약물상호작용

-약물대사 및 약물유전학적 측면-

인하대학교 의과대학 부속병원 내과/임상약리학과

노 형 근

Abstract

Drug Interactions : Pharmacogenetic and Metabolic Aspects

Hyung-Keun Roh, M.D.

Department of Internal Medicine, Division of Clinical Pharmacology, Inha University Hospital, Incheon, Korea

Drugs administered to patients are biotransformed by a number of drug metabolizing enzymes. Considerable parts of drugs as well as environmental chemicals are metabolized by the hepatic cytochrome P450 system. Drug interactions of metabolism have varying clinical relevance. Some of the drugs can induce their own metabolism and also affect the metabolism of other drugs. Similarly, drugs metabolized by the same enzyme system can act as competitive inhibitors and decrease the metabolism of other drugs. Furthermore, some drugs can inhibit other drugs through non-competitive manner. There has been much improvement on the pharmacogenetics that deal with variability in drug response due to heredity. It is now known that there is a great deal of individual variability in the metabolic capacity of the hepatic enzyme systems and the degree to which it may be induced or inhibited by drugs. Although it is not easy to predict the extent of an interaction in an individual patient, optimum drug therapy may be accomplished by understanding the mechanism of enzyme induction or inhibition and the principle of pharmacogenetics as well.

KEY WORDS : Drug interaction · Pharmacogenetics · Metabolism.

최근 Lazarou 등¹⁾이 입원 환자들의 약물 부작용 빈도에 대한 연구에 의하면, 미국내에서 전체 약물 부작용 빈도는 6.7%이고 치명적 부작용도 0.32%로 보고되었다. 1994년의 경우 한해동안 2,216,000명이 약물 부작용으로 입원하였고 106,000명이 이로 사망하는 등, 약물의 증대한 부작용으로 사망하는 빈도가 미국내 사망율의 4-6위를 차지할 정도로 심각함을 나타내고 있다. 질병을 치료하여야 할 약물에서 오히려 사망을 일으키는 빈도가 이렇게 높다는 사실은 약물 부작용이 임상적으로 상당히 중요한 의미로 다루어져

야 한다는 데에 이론의 여지가 없다. 우리나라는 약물 사용에 대한 통계가 잘 나와있지 않지만, 미국의 경우 입원환자는 하루 평균 14가지의 약물을 투여받고 있으며, 입원하지 않은 환자도 평균 5가지의 처방약 또는 비처방약을 복용하고 있는 것으로 조사되었다. 따라서 거의 대부분의 경우에서 이렇게 여러가지 약물들이 동시에 투여되고 있다는 것은 이들이 체내에서 상호 여러가지 작용을 일으킬 가능성이 매우 높음을 시사한다.

약물상호작용이란 어떤 한가지 약물의 효과가 다른

교신저자 : 노형근

소 속 : 인하대학교 의과대학 부속병원 내과/임상약리학과

주 소 : 인천광역시 중구 신흥동 3가 7-206 ☎400-711

전 화 : (032) 890-3497 FAX : (032) 882-6578 E-mail : keunroh@inha.ac.kr

약물에 의해서 변화되는 것을 의미하는데, 이 작용은 음식물을 비롯하여 우리 주변 환경에 존재하는 많은 화학 물질 등에 의해서도 일어날 수 있다. 약물 상호작용의 결과는 특정 약물의 효과를 증대시키기도 하지만, 약물들의 효과를 상쇄 또는 희석 시켜 효과가 없게도 하고, 어떤 약물들은 심각한 독작용이 유발될 수도 있다.

약물상호작용의 기전

약물 상호작용의 기전은 상당히 여러가지로 설명되어지나 크게는 약동학적 작용과 약력학적 작용의 두가지로 구분된다²⁾. 약동학적인 상호작용으로는 약동학의 기본 요소인 흡수, 분포, 대사 및 배설과 연관된 여러 상호작용을 말한다. 첫째, 약물 흡수에 따른 상호작용으로, 위장관 pH 변화에 의한 약물 효과의 변화나 위장관 운동의 변화를 들 수 있고, 다른 약물에 의해 치환되거나 흡수에 방해를 받는 경우를 볼 수 있다. 둘째, 흡수된 약물은 혈액 순환에 의해 빠르게 분포되는데, 이 때 혈장에 그냥 용해되는 약물도 있지만 혈장단백에 어느 정도 결합하여 이동한다. 그런데 약물마다 혈장농도와 혈장 단백질에 대한 친화도가 매우 다르고, 유리약물이 약리적 활성을 나타내게 되므로 투여된 여러 약물들이 상호작용을 일으킬 소지가 많다. 셋째, 약물 대사와 연관된 상호작용으로 약물대사효소의 유도나 억제, 또는 간혈류의 변화 등에 의해서 일어난다. 넷째, 배설의 변화에 의한 상호작용은 뇨의 pH 변화나 신세뇨관 및 신혈류의 변화 등에 의한다. 한편, 약력학적인 상호작용으로는 여러 약물들의 상승작용이나 길항작용에 의하거나, 약물 운반기전의 변화 또는 수분 및 전해질 균형의 변화 등에 의한 작용을 들 수 있다. 이와 같이 약물 상호작용의 기전들은 매우 다양하고 이에 영향을 줄 수 있는 요소들도 많으나 약물대사 과정과 연관되어 약물유전학이 점차 발전함에 따라 약물상호작용을 이해하는데 상당히 중요한 의미를 갖게 되었다.

약물대사와 약물유전학의 관계

약물유전학이란 약물의 대사와 그 반응에 있어서 유전적인 요인에 의하여 야기된 변화를 연구하는 분야로 볼 수 있다. 최근 들어 분자생물학이 발전함에 따라 약물대사 효소들의 합성에 필요한 유전암호를 지정하는 유전자들이 밝혀지게 되었고, 이들 유전자에 여러 형태의 돌연변이가 생겼을 때에는 약물대사 효소의 활성도가 저하됨을 알게 되었다. 이러한 분자생물학적 방법을 이용하여 특정 약물대사 효소에 대한 각 개인의 대사능력을 가늠할 수 있는 유전자형(genotype)을 알 수 있다. 또한 약물대사 효소와 관련된 유전자에서 발생하는 돌연변이의 종류에도 인종간의 차이가 나타남이 밝혀지고 있다. 따라서 이런 사실들이 각 개인 및 인종간의 약물대사 능력의 차이를 설명한다.

약물대사와 연관된 약물상호작용

인체내로 투여된 약물들은 우리 체내에 존재하는 수많은 약물대사 효소들에 의해 대사되어 비활성화되거나 혹은 활성화된다. 대개의 약물들은 지용성이 매우 커서 약물대사 효소의 활성부위에 위치할 뿐 아니라 세포내 내형질세망의 지용성 막에 비특이적으로 머물게 된다. 이러한 지용성 약물들은 정도의 차이는 있으나 각각 자신을 대사시키는 효소를 유도하는 작용을 가지고 있어 같은 약물을 반복적으로 투여할 때에는 대사가 촉진되는 경우가 있으며, 같은 효소에 의해 대사는 다른 약물들의 대사도 빨라진다. 한편, 동시에 여러 약물을 투여할 때 대사효소의 활성부위에 있는 약물의 농도에 따라 그 대사를 서로 상경적으로 억제할 수 있어 소위 억제성 약물 상호작용이 나타난다.

유도성 약물상호작용

약물치료시 어떤 약물을 오래 사용하다 보면 그 약물의 효과가 감소하는 경우를 흔히 경험하게 되고, 이는 내성(tolerance)으로 표현되어 왔다. 대표적인 예

로 barbiturate를 보면, 반복 투여할 때 계속 같은 정도의 수면 효과를 얻기 위해서는 시간이 지남에 따라 그 용량을 더욱 증가시켜야 하는데, 그 이유는 barbiturate가 microsomal enzyme의 활성도를 증가시켜 대사와 배설의 속도를 빠르게 하기 때문이다³⁾. 이렇게 효소가 자극되거나 소위 ‘유도’되는 현상으로 우리가 흔히 말하는 내성을 설명할 수 있을 뿐 아니라, 이와 같은 종류의 효소에 의해 대사되는 warfarin 같은 약물이 동시에 투여될 때 역시 그 대사가 항진되어 같은 치료효과를 유지하기 위해서 그 용량을 늘려야 하는 유도성 상호작용이 나타나게 된다⁴⁾. 이러한 효소 유도가 잘 일어나는 대사경로는 Phase I 산화과정으로, 효소 유도가 나타날 때는 간 세포내의 내형질세망의 양과 cytochrome P450 (CYP)의 양이 모두 증가하게 된다. CYP는 거대한 효소군으로 많은 isozyme들로 구성되는데 각각의 isozyme들은 대개 다른 기질 약물들을 대사시키므로 서로 구분이 된다. Rifampicin, carbamazepine, barbiturate, glutethimide, phenytoin, primidone, tobacco smoke등이 대사효소를 유도하는 대표적인 예로 알려져 있으며(Table 1), 이중에서도 rifampicin은 CYP3A4, CYP2C19및 CYP2C9등을, carbamazepine은 CYP3A4, CYP2C19등을, tobacco smoke은 CYP1A2와 같은 특정 isozyme을 유도하는 것으로 알려져 있다. 또한 약물대사 효소의 유도는 매우 흔한 현상이며, 이것은 약물에만 국한되지 않고 우리 환경에 존재하는 여러 화학 물질에도 해당된다.

이러한 약물대사 효소의 유도는 다음의 몇가지 임상적 특성을 갖는다. 첫째, 효소가 유도되는 정도는 종류와 그 용량에 의하나, 대개 며칠, 혹은 길게는 2-3주가 걸릴 정도로 느리며, 유도성 약물을 중단한 후에도 그 효과는 유도될 때와 비슷하게 유지된다. 예를 들어, rifampin 사용에 의하여 warfarin 제거율이 증가하는 것은 약을 투여한 후 최대 5-7일이 걸리고, 중단하였을 경우에도 비슷한 시간이 필요하였던 것으로 알려져 있다⁵⁾. 둘째, 병용하던 약물을 중단하였을

Table 1. Enzyme inducing agents and the related drugs

Enzyme inducing agents	Related drugs
Phenobarbital	Chloramphenicol
	Cimetidine
	Dicumarol
	Nortriptyline
	Phenytoin
	Theophylline
	Warfarin
	Carbamazepine
	Clonazepam
	Clozapine
Phenytoin	Doxycycline
	Glucocorticoids
	Methadone
	Pancuronium
	Quinidine
	Theophylline
	Chloramphenicol
	Dapsone
	Digitoxin
	Glucocorticoids
Rifampin	Hexobarbital
	Metoprolol
	Oral contraceptives
	Theophylline
	Tolbutamide
	Oral contraceptives
	Phenytoin
	Meprobamate
	Oral contraceptives
	Phenobarbital
Carbamazepine	Phenytoin
	Tolbutamide
	Oral contraceptives
	Acetaminophen
	Clofibrate
	Morphine
	Salicylate
	Temazepam
	Theophylline
	Theophylline
Chronic ethanol	
Oral contraceptives	
Cigarette smoking	

Table 2. Enzyme inhibiting agents

Allopurinol	Furafylline
Azapropazone	Idrocilamide
Chloramphenicol	Isoniazid
Ciprofloxacin	Itraconazole
Cimetidine	Ketoconazole
Disulfiram	Phenylbutazone
Ditiocarb sodium	Quinidine
Enoxacin	Sulfaphenazole
Erythromycin	Troleandomycin

때에도 역시 약물의 용량을 잘 조절하며 임상적으로 세심한 관찰을 요하는 면은 병용약물을 시작할 때와 마찬가지로이다. 셋째, 약물대사 효소의 유도는 특이하게 한가지 대사 경로로만 진행되든지, 또는 비특이적으로 일어날 수 있다. 넷째, 전반적으로 대사효소의 유도로 야기되는 약물 상호작용에 대한 임상적 의의는 그 약물의 치료지수에 의해 좌우된다. 이는 치료범위가 적은 약물들이 치료범위가 큰 약물보다 임상적으로 더 중요하기 때문이다.

억제성 약물상호작용

약물의 병용 투여시 대사효소의 활성 부위에 있는 약물의 농도에 따라 그 대사를 서로 상경적, 또는 비상경적으로 억제하기 때문에 여러 약물들이 소위 억제성 상호 작용을 일으키게 된다(Table 2). 따라서 두가지 이상의 약물이 동시에 투여될 때 더 느리게 비활성화 되는 약물은 그 약리학적 작용이 오래 지속되며 증강될 수 있고, 특히 치료지수가 낮은 약물인 경우에는 독작용이 나타날 수 있다. 약물대사에 관여하는 효소 활성도에는 개인간 또는 인종간의 차이가 상당히 존재하는 것이 알려져 있고 이런 차이를 유발시키는 데에는 여러가지 요인들이 있을 수 있으나 최근 그 중 중요한 부분을 차지하는 유전적 요소에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있다. 그러므로 억제성 상호작용을 논할 때 각 사람의 약물대사 능력의 차이가 반드시

Table 3. Substrates of CYP2D6

Amitriptyline	Mexiletine
Clomipramine	Mianserin
Codein	Nortriptyline
Debrisoquine	Ondansetron
Desipramine	Paroxetine
Dextromethorphan	Propafenone
Encainide	Remoxipride
Flecainide	Risperidone
Fluvoxamine	Timolol
Imipramine	Thioridazine
Haloperidol	Zuclopenthixol
Metoprolol	

고려되어야 한다. 약물들이 대사를 억제함으로 상호작용하는 것을 크게 나누어 다음과 같은 세가지 기전으로 설명할 수 있다.

1) 억제제가 그 효소의 기질인 상경적 억제

두가지 약물들이 어떤 특정 대사효소에 의해 비활성화 되는 경우이다. 대표적 약물대사 효소군인 CYP의 경우 많은 isozyme들이 알려져 있는데, 일반적으로 이런 기질 약물들은 모두 동일 효소에 의해 대사되므로 병용시 상경적 억제로 약물 상호작용을 유발시킬 수 있다. 그 중 연구가 많이 진행되어 있는 몇가지 isozyme들을 예를 들어 언급하면 다음과 같다.

CYP2D6의 경우 그 활성도는 유전적 다형성을 보이기 때문에 개체간 차이가 있을 뿐 아니라 인종간에도 활성도의 차이를 보여 서양인보다 동양인에서 활성도가 더 낮은 것으로 알려져 있다⁶⁾. 따라서 어떤 약물에 의해 이 효소가 억제될 때 활성도가 높은 개체는 낮은 개체보다 약물 상호작용에 의한 변화가 더 클 것이라는 점을 고려해야 한다(Table 3).

Omeprazole과 diazepam은 CYP2C19에 의해 대사되는데, 이들을 동시에 같이 투여하면 omeprazole은 diazepam의 혈장 제거율을 감소시키고 그 반감기

Table 4. Substrates of CYP2C19

Carisoprodol	Lansoprazole
Citalopram	Moclobemide
Clomipramine	S-mephenytoin
Demethyl-diazepam	Omeprazole
Diphenylhydantoin	Proguanil
Diazepam	Propranolol
Imipramine	

Table 5. Substrates of CYP3A4

Acetaminophen	Losartan
Amiodarone	Lovastatin
Carbamazepine	Midazolam
Cyclophosphamide	Nifedipine
Cyclosporin	Quinidine
Dapsone	Steroids
Digitoxin	Tamoxifen
Diltiazem	Taxol
Erythromycin	Terfenadine
Ethinylestradiol	Triazolam
Etoposide	Troleandomycin
Ifofamide	Verapamil
Lansoprazole	Warfarin
Lidocaine	

를 연장하게 된다⁷⁾. 이것은 두 약물이 CYP2C19이라는 효소에 서로 상경적으로 작용하기 때문에 omeprazole에 의해서 diazepam의 대사가 억제되는 것이라 볼 수 있다(Table 4). 더구나 유전적인 요인에 의해 이 효소가 결핍된 개체에서는 이러한 억제를 볼 수 없다는 사실이 이를 뒷받침 하고 있다.

CYP isozyme들 중 인체 내에 가장 많이 존재하고 중요한 효소로 알려진 CYP3A4의 기질로는 cyclosporin, dapsone, erythromycin, losartan, nifedipine 및 tamoxifen 등을 포함하여 많은 약물들이 있다(Table 5). 이 효소의 활성도가 다형성을 보이는데 대해서는 아직 확실하지 않으나, 인종간의 차이를

Table 6. Substrates of CYP1A2

Acetaminophen	Estradiol
Acetanilide	Fluvoxamine
Amitriptyline	Imipramine
Aromatic amines	Phenacetin
Caffeine	Theophylline
Clozapine	Warfarin

Table 7. Substrates of CYP2E1

Alcohols	Isoflurane
Aniline	Methylformamide
Benzene	p-Nitrophenol
Chlorzoxazone	Nitrosamines
Enflurane	Styrene

시사하는 연구들이 보고되고 있다. 이런 차이가 유전적인지, 또는 환경적인지에 대해서는 아직 명확하지 않다⁸⁾.

Table 6에는 CYP1A2의 기질 약물들이 나열되어 있다. 이중 fluvoxamine은 CYP1A2의 기질이며 이 효소의 강력한 억제제로 알려져 있는데⁹⁾, 이 약물을 clozapine과 같이 투여할 때 clozapine의 농도가 상당히 증가함이 보고되었다¹⁰⁾.

CYP2E1의 기질로는 ethanol을 비롯한 여러 약물들과 다양한 발암물질들을 들 수 있다(Table 7).

2) 억제제가 그 효소의 기질이 아닌 상경적 억제

상경적 작용은 하지만 억제제가 억제하려는 효소의 기질이 아닌 경우에는, 부정맥 치료제인 quinidine에 의해 진해제인 dextromethorphan의 대사가 억제되는 것을 들 수 있다¹¹⁾. Dextromethorphan은 CYP2D6에 의해 대사되는데, 유전적 원인에 의해 이 효소가 결핍된 개체에서의 dextromethorphan 제거율은 CYP2D6의 강력한 억제제로 알려진 quinidine을 이 진해제와 같이 투여한 개체에서와 유사하게 나타난다. 그러나 이때 quinidine은 CYP2D6의 기질

이기 때문에 이 효소를 억제하는 것이 아니라, 큰 친화력으로 이 효소에 잘 결합하여 억제하는 것이며, 오히려 CYP3A4라는 효소에 의해 대사된다.

3) 비상경적 억제

두 약물이 서로 비상경적으로 억제하는 경우는 특정 기전에 의한 억제로 생각된다¹²⁾. Macrolide 항생제에 의해 piperidine 유도체로 H₁-봉쇄제인 terfenadine의 대사가 억제되는 것을 들 수 있다. Macrolide 항생제가 CYP3A4에 의하여 대사체로 변환되고, 그 대사체는 CYP3A4의 heme 부위에 매우 견고하게 결합하여, 결국 이 효소의 활성부위로부터 잘 유리되지 않으므로 억제를 유발한다. 이렇게 어떤 효소에 대해 특정 기전에 따른 억제제에 의한 비상경적 억제는 특정 약물의 대사를 완전히 봉쇄할 수 있다. Macrolide 항생제와 terfenadine의 동시 투여는 치명적 상호작용을 일으킬 수 있어 한 효소의 비상경적 억제는 심각한 결과를 유발할 수 있음을 간과하여서는 안된다.

약물대사 효소의 억제와 관련하여 다음과 같은 내용이 임상적으로 중요한 의미를 갖는다. 첫째, 억제성 상호작용은 효소 유도 때와 달리 작용의 발현이 매우 빠르게 나타난다. 둘째, 최대로 억제되는데 걸리는 시간은 두 약물을 투여하였을 때 새로운 항정상태에 도달하는 정도에 따라 좌우된다. 대개는 투여된 약물의 새로운 반감기의 4-5배 지난 후에 최대 효과가 나타난다. 셋째, 약물 상호작용이 일어나는지의 여부는 투여된 용량에 따라 달라진다¹³⁾. 넷째, 환자의 질병 상태가 경우에 따라서는 억제성 약물 상호작용의 감수성을 증가시킬 가능성이 있다¹⁴⁾. 다섯째, 억제성 상호작용이 racemic mixture인 경우에 선택적으로 하나의 enantiomer에만 영향을 줄 수 있다. 이 경우에 치료 효과에는 차이가 나타나나 약동학적 면에서는 변화가 없을 수 있으므로 혈중 약물 농도 측정시 그 해석에 주의를 기울여야 한다¹⁵⁾. 이와 같이 여러가지로 나타나는 상호작용이 언제나 해로운 방향으로만 진행되는 것은 아니고, 때로는 이로온 결과를 초래하기도 한다.

Acetaminophen을 cimetidine과 병용할 경우, acetaminophen의 대사과정 중 생성되는 독성이 강한 산화 대사물질을 cimetidine이 억제하므로 이는 acetaminophen의 중독시 치료에 유리하게 작용할 수 있다¹⁶⁾.

지금까지 알려져 있는 수많은 약물들에 대해 유도성이나 억제성의 상호작용들이 알려져 있는데, 그 예를 모두 기억하는 것은 불가능 하다. 그러나 유도성 및 억제성 약물 상호작용의 기전을 이해하고, 지금까지 연구가 많이 진행된 약물대사 효소들에 대한 기질 약물들과 특정 약물대사효소 유도제 및 억제제를 상기하면, 실제로 약물 병용투여시 생길 수 있는 상호작용을 미리 짐작해 볼 수 있고, 필요한 경우 이들 약물의 병용을 피할 수 있다. 또한 최근 들어 부각되는 개인간 약물대사 능력의 유전적 차이를 함께 고려한다면, 더욱 적정 약물치료에 접근할 수 있으리라 생각된다.

References

1. Lazarou J, Pomeranz BH, Corey PN. *Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients: a meta-analysis of prospective studies. J Am Med Assn* 1998;279:1200-1205
2. Stockley IH. *Drug Interactions*. 3rd ed. Blackwell Scientific Publications, London, UK, 1-14, 1994
3. Okey AB. *Enzyme induction in the cytochrome p-450 system. Pharmacol Ther* 1990; 45:241-298
4. Koch-Weser J, Sellers EM. *Drug interactions with coumarin anticoagulants. N Eng J Med* 1971;285:487-498
5. Romankiewicz JA, Ehrman M. *Rifampin and warfarin: a drug interaction. Ann Intern Med* 1975;82:224-225
6. Bertilsson L, Lou Y-Q, Du Y-L, Liu Y, Kuang T-Y, Liao X-M, Wang K-Y, Reviriego J, Iselius L,

- Sjogvist F. *Pronounced differences between native Chinese and Swedish populations in the polymorphic hydroxylations of debrisoquin and S-mephenytoin.* Clin Pharmacol Ther 1992;51:388-397
7. Andersson T, Cederberg C, Edvardsson G. *Effect of omeprazole treatment on diazepam plasma levels in slow versus normal rapid metabolizers of omeprazole.* Clin Pharmacol Ther 1990;47:79-85
8. Kalow W, Bertilsson L. *Interethnic factors affecting drug response.* Adv Drug Res 1994; 25:1-53
9. Brosen K, Skjelbo E, Rasmussen BB, Poulsen HE, Loft S. *Fluvoxamine is a potent inhibitor of cytochrome P4501A2.* Biochem Pharmacol 1993;45:1211-1214
10. Jerling M, Lindstrom L, Bondesson U, Bertilsson L. *Fluvoxamine inhibition and carbamazepine induction of the metabolism of clozapine: evidence from a therapeutic drug monitoring service.* Ther Drug Monit 1994;16:368-374
11. Schadel M, Wu D, Otton SV, Kalow W, Sellers EM. *Pharmacokinetics of dextromethorphan and metabolites in human: influence of the CYP2D6 phenotype and quinidine inhibition.* J Clin Psychopharmacol 1995;15:263-269
12. Halpert JR, Guengerich FP, Bend JR, Correia MA. *Contemporary issues in toxicology: Selective inhibitors of cytochrome P450.* Toxicol App Pharmacol 1994;125:163-175
13. Manfred RL, Vesell ES. *Inhibition of theophylline metabolism by long-term allopurinol administration.* Clin Pharmacol Ther 1981; 29:224-229
14. Rollingshoff W, Paumgartner G. *Inhibition of drug metabolism by cimetidine in man: dependence on pretreatment microsomal liver function.* Eur J Clin Invest 1982;12:429-434
15. Toon S, Low LK, Gibaldi M, Trager WF, O'Reilly RA, Motley CH, Goulart DA. *The warfarin-sulfinpyrazone interaction: stereochemical considerations.* Clin Pharmacol Ther 1986; 39:15-24
16. Mitchell MC, Schneck S, Speeg KV. *Selective inhibition of acetaminophen oxidation and toxicity by cimetidine and other histamine H₂ receptor antagonists in vivo and in vitro in the rat and in man.* J Clin Invest 1984;73: 383-391