

Inmunosupresión profiláctica con ciclosporina y gammaglobulina antitimocítica en el trasplante renal. Estudio comparativo

N. R. Robles, F. Anaya, R. Jofre y F. Valderrábano

Servicio de Nefrología. Hospital General Gregorio Marañón. Madrid.

RESUMEN

Se han estudiado los resultados en cuanto a supervivencia, duración de la oligoanuria y función del trasplante en 86 trasplantes renales de cadáver; 44 de ellos fueron considerados receptores de alto riesgo; de ellos, 22 presentaron oligoanuria postrasplante y fueron tratados inicialmente con gammaglobulina antitimocítica (GAT), pasándose posteriormente a administrar ciclosporina A (CyA) con el objeto de intentar disminuir la nefrotoxicidad por este último medicamento; otros 22 presentaron diuresis inmediatamente postrasplante y fueron tratados con CyA desde el primer momento; los 42 restantes no presentaban factores de riesgo y fueron tratados con azatioprina. Todos los grupos recibieron simultáneamente prednisona en dosis decrecientes. No hubo diferencias en la duración de la oligoanuria entre los pacientes de alto riesgo ($13,8 \pm 5,3$ en los tratados con GAT frente a $12,8 \pm 2,2$ días en los tratados con CyA), pero ésta fue significativamente menor en los pacientes tratados con azatioprina ($8,3 \pm 1,27$ días) ($p < 0,05$). No hubo diferencias en la supervivencia anual entre trasplantes de alto y bajo riesgo (81,8 frente a 78,5 %), pero sí entre los injertos de alto riesgo tratados con GAT (72,7 %) y los tratados con CyA (90,9) ($p < 0,05$). La creatinina sérica estaba significativamente aumentada a los tres meses en los pacientes tratados con CyA (con o sin GAT) ($2,05 \pm 0,2$ mg/dl.) frente a los pacientes tratados con azatioprina ($1,56 \pm 0,2$ mg/dl.) ($p < 0,01$). Se concluye que no existen razones para seguir utilizando inmunosupresión con azatioprina, salvo contraindicaciones de la CyA. La terapia secuencial con GAT-CyA no ofrece ninguna ventaja sobre la CyA sola. La peor función renal de los pacientes tratados con CyA justificaría la conversión tardía a triple inmunosupresión.

Palabras clave: **Ciclosporina. Gammaglobulina antitimocítica. Azatioprina. Oligoanuria. Trasplante renal.**

PROPHYLACTIC IMMUNOSUPPRESSION WITH CYCLOSPORIN AND ANTITHYMOCYTIC GLOBULIN IN RENAL TRANSPLANT RECIPIENTS. A COMPARATIVE STUDY

SUMMARY

We studied the survival, duration of oligoanuric period and function of the graft in 86 kidney transplantations from cadaveric donors 44 patients were considered as

Correspondencia: Dr. F. Valderrábano Quintana.
Servicio de Nefrología.
Hospital General Gregorio Marañón.
Doctor Esquerdo, 46.
28007 Madrid.

high risk recipients of those, 22 developed oligoanuria after grafting and were initially treated with antithymocyte globulin (ATG). After a short lapse of time, immunosuppression was carried on with cyclosporine (CyA) at a dose designed to minimize the nephrotoxicity of the drug. The other 22 patients had a diuresis immediately after transplantation and were given cyclosporine from the time of transplant. The remaining 42 patients did not show any risk factor and they received azathioprine. All groups were treated simultaneously with prednisone in decreasing dosage. There were no differences in the duration of oligoanuria between high risk recipients treated with ATG-CyA and CyA alone (13.8 ± 5.3 vs 12.8 ± 2.2 days); but the duration of acute tubular necrosis was significantly shorter in the patients treated with azathioprine (8.3 ± 1.3 days) ($p < 0.05$). Neither was there any difference in one year survival between high risk grafts and low risk ones (81,8 % vs 78.5 %); but graft survival was significantly better in recipients treated with CyA alone than in those treated with ATG-CyA (90.9 % vs 72.7 %) ($p < 0.05$). Plasma creatinine was significantly increased three months after grafting in the patients treated with CyA with or without ATG (CyA 2.05 ± 0.2 mg/dl vs azathioprine 1.56 ± 0.2 mg/dl) ($p < 0.01$). It is concluded that there is no current reason to continue using azathioprine, for immunosuppression after kidney transplantation except in patients with contraindications to CyA. Sequential therapy with ATG-CyA does not offer any advantage over CyA alone as immunosuppressive. The worse renal function of CyA-treated graft could justify the late conversion to triple immunosuppression.

Key words: **Cyclosporine. Antithymocytic globulin. Azathioprine. Oligoanuria. Kidney transplantation.**

Introducción

Desde 1979¹, la ciclosporina A ha centrado la atención de los grupos interesados en el trasplante como nuevo y potente inmunosupresor. El uso de CyA obtiene una notable mejoría de la supervivencia del injerto respecto a la terapéutica convencional con azatioprina²⁻⁴, aun cuando pueden hallarse datos discordantes en la literatura⁵. Además, el uso de CyA parece asociarse a un menor número de crisis de rechazo y una inferior incidencia de infecciones respecto al tratamiento estándar⁶.

Como contrapartida, la CyA es nefrotóxica y hepatotóxica, entre otros efectos secundarios, habiéndose demostrado la prolongación de la oligoanuria postrasplante en enfermos tratados con esta droga^{4, 7-9}. Se ha señalado también la existencia de cifras de creatinina más elevadas en estos receptores a cualquier tiempo postrasplante y mayor dificultad para el tratamiento de la hipertensión arterial^{3, 5, 10}. Este efecto nefrotóxico se detecta con mayor frecuencia en pacientes a los que se les administra simultáneamente otras drogas nefrotóxicas, como antibióticos, aminoglucósidos, cotrimoxazol o anfotericina B, entre otros¹¹. Como consecuencia se han publicado diversos protocolos que intentaban disminuir la toxicidad aguda y/o crónica de la CyA^{10, 12-14}. Así,

prontamente (1982) se sugirió la idea de reservar la CyA para aquellos trasplantes que tuvieran diuresis inicial¹⁵, y siguiendo esta línea de pensamiento, algunos autores^{12, 13} han sugerido la utilidad de un período de tratamiento limitado con gammaglobulina antitimocítica como inmunosupresión alternativa durante la primera o segunda semana postrasplante, procediendo posteriormente a introducir la CyA en el tratamiento y suspendiendo la GAT.

En nuestro estudio hemos comparado los resultados obtenidos utilizando diversos protocolos de inmunosupresión en injertos renales de donante cadáver. Dos de las pautas fueron aplicadas a pacientes de alto riesgo: aquellos casos con diuresis inmediata postrasplante fueron tratados con CyA desde el principio; los que presentaron oligoanuria inicial recibieron GAT durante los diez primeros días postrasplante y posteriormente CyA. Los pacientes considerados de bajo riesgo fueron tratados convencionalmente con azatioprina. El objetivo de nuestro estudio fue mejorar nuestros resultados utilizando CyA en los pacientes de alto riesgo, intentando simultáneamente minimizar la toxicidad inicial por CyA en los pacientes oligoanúricos con terapia secuencial con GAT-CyA y, finalmente, comparar los resultados obtenidos con estas drogas y los conseguidos con inmunosupresión estándar en pacientes de bajo riesgo.

Material y métodos

Entre enero de 1986 y junio de 1987 se realizaron 86 trasplantes de donante cadáver en nuestra institución. Todos los injertos fueron conservados en frío con Euro-Collins. Los receptores tenían una edad media de treinta y nueve años de edad (diecisiete a cincuenta años), siendo 51 hombres y 35 mujeres. Cuarenta y cuatro pacientes fueron considerados de alto riesgo de acuerdo con alguno de los siguientes criterios: retrasplantes, hiperinmunizados (más de 50 % de anticuerpos linfocitotóxicos en alguna determinación), diabéticos, no transfundidos o respondedores (aquellos que habían recibido más de 10 transfusiones sanguíneas postrasplante y desarrollado más de 10 % de anticuerpos linfocitotóxicos). Otros 42 enfermos reunían las características de pacientes de bajo riesgo; todos ellos recibían su primer trasplante, habían recibido transfusiones pretrasplante y tenían menos de 5 % de anticuerpos linfocitotóxicos frente a panel.

Los pacientes fueron inmunosuprimidos de acuerdo a uno de los siguientes protocolos:

Pacientes de alto riesgo

Protocolo 1. Los pacientes con función inmediata del injerto recibieron CyA i.v. (5 mg/kg.) el primer día postrasplante, seguida por CyA v.o. (8-10 mg/kg/día) y prednisona (PDN) (2,5 mg/kg. en quirófano, 1 mg/kg. el siguiente día y luego disminución progresiva hasta 0,5 mg/kg/día a las dos semanas y 0,3 mg/kg/día al mes). Veintidós pacientes (14 hombres y ocho mujeres) entraron en este protocolo. La edad media fue de treinta y cinco años (17-60), y los factores de riesgo presentes en estos pacientes fueron los siguientes: segundo trasplante, cuatro pacientes; diabéticos, cinco; no transfundidos, uno; respondedores, ocho casos.

Protocolo 2. Los pacientes con oligoanuria inicial postrasplante fueron tratados con GAT i.v. (Atgam®), 10 mg/kg/día los diez días inmediatamente posteriores al trasplante. A partir del octavo día se inició la administración de CyA v.o. (8-10 mg/kg/día). Los pacientes fueron tratados con PDN desde el primer día a las mismas dosis que en el protocolo 1. Veintidós pacientes fueron objeto de este tratamiento (14 hombres y ocho mujeres), edad media, 43,9 años, entre veinticinco y cincuenta y seis; de ellos, 10 eran retrasplantados (siete recibían su segundo trasplante, dos el tercero y uno su cuarto trasplante), nueve eran hiperinmunizados, dos no habían recibido ninguna transfusión de sangre y seis eran respondedores.

Pacientes de bajo riesgo

Protocolo 3. Los pacientes de bajo riesgo recibían azatioprina (2,5 mg/kg/día) y PDN (2,5 mg. en

quirófano, 1 mg/kg/día desde el día siguiente, disminuyendo progresivamente hasta 0,5 mg/kg/día al mes). Cuarenta y dos pacientes fueron incluidos en esta categoría (23 hombres y 19 mujeres); edad media, cuarenta años, entre diecisiete y cincuenta y nueve. Veintiséis de ellos tuvieron función renal desde el trasplante y 16 sufrieron oligoanuria.

Tratamiento del rechazo agudo

El rechazo agudo fue tratado con 1 g. de metilprednisolona i.v. en tres días consecutivos. Si el rechazo resultaba ser corticorresistente y la biopsia demostraba lesiones de endovasculitis aguda se realizaba un total de seis sesiones de plasmaféresis de acuerdo con nuestro protocolo ya publicado¹⁶.

Resultados

Duración de la oligoanuria

La duración media de la oligoanuria en los pacientes de alto riesgo tratados de forma secuencial con GAT-CyA (protocolo 2) ($n = 22$) fue $13,7 \pm 5,3$ días (uno a noventa y seis días). Cinco pacientes con diuresis inicial postrasplante evolucionaron con oligoanuria en el segundo o tercer día del postoperatorio inmediato. En estos pacientes se continuó el tratamiento con CyA y prednisona según el protocolo 1;

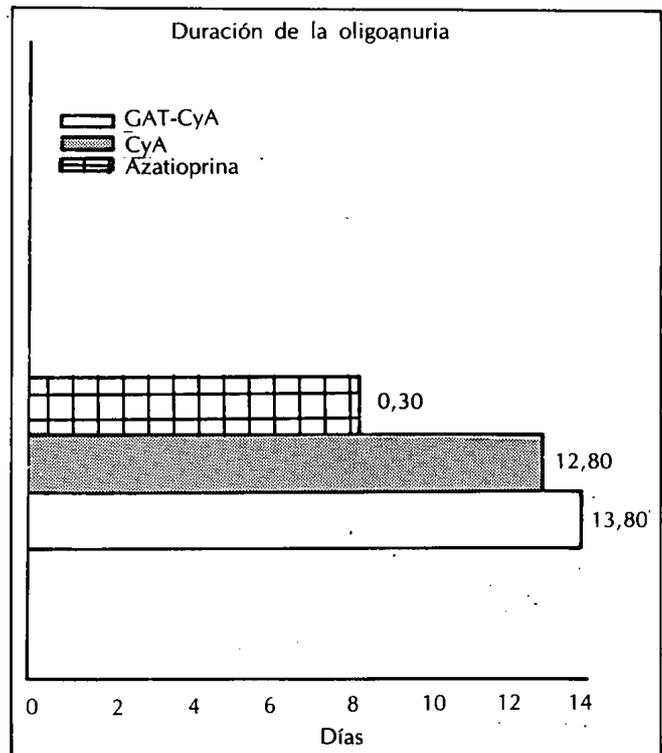


Fig. 1.—Duración de la oligoanuria.

la duración media de la oligoanuria en este grupo fueron $12,8 \pm 2,2$ días (de nueve a veinte días) (diferencia no significativa con los pacientes tratados con el protocolo 2) (fig. 1). Hubo un total de 27 pacientes oligoanúricos en el grupo de alto riesgo (63,1 %).

Dieciséis pacientes de bajo riesgo (protocolo 3) no tuvieron función renal inicial. La duración media de la oligoanuria en estos 16 pacientes fue de $8,3 \pm 1,27$ días (dos a dieciséis días), alcanzando esta diferencia significación estadística respecto a los pacientes tratados secuencialmente con GAT-CyA ($p < 0,01$). La incidencia de oligoanuria en pacientes de bajo riesgo fue del 38 %, menor que en los pacientes de alto riesgo (fig. 1) (tabla I).

Tiempo de isquemia fría

En los pacientes de alto riesgo el tiempo de isquemia fría fue similar en pacientes oligoanúricos ($29,09 \pm 1,7$ horas) que en pacientes con injerto funcionante desde el principio ($28,05 \pm 1,2$ horas). Por el contrario, el tiempo medio de isquemia fría en los pacientes de bajo riesgo fue mayor en los oligoanúricos ($32,9 \pm 1,5$ horas) que en aquellos con función inicial del trasplante ($28,5 \pm 1,8$ horas) ($p < 0,05$) (tabla I).

Incidencia del rechazo agudo

En el grupo de receptores de alto riesgo presentaron crisis de rechazo 13 de 22 pacientes (59 %) tratados con GAT-CyA (protocolo 2), pero sólo en nueve de 22 (40 %) pacientes tratados únicamente con CyA (protocolo 1). Episodios consecutivos de rechazo agudo fueron vistos en un 18 % de enfermos tratados con GAT-CyA, demostrándose en un 9 % la presencia de rechazo vascular (endovasculitis aguda en biopsia). Únicamente un 9 % de los pacientes de alto riesgo tratados con CyA mostraron episodios consecutivos de rechazo agudo, y rechazo vascular fue encontrado en un 9 % (fig. 2).

En los pacientes de bajo riesgo tratados convencionalmente con azatioprina aparecieron crisis de rechazo en 27 de 42 enfermos (64 %), frecuencia significativamente superior que en los pacientes de alto

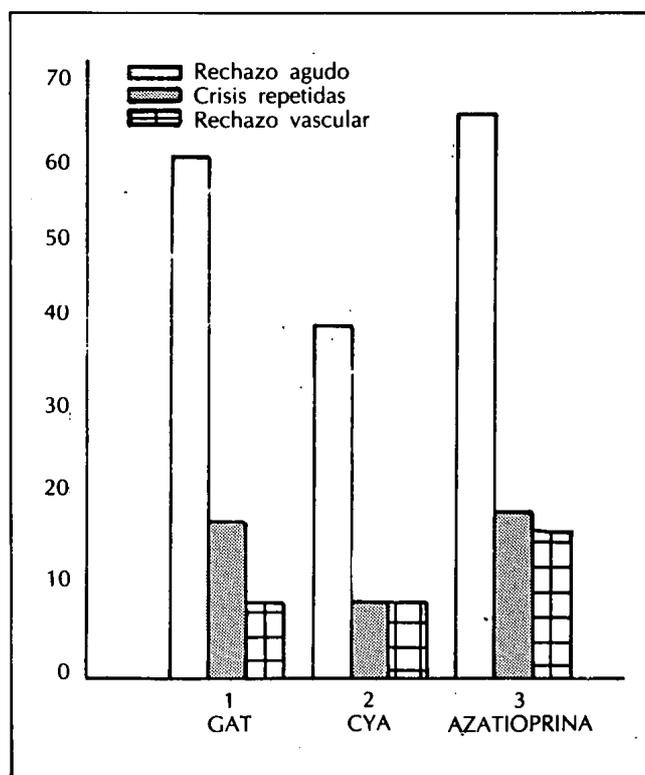


Fig. 2.—Porcentaje de primeras crisis de rechazo, segundas crisis y rechazos vasculares en cada grupo de tratamiento.

riesgo tratados sólo con CyA ($p < 0,05$). Episodios consecutivos de rechazo fueron observados en ocho (19 %) y rechazo vascular en siete (16 %), no hallándose diferencias significativas entre pacientes oligoanúricos y no oligoanúricos (fig. 2).

Tiempo de aparición del rechazo agudo

Es importante subrayar que el tiempo de aparición del primer episodio de rechazo agudo fue muy variable en cada grupo de pacientes. En los enfermos de bajo riesgo con azatioprina estuvo entre tres y ciento ochenta días. En los receptores de alto riesgo tratados con CyA por presentar diuresis fue de cinco a sesenta días. No obstante, en los trasplantados de alto riesgo sometidos a terapia secuencial con GAT-CyA, el pri-

Tabla I

	n	Diuresis	Oligoanuria	Duración oligoanuria	T.º de isquemia fría
Pacientes alto riesgo:					
CyA (protocolo 1)	22	17	5	$12,8 \pm 2,2$	$28,5 \pm 1,2$
GAT-CyA (protocolo 2)	22	0	22	$13,8 \pm 5,3$ *	$29,1 \pm 1,7$
Pacientes bajo riesgo:					
Azatioprina (protocolo 3)	42	26	16	$8,3 \pm 1,27$ *	$32,9 \pm 1,5$

* $p < 0,01$.

mer episodio de rechazo agudo (n = 13) apareció entre el día décimo y vigésimo noveno postrasplante, es decir, en los diecinueve días inmediatamente siguientes a la interrupción de la GAT.

Supervivencia del injerto

La supervivencia porcentual al año según la curva de supervivencia fue ligeramente mejor en los pacientes de alto riesgo (81,8 %) que en los receptores de bajo riesgo (78,5 %) (diferencias no significativas). Los pacientes de riesgo elevado oligoanúricos tratados con GAT-CyA tuvieron una menor supervivencia (72,7 %) que aquellos con función inicial del injerto (protocolo 1) (90,9 %) ($p < 0,05$). Estos últimos consiguieron la mejor supervivencia tardía del injerto en todos los grupos, a pesar de los factores de mal pronóstico presentes en estos enfermos (fig. 3).

Supervivencia de los pacientes

La supervivencia de los trasplantados no fue diferente entre pacientes de alto y bajo riesgo (95,4 % frente a 98 %), pero la menor supervivencia de los enfermos fue en el grupo de alto riesgo oligoanúricos (90,9 %), y la más alta, en el grupo de alto riesgo no oligúrico (100 %).

Creatinina sérica

La creatinina sérica medida a los tres meses pos-

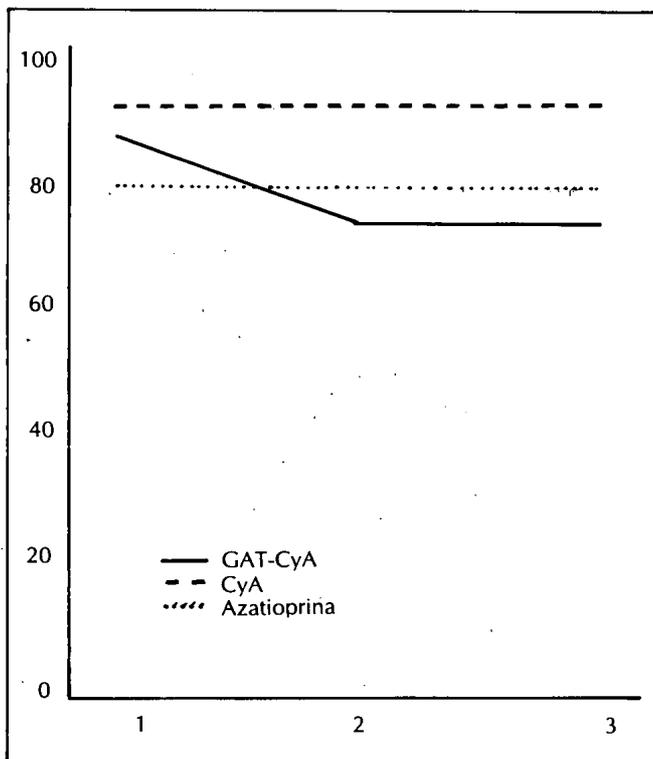


Fig. 3.—Curva de supervivencia anual del injerto de cada grupo de tratamiento.

trasplante fue significativamente superior en los pacientes tratados con CyA (con o sin GAT): 2,05 mg/dl. \pm 0,2 que en los pacientes de bajo riesgo con inmunosupresión convencional: 1,56 mg/dl. \pm 0,2 ($p < 0,01$).

Discusión

El análisis de nuestros resultados sugiere que el tratamiento sucesivo con GAT y CyA no disminuye la duración de la oligoanuria en los pacientes sin función inicial del injerto después del trasplante, pese a la ausencia de efecto nefrotóxico de la GAT. Debe subrayarse que los pacientes tratados con este protocolo fueron enfermos de riesgo muy elevado. En este sentido, los pacientes tratados con GAT mostraban mayores factores de riesgo que aquellos tratados con CyA (así, por ejemplo, en el grupo no oligoanúrico de pacientes de alto riesgo no hubo ningún individuo que tuviera dos factores de riesgo y no existían hiperinmunizados), y éste es un factor cuya importancia es difícil de determinar. No obstante, la duración de la oligoanuria fue similar en ambos grupos tratados con CyA y supera significativamente el tiempo de oligoanuria de los inmunosuprimidos con azatioprina. Nuestro resultado difiere, por tanto, del conseguido por otros ensayos clínicos con terapia secuencial^{13, 14}. Podría argumentarse que la GAT debería mantenerse hasta la resolución de la oligoanuria, iniciándose entonces la administración de CyA, pero es importante señalar la mala tasa anual de supervivencia del injerto obtenida con esta estrategia por otros grupos¹⁵, y, en la misma línea, la supervivencia anual de los injertos tratados secuencialmente con GAT-CyA por nosotros fue la más baja de todos los grupos, como discutimos más adelante. Destacamos que la oligoanuria postrasplante fue más frecuente y prolongada en los pacientes de riesgo elevado, pese a que el tiempo de isquemia fría de los injertos sin función inicial en pacientes de bajo riesgo fue significativamente mayor. La oligoanuria inicial ha sido considerada como mal factor pronóstico de la supervivencia del trasplante a largo plazo^{8, 17, 18}; a la vista de nuestros resultados parece posible confirmar esta relación negativa. No obstante, la oligoanuria fue más frecuente y más larga en los pacientes que mostraban antecedentes de riesgo elevado; habría que preguntarse si estamos ante el huevo o la gallina.

De acuerdo con los buenos resultados publicados de la CyA en casuísticas más amplias que la nuestra²⁻⁴, la incidencia de crisis de rechazo y pérdidas de injerto al año fue menor en los pacientes tratados con CyA (enfermos de alto riesgo) que en los tratados convencionalmente con azatioprina (receptores de bajo riesgo). Esta diferencia no fue significativa estadísticamente, pero nos parece importante dado el

sesgo producido por la presencia de importantes factores de riesgo en los pacientes tratados con CyA.

Dentro del grupo de pacientes de alto riesgo, el subgrupo de pacientes tratados con GAT mostró mayor incidencia de crisis de rechazo agudo y peor supervivencia del injerto que aquellos con función inicial del trasplante tratados con CyA desde el primer día. Es importante enfatizar que en aquellos receptores la crisis de rechazo agudo apareció siempre en los días inmediatamente siguientes a la suspensión de la GAT, sugiriendo que la inmunosupresión con GAT es efectiva, pero supresión conlleva un importante riesgo de rechazo. Diversas razones pueden justificar esta situación. Trabajos experimentales apoyan la hipótesis de que la ciclosporina A debe estar presente en el momento de la exposición al antígeno para ser eficaz como inmunosupresor¹⁹; no es éste realmente el momento en que se usa en nuestro protocolo. Además, para evitar, una vez más, la nefrotoxicidad estamos utilizando dosis bajas de CyA que acaso podrían no ser suficientes, especialmente tras la retirada de la GAT.

No hubo diferencias significativas de mortalidad entre los diversos grupos de tratamiento. La creatinina sérica fue mayor en los pacientes tratados con CyA, al igual que sucede en otros estudios publicados previamente^{4, 5}. Los efectos nefrotóxicos crónicos de la CyA no han sido objeto de estudio, pero participamos de la preocupación que dicho tema suscita en nuestra especialidad¹⁰.

Como conclusiones creemos que no existen razones para continuar utilizando inmunosupresión convencional con azatioprina, salvo que existan contraindicaciones importantes al uso de la CyA, ya que hemos obtenido mejores resultados en los pacientes de alto riesgo tratados con CyA que en los de bajo riesgo inmunosuprimidos con azatioprina. Además, el tratamiento secuencial con GAT-CyA no aporta ninguna ventaja sobre la CyA y se asocia a una incidencia de crisis de rechazo agudo mayor que con la CyA sola, por lo cual desaconsejamos su uso como tratamiento profiláctico inmunosupresor. Por último, la peor función renal de los pacientes tratados con CyA respecto a los que recibieron inmunosupresión estándar alerta sobre las consecuencias de la nefrotoxicidad crónica por CyA y podría justificar la conversión tardía a triple inmunosupresión.

Bibliografía

1. Calne RY, Rolles K, White DJG et al: Cyclosporin A initially as the only immunosuppressant in 34 recipients of cadaveric organs: 32 kidneys, 2 pancreases and 2 livers. *Lancet* 1:1033-1036, 1979.
2. European Multicentre Trial Group: Cyclosporin A as sole immunosuppressive agent in recipients of kidney allografts from cadaver donors. Preliminary results of a European Trial. *Lancet* 2:57-63, 1982.
3. European Multicenter Trial Group: Cyclosporine A in cadaveric renal transplantation: One year follow-up of a multicentre trial. *Lancet* 2:896-899, 1982.
4. The Canadian Multicenter Transplant Study Group: A randomized clinical trial of cyclosporin in cadaveric renal transplantation. *N Engl J Med* 309:809-815, 1983.
5. Lloveras J, Macía I, Masramón J et al: Estudio comparativo de los resultados de la inmunosupresión con azatioprina-suero antilinfocitario frente a ciclosporina en el trasplante renal. *Nefrología* 6:55-62, 1986.
6. Ferguson RH y Sommer BG: Cyclosporine in renal transplantation: A single institutional experience. *Am J Kidney Dis* 6:296-306, 1985.
7. Carpenter BJ, Rosenthal JT, Taylor RJ y Hakala TR: The impact of acute tubular necrosis on graft outcome in patients receiving cyclosporine. *Transplant Proc* 17:1282-1283, 1985.
8. Cho SI, Zalneraitis BP, Franklin C y Bradley JW: The influence of acute tubular necrosis in kidney transplant survival. *Transplant Proc* 17:16-17, 1985.
9. Calne RY, Thiru S, McMaster P et al: Cyclosporin A in patients receiving renal allografts from cadaver donors. *Lancet* 2:1323-1326, 1978.
10. Valera A, González Molina M, Cabello M et al: Sustitución de ciclosporina por azatioprina en trasplante renal. Resultados al año. *Nefrología* 7:163-168, 1987.
11. Bennett WM: Cyclosporine nephrotoxicity. *Ann Intern Med* 99:851-870, 1983.
12. Kupin WL, Venkatachalam KK, Oh HK, Dienst S y Levin NW: Sequential use of Minnesota antilymphoblast globulin and cyclosporine in cadaveric renal transplantation. *Transplantation* 40:601-608, 1985.
13. Sommer BG, Henry ML y Ferguson RM: Sequential antilymphoblast globulin and cyclosporine for renal transplantation. *Transplant Proc* 19:1879-1880, 1987.
14. Kupin WL, Venkatachalam KK, Oh HK, Dienst S y Levin NW: Use of cyclosporine and Minnesota globulin in the early postoperative treatment of primary cadaveric renal transplant recipients. *Transplant Proc* 19:1882-1883, 1987.
15. Calne RY y White DJG: The use of cyclosporin A in clinical organ grafting. *Ann Surg* 196:330-337, 1982.
16. Franco A, Anaya F, Niembro E, Ahijado F, Luño J y Valderrábano F: Plasma exchange in the treatment of vascular rejection. Relationship between histological changes and therapeutic response. *Transplant Proc* 19:3661-3663, 1987.
17. Sanfilippo F, Vaughn WK, Spees EK y Lucas BA: The effects of delayed graft function on renal transplantation. *Transplant Proc* 17:13-15, 1985.
18. Anderson CB, Sicard GA y Etheredge EE: Delayed renal function and long-term cadaver renal allograft survival. *Transplant Proc* 11:482-485, 1979.
19. Cohen DJ, Loertscher R, Rubin MF, Tilney NL, Carpenter CB y Strom TB: Cyclosporine: a new immunosuppressive agent for organ transplantation. *Ann Intern Med* 101:667-682, 1984.