinza euglucémica-hiperinsulinémica se considera el método de referencia para evaluar la sensibilidad a la insulina, pero es laboriosa, por lo que solo se realiza en el contexto de estudios de investigación clínica.³ Debido a que la concentración de glucosa depende del equilibrio entre la producción hepática de glucosa y su utilización, y ya que la insulina es la principal hormona que regula estos procesos, la concentración elevada de glucosa o de insulina en ayuno indican resistencia a la insulina. La hiperinsulinemia tiene una alta correlación con el grado de resistencia a la insulina, y por tal motivo se ha utilizado la medición de insulina en suero, sola o en combinación con mediciones de la glucosa, para estimar la resistencia a la insulina.

El índice subrogado más acostumbrado de resistencia a la insulina en estado de ayuno es el derivado de la fórmula HOMA-R (*homeostasis model assessment for insulin resistance*),⁴ sin embargo, existen algunos otros, como el QUICKI (*quantitative insulin check index*).⁵ Asimismo, con la finalidad de evitar la variabilidad y otros problemas que supone la medición de la insulina, se han desarrollado índices de resistencia a la insulina que no utilizan su determinación. Estos índices incluyen el producto de la concentración de glucosa y triglicéridos en ayuno (índice TyG), el producto de la concentración de glucosa, triglicéridos e índice de masa corporal (IMC) (índice TyG*IMC) y el índice de triglicéridos entre la concentración de colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad (HDL) (índice TG/HDL).^{6,7}

Los diferentes índices para evaluar la resistencia a la insulina han sido comparados con la pinza euglucémica y han mostrado una correlación adecuada en

diversas poblaciones. En 2014, Otten, et al.⁸ publicaron un metaanálisis en el cual se evaluó la correlación de diferentes índices de resistencia a la insulina con la pinza euglucémica-hiperinsulinémica. Los resultados de este estudio indicaron que, de los índices en ayuno, el que tenía correlación más fuerte con la pinza era el QUICKI ($r = 0.65$). El desempeño de dichos índices no ha sido evaluado en población mexicana. El objetivo de este trabajo es evaluar la correlación de los índices subrogados de resistencia a la insulina HOMA-IR, QUICKI, HOMA2%S, índice TyG, índice TyG*IMC y TG/HDL con el valor M obtenido mediante el método de referencia (la pinza euglucémica-hiperinsulinémica), así como estimar su sensibilidad, su especificidad y sus valores predictivos positivo y negativo en una población de individuos mexicanos sin diabetes.

Método

Se trata de un estudio transversal. Se invitó a participar a individuos mexicanos sin diagnóstico de diabetes, de entre 20 y 79 años de edad, con IMC entre 18 y 34.9 kg/m², con concentración de glucosa en ayuno < 100 mg/dl y hemoglobina glucosilada (HbA1c) < 5.7 %. Se excluyeron los individuos con antecedentes de enfermedad cardiovascular (cardiopatía isquémica o evento vascular cerebral isquémico), con alguna infección aguda al momento del estudio, embarazo o lactancia, con reporte de pérdida de peso mayor del 10 % en los últimos 3 meses, con tasa de filtrado glomerular estimada inferior a 60 ml/min, atletas de alto rendimiento y aquellos que utilizaran fármacos que pudieran afectar la acción o la secreción de insulina. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ), y se obtuvo el consentimiento por escrito de todos los participantes.

Evaluaciones

Se obtuvo una historia clínica completa, incluyendo el uso de medicamentos, de todos los individuos. Se realizó la medición del peso en una báscula calibrada, y de la estatura en un estadímetro. El IMC se calculó como el peso en kilogramos dividido entre la estatura en metros al cuadrado.

Se obtuvieron muestras de glucosa con ayuno de 12 horas. La concentración de glucosa en ayuno fue determinada utilizando un ensayo colorimétrico (Unicel Dx C 600 Synchron Clinical System, Beckman

Coulter), la concentración de insulina en ayuno se determinó utilizando un ensayo de quimioluminiscencia (Beckman Coulter Access 2), y la HbA1c con cromatografía líquida de alto desempeño (Variant II Turbo, BIORAD). Las concentraciones de colesterol total, triglicéridos, colesterol HDL, aspartato aminotransferasa, alanino aminotransferasa y creatinina se midieron con ensayos colorimétricos (Unicel DxC 600 Synchron Clinical System, Beckman Coulter). El colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad (LDL) se calculó con la fórmula de Friedewald cuando la concentración de triglicéridos era < 250 mg/dl.

Composición corporal

Se determinó la masa libre de grasa (MLG) mediante absorciometría dual de rayos X (DXA) con un densitómetro GE Lunar iDXA®.

Índices subrogados

El índice HOMA-IR se estimó con la fórmula del producto de la glucosa en ayuno (en mg/dl) y la insulina en ayuno (en μ U/ml) dividido entre la constante 405. El índice HOMA2%S se estimó con el calculador HOMA2 CALCULATOR de la Universidad de Oxford (www.dtu.ox.uk/homacalculator/index/php). El índice QUICKI se estimó mediante la fórmula $1/\logaritmo$ de la insulina en ayuno (en μ U/ml) multiplicado por el logaritmo de la insulina en ayuno (en mg/dl). El índice TyG se estimó con la fórmula \logaritmo de los triglicéridos (en mg/dl) multiplicado por glucosa (en mg/dl) dividido entre 2. El índice TyG*IMC se estimó a partir de la fórmula índice TyG multiplicado por IMC. Finalmente, también se calculó el índice TG/HDL.

Pinza euglucémica-hiperinsulinémica

El procedimiento fue realizado en la Unidad de Investigación de Enfermedades Metabólicas del INCMNSZ. Los individuos acudieron con ayuno de 12 horas. Se canalizó una vena antecubital para la infusión de glucosa e insulina, y otra vena en forma retrógrada en el brazo contralateral para la obtención de las muestras. Se utilizó una caja caliente para la obtención de muestras arterializadas. Se administró un bolo inicial de 200 mU de insulina por metro cuadrado de superficie corporal por minuto, durante 5 minutos, seguido de otro bolo de 100 mU por metro cuadrado de superficie corporal por minuto, durante 5 minutos más, y posteriormente se continuó con una

infusión constante de 50 mU de insulina por metro cuadrado de superficie corporal durante todo el procedimiento. Se administró una infusión de solución glucosada al 20 % a una velocidad de infusión variable, con el objetivo de mantener las concentraciones de glucosa en aproximadamente 100 mg/dl. La medición de la glucosa se realizó cada 10 minutos con un analizador automatizado (Yellow Springs Instruments 2900). La sensibilidad a la insulina se determinó como la velocidad de infusión de glucosa (valor M) y se obtuvo durante los últimos 30 minutos del procedimiento en estado estable.

Análisis estadístico

Se determinó la distribución de las variables dimensionales utilizando la prueba de Shapiro-Wilk. Estas se describen con promedios y desviación estándar, o mediana e intervalo intercuartil, de acuerdo con su distribución. Se realizaron correlaciones bivariadas y se estimaron coeficientes de correlación de Pearson entre los diferentes índices subrogados y el valor M ajustado por la MLG, realizando transformación logarítmica en el caso de variables con distribución no normal. Se calculó el área bajo la curva (AUC) ROC (*receiver operating characteristic*) y se realizaron tablas de 2×2 para estimar la sensibilidad, la especificidad y los valores predictivos negativo y positivo de cada uno de los índices subrogados. Se calculó un tamaño de muestra de 50 individuos, estimando una correlación de al menos 0.58 entre los índices subrogados y el valor M ajustado con un poder del 80 % y un error alfa de 0.05. El análisis estadístico se realizó con el programa estadístico SPSS versión 21.

Resultados

Se incluyeron 57 individuos, el 68 % mujeres, con un promedio de edad de 33 años. En la Tabla 1 se muestran las características generales de la población estudiada.

Sensibilidad a la insulina

El valor M ajustado por peso fue de 8.2 ± 2.9 mg/min, mientras que el valor M ajustado por la MLG fue de 13.3 ± 4.7 mg/min. El índice HOMA promedio en la población fue de 1.71 ± 1.06 . Los resultados de los índices subrogados para la evaluación de la resistencia a la insulina estudiados se muestran en la Tabla 2.

Tabla 1. Características generales de la población estudiada (n = 57)

Variable	Resultado
Sexo	
Femenino	39; 68.4%
Masculino	18; 31.6%
Edad, años	32.9 ± 11
IMC, kg/m ²	26.5 ± 3.9
Glucosa en ayuno, mg/dl	90.0 ± 8.2
Insulina en ayuno, µU/ml	7.5 ± 4.5
HbA1c, %	5.1 ± 0.36
Triglicéridos, mg/dl	125.8 ± 73.3
Colesterol total, mg/dl	177.8 ± 35.0
Colesterol LDL, mg/dl	106.6 ± 28.2
Colesterol HDL, mg/dl	45.3 ± 9.7
Creatinina, mg/dl	0.70 ± 0.18
Alanino aminotransferasa, U/l	26.5 ± 14.5
Aspartato aminotransferasa, U/l	23.8 ± 8.8

Datos expresados como número y porcentaje o promedio ± desviación estándar.
HbA1c: hemoglobina glucosilada; HDL: lipoproteínas de alta densidad; IMC: índice de masa corporal; LDL: lipoproteínas de baja densidad.

Tabla 2. Sensibilidad a la insulina en la población estudiada obtenida mediante la pinza euglucémica-hiperinsulinémica y los índices subrogados (n = 57)

Variable	Resultado
Valor M, mg/min	567.7 ± 210.9
Valor M ajustado por peso, mg/min/kg	8.22 ± 2.96
Valor M ajustado por MLG, mg/min/kg de MLG	13.36 ± 4.76
HOMA-IR	1.71 ± 1.06
HOMA2%S	49.7 (16.9-71.3)
QUICKI	0.33 ± 0.04
TyG	8.52 ± 0.57
TyG*IMC	227.1 ± 43.0
TG/HDL	3.13 ± 2.32

Datos expresados como promedio ± desviación estándar o mediana (intervalo intercuartilar).
MLG: masa libre de grasa.

El resultado de todos los índices subrogados mostró una correlación significativa con el valor M ajustado por MLG obtenido mediante la pinza. La mejor correlación con el valor M ajustado por MLG fue con el índice HOMA2%S ($r = 0.428$), y la correlación más baja fue con el índice QUICKI ($r = 0.348$). En la Tabla 3 se muestran los coeficientes de correlación de Pearson entre los índices subrogados y el valor M ajustado por MLG.

Tabla 3. Correlación entre los índices subrogados de resistencia a la insulina y el valor M ajustado por masa libre de grasa

	Coefficiente de correlación de Pearson*
HOMA-IR	-0.357
QUICKI	0.348
HOMA2%S	0.428
TyG	-0.390
TyG*IMC	-0.358
TG/HDL	-0.385

*Todas las correlaciones mostraron significancia estadística ($p < 0.001$).

Tabla 4. Áreas bajo la curva ROC de los índices subrogados de resistencia a la insulina

Índice	Área bajo la curva ROC
HOMA-IR	0.683 (0.503-0.864)
QUICKI	0.678 (0.500-0.856)
HOMA2%S	0.648 (0.463-0.834)
TyG	0.596 (0.418-0.773)
TyG*IMC	0.631 (0.469-0.794)
TG/HDL	0.602 (0.431-0.773)

Se calculó el AUC ROC para cada uno de los índices considerando el percentil 25 del valor M ajustado por MLG, que correspondió a 6.39 mg/min/kg de MLG, para la identificación de resistencia a la insulina. Los índices con mayor AUC fueron HOMA-IR (0.683) y QUICKI (0.678). Los resultados se muestran en la Tabla 4.

Para cada uno de los índices subrogados se determinó el punto de corte con mayor sensibilidad y especificidad, y posteriormente se calcularon los valores predictivos positivo y negativo de cada uno de estos. El índice con mayor sensibilidad y especificidad fue el índice TyG*IMC. El índice con mayor especificidad fue el HOMA2%S. Los índices QUICKI y TG/HDL fueron los que mostraron menores sensibilidad y especificidad. En la Tabla 5 se muestran estos resultados.

Discusión

En el presente estudio se evaluó el desempeño de diferentes índices subrogados para evaluar resistencia a la insulina, considerando como referencia el valor M ajustado por MLG obtenido con la pinza euglucémica-hiperinsulinémica en individuos mexicanos sin diabetes. El índice con mejor desempeño fue el índice TyG*IMC. Sin embargo, las AUC ROC fueron

Tabla 5. Punto de corte con mejor desempeño de cada índice subrogado, y sensibilidad, especificidad y valores predictivo positivo y negativo de cada uno

Índice	Punto de corte	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	VPP (%)	VPN (%)
HOMA-IR	1.22	84.6	48.8	33.3	91.3
QUICKI	0.345	57.1	30.2	21.0	68.4
HOMA2S%	50.6	42.8	76.7	37.5	80.5
TyG	8.17	85.7	32.5	29.2	87.5
TyG*IMC	208	92.8	51.1	38.2	95.6
Triglicéridos/HDL	1.97	49.2	27.0	23.2	67.4

VPN: valor predictivo negativo; VPP: valor predictivo positivo.

modestas, lo cual representa una limitante del uso de los índices subrogados evaluados.

Los puntos de corte con mayor sensibilidad y especificidad identificados en el presente estudio difieren de los identificados en otras publicaciones. El punto de corte del índice HOMA para identificar resistencia a la insulina varía ampliamente en diversas poblaciones según la edad, el origen étnico, el sexo y el estado de salud, entre otras variables, y va desde 1.7 en japoneses hasta 3.8 en una población de Francia.⁹ El punto de corte con mejor sensibilidad obtenido en este estudio fue de 1.22; sin embargo, se debe reconocer su baja especificidad (48.8 %). El coeficiente de correlación obtenido entre este índice y el valor M ajustado por MLG obtenido con la pinza ($r = -0.357$) fue menor que el descrito en la literatura.^{8,10} En el caso del índice QUICKI también obtuvimos un punto de corte y un coeficiente de correlación menores que lo descrito en previas publicaciones. En el estudio de Otten, et al.⁸ el coeficiente de correlación obtenido fue de 0.61, en contraste con 0.348 en nuestro estudio. En cuanto al índice HOMA2S%, el coeficiente de correlación encontrado, de 0.428, es similar al de otras poblaciones. Finucane, et al.¹¹ reportaron una correlación semejante en un estudio que incluyó individuos caucásicos.

El índice TyG fue evaluado previamente por Guerrero-Romero, et al.¹² en una población mexicana sin diabetes. En su estudio encontraron una mejor correlación ($r = -0.670$) entre el índice TyG y el subgrupo de individuos, pero el ajuste para el valor M se realizó con el peso corporal total en lugar de con la MLG. El mejor punto de corte para este índice fue de 4.68, con una sensibilidad del 96.5 % y una especificidad del 85 %.¹²

El índice TG/HDL ha sido menos estudiado. Sumner, et al.,¹³ en una población de individuos afroamericanos, describieron un AUC con este índice de 0.560

para la estimación de resistencia a la insulina, concluyendo que no representa un índice útil en esta población.

Se debe reconocer que, aunque el número de individuos evaluados se calculó para lograr suficiente poder, es pequeño para poder extrapolar los resultados a toda la población mexicana. Además, el IMC de la población correspondió a sobrepeso, lo cual también puede limitar la extrapolación de los resultados a poblaciones con peso normal u obesidad.

Entre las fortalezas de este estudio pueden enumerarse el uso de la pinza euglucémica-hiperinsulinémica como método de referencia para evaluar la resistencia a la insulina. Además, se contó con la determinación de la MLG mediante DXA, lo que proporciona un estimado más preciso de la resistencia a la insulina ajustando para las diferencias que se pueden encontrar por la distribución de la grasa corporal.^{14,15} Finalmente, se incluyó una muestra relativamente homogénea, pues se excluyeron casos con diabetes o glucosa anormal de ayuno. La participación de casos con disglucemia es un error común en estudios similares al nuestro. Como resultado, la dispersión de las variables es muy grande, lo que agrega incertidumbre a los resultados.

Conclusiones

Los índices subrogados para la evaluación de la resistencia a la insulina mostraron correlaciones significativas con el valor M ajustado para la MLG obtenido con la pinza euglucémica-hiperinsulinémica. El índice con mayor AUC fue el HOMA-IR, y el que tuvo mejores sensibilidad y especificidad fue el índice TyG*IMC con un punto de corte de 227. La replicación y la generalización de estos resultados será motivo de futuros estudios que permitan establecer puntos de corte para estos índices en población mexicana.

Bibliografía

1. Reaven GM. The insulin resistance syndrome: definition and dietary approaches to treatment. *Ann Rev Nutr.* 2005;25:391-406.
2. Gastaldelli A, Gaggini M, DeFronzo RA. Role of adipose tissue insulin resistance in the natural history of type 2 diabetes: results from the San Antonio Metabolism Study. *Diabetes.* 2017;66:815-22.
3. DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol.* 1979;237:E214-23.
4. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia.* 1985;28:412-9.
5. Katz A, Nambi SS, Mather K, Baron AD, Follmann DA, Sullivan G, et al. Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:2402-10.
6. Abbasi F, Reaven GM. Comparison of two methods using plasma triglyceride concentration as a surrogate estimate of insulin action in nondiabetic subjects: triglycerides x glucose versus triglyceride/high-density lipoprotein cholesterol. *Metabol Clin Exp.* 2011;60:1673-6.
7. Simental-Mendia LE, Rodríguez-Morán M, Guerrero-Romero F. The product of fasting glucose and triglycerides as surrogate for identifying insulin resistance in apparently healthy subjects. *Metab Syndr Relat Disord.* 2008;6:299-304.
8. Otten J, Ahren B, Olsson T. Surrogate measures of insulin sensitivity vs the hyperinsulinaemic-euglycaemic clamp: a meta-analysis. *Diabetologia.* 2014;57:1781-8.
9. Tang Q, Li X, Song P, Xu L. Optimal cut-off values for the homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) and pre-diabetes screening: developments in research and prospects for the future. *Drug Discov Ther.* 2015;9:380-5.
10. Wallace TM, Levy JC, Matthews DR. Use and abuse of HOMA modeling. *Diabetes Care.* 2004;27:1487-95.
11. Finucane FM, Luan J, Wareham NJ, Sharp SJ, O'Rahilly S, Balkau B, et al. Correlation of the leptin: adiponectin ratio with measures of insulin resistance in non-diabetic individuals. *Diabetologia.* 2009;52:2345-9.
12. Guerrero-Romero F, Simental-Mendia LE, González-Ortiz M, Martínez-Abundis E, Ramos-Zavala MG, Hernández-González SO, et al. The product of triglycerides and glucose, a simple measure of insulin sensitivity. Comparison with the euglycemic-hyperinsulinemic clamp. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95:3347-51.
13. Sumner AE, Finley KB, Genovese DJ, Criqui MH, Boston RC. Fasting triglyceride and the triglyceride-HDL cholesterol ratio are not markers of insulin resistance in African Americans. *Arch Intern Med.* 2005; 165:1395-400.
14. Bokemark L, Froden A, Attvall S, Wikstrand J, Fagerberg B. The euglycemic hyperinsulinemic clamp examination: variability and reproducibility. *Scand J Clin Lab Invest.* 2000;60:27-36.
15. Ferrannini E, Mari A. How to measure insulin sensitivity. *J Hypertens.* 1998;16:895-906.