

## Original

# Intoxicación por plomo en el occidente asturiano (II): Tratamiento quelante con ácido 2,3-dimercaptosuccínico (DMSA)

C. LOZA CORTINA

*Servicio de Pediatría. Hospital Comarcal de Jarrío. Coaña. Asturias*

### RESUMEN

**Objetivo:** Valorar la respuesta al tratamiento quelante con ácido dimercaptosuccínico (DMSA) en niños con una intoxicación por plomo de moderada a severa y comparar la evolución de uno de ellos con el caso de un niño que no recibió tratamiento.

**Pacientes y métodos:** Se revisaron retrospectivamente los casos de tres niños sometidos a tratamiento quelante con DMSA, de 9, 3 y 1 años de edad. La evolución del caso de un año de edad se comparó con la de otro de siete meses de edad que no recibió tratamiento. Periódicamente, se hacían controles analíticos en sangre y orina para evaluar distintos parámetros (plomo, zinc protoporfirina, ácido gamma amino-levulínico, coproporfirinas, etc.).

**Resultados:** Dos de los pacientes, los más jóvenes, respondieron a la primera tanda de tratamiento, con una reducción del plomo tras el rebote del 28 y el 33%, mientras que el tercer paciente, con una reducción del 19%, no respondió. El tratamiento fue muy bien tolerado en los tres casos. A los diez meses, la diferencia entre la disminución de la plumbemia del caso tratado y no tratado era mínima, del 59 y 52%, respectivamente.

**Conclusiones:** El tratamiento quelante con DMSA en niños con intoxicación por plomo es eficaz y bien tolerado. Al comparar el perfil de las plumbemias al cabo de diez meses entre dos casos de edades similares, uno tratado y otro no tratado, surge la duda en cuanto a la necesidad de iniciar o no el tratamiento de forma inmediata, aunque, naturalmente,

al tratarse solamente de dos casos, esta aseveración ha de permanecer en el terreno de las conjeturas.

**Palabras clave:** Plomo. Intoxicación. Ácido dimercaptosuccínico.

### LEAD POISONING IN WESTERN ASTURIAS (II): CHELATING TREATMENT WITH 2,3 DIMERCAPTOSUCCINIC ACID (DMSA)

#### ABSTRACT

**Objective:** To assess the response to chelation therapy with dimercapto-succinic acid (DMSA) in children with moderate to severe lead poisoning and to compare the evolution of one of them with the case of a child who did not receive any treatment.

**Patients and methods:** We reviewed retrospectively the cases of three children who received chelation therapy, of 9, 3 and 1 years of age. The evolution of the one-year old case was compared with that of a seven-month old infant who did not receive any treatment. Periodically, blood and urine analytic controls were carried out to evaluate different parameters (lead, zinc protoporphyrin, gamma amino-levulinic acid, coproporphyrins, etc.).

**Results:** The two youngest patients responded to the first course of treatment, with a blood lead reduction after the rebound of 28% and 33%, whereas the third patient, with a reduction of 19%, did not respond. All three cases tolera-

*Correspondencia:* C. Loza Cortina. Servicio de Pediatría. Hospital Comarcal de Jarrío. 33719 Coaña. Asturias

*Recibido:* Diciembre 1999 *Aceptado:* Febrero 2000

ted very well the treatment. Ten months later, the difference between the blood lead reduction in the case treated and and not treated was minimal, 59% and 52% respectively.

**Conclusions:** Chelation therapy with DMSA in children is effective and well tolerated. When we compare the lead profile after ten months between two cases with similar age, one treated and the other not treated, doubts arise regarding the convenience of starting the treatment immediately, although, being only two cases as they are, this assertion must be considered as a conjecture.

**Key words:** Lead. Poisoning. Dimercapto-succinic acid.

## INTRODUCCIÓN

Los Centers for Disease Control (CDC) recomiendan monoterapia con ácido etil-etileno-diamino-tetra-acético (EDTA) para el tratamiento de niños asintomáticos intoxicados por plomo con concentraciones sanguíneas entre 45 µg/dL y 70 µg/dL<sup>(1)</sup>. A su vez, la Academia Americana de Pediatría (AAP) también recomienda, en los mismos casos, un régimen con monoterapia, bien con EDTA parenteral o con ácido dimercaptosuccínico (DMSA) oral<sup>(2)</sup>. Sin embargo, hay evidencia científica de que el uso de EDTA en régimen de monoterapia puede redistribuir el plomo acumulado en los huesos hacia el cerebro<sup>(3, 4)</sup>.

El DMSA viene usándose como quelante de metales pesados desde 1950, es muy poco tóxico y puede usarse por vía oral. Estudios recientes avalan la eficacia y la seguridad de este compuesto y recomiendan su uso como quelante de elección en las intoxicaciones por plomo<sup>(5)</sup>. Por otra parte, el DMSA quela el plomo de la sangre y los tejidos blandos, fundamentalmente<sup>(6-8)</sup>, lo que es particularmente relevante en el caso de los niños.

En la literatura médica son escasos los estudios sobre monoterapia con DMSA, por lo que cualquier nueva aportación, aunque sea escasa como la nuestra, puede ser interesante. En el presente trabajo presentamos la respuesta al tratamiento con DMSA en tres niños intoxicados por plomo y comparamos uno de estos casos con el de otro que, con niveles de plomo en sangre superiores, por diversas circunstancias no recibió tratamiento quelante, pero que evolucionó igualmente de forma satisfactoria.

TABLA I. CLASIFICACIÓN MODIFICADA DE LOS CDC

Pb en sangre µg/dL	ZPP en sangre (µg/dL)		
	35-74	75-174	>174
< 20	I	I	-
20-49	II	III	III
50-69	III	III	IV
> 69	-	IV	IV

Pb: plomo; ZPP: zinc protoporfirina

## PACIENTES Y MÉTODOS

### 1) Selección de pacientes

De un grupo de veinte pacientes controlados en nuestro hospital por intoxicación por plomo, se seleccionaron aquéllos que, según la clasificación de los CDC modificada (Tabla I), estuvieran en clase IV. Los pacientes en clase III con una edad menor de treinta meses o con clínica sugerente de plumbismo pasaban automáticamente a la clase IV.

Por otra parte, se comparó la evolución de uno de los casos tratados con la de otro paciente que, por diversas circunstancias ya comentadas en la primera parte de este trabajo, no recibió tratamiento quelante.

### 2) Tratamiento quelante y estudios de laboratorio (Tabla II)

Básicamente, se siguió la pauta de Besunder y colaboradores<sup>(9)</sup>, consistente en cinco días de tratamiento en régimen hospitalario y catorce días de tratamiento en régimen ambulatorio, de acuerdo con el siguiente protocolo:

**Día 0 (lunes):** Se inicia la recogida de orina de 24 horas a partir de las 8 horas a.m. Se solicita una radiografía de huesos largos (rodilla o muñeca) y una radiografía simple de abdomen.

**Día 1 (martes):** Finaliza la recogida de orina de 24 horas a las 8 horas a.m.; en esta orina se analizan parámetros de función renal y se determinan los niveles de ácido gamma amino-levulínico (ALA-D), coproporfirinas y uroporfobilinógenos. Extracción de sangre para hemograma, bioquímica completa para estudio de la función renal, pruebas hepáticas, ferritina, sideremia e índice de saturación.

Se inicia tratamiento con DMSA por vía oral a una dosis

TABLA II. RESUMEN DEL PROTOCOLO DE TRATAMIENTO

Día 0	Recogida de orina de 24 horas. Estudio radiográfico.
Día 1	Extracción de sangre para estudio bioquímico completo, función renal, pruebas hepáticas y metabolismo férrico. Se inicia el tratamiento oral con DMSA
Día 2	Recogida de orina de 24 horas
Día 3	Extracción de sangre para estudio de función renal.
Día 5	Última dosis del primer ciclo del tratamiento.
Día 6	Recogida de orina de 24 horas. Se inicia el segundo ciclo de tratamiento.
Día 7	Extracción de sangre para estudio de función renal, pruebas hepáticas y hemograma.
Día 14	Revisión clínica. Envío a laboratorio de la orina de 24 horas que el paciente ha traído de casa. Extracción de sangre para estudio de función renal, pruebas hepáticas y hemograma.
Día 19	Finaliza el tratamiento con DMSA.
Día 21	Revisión clínica. Envío a laboratorio de la orina de 24 horas que el paciente ha traído de casa. Extracción de sangre para estudio de la función renal, pruebas hepáticas, hemograma, ZPP y plomo.
Día 49	Revisión clínica. Extracción de sangre para hemograma, metabolismo férrico, ZPP y plomo.

de 10 mg/kg/8 horas. El tratamiento se mantiene durante cinco días en régimen hospitalario.

**Día 2 (miércoles):** Se inicia recogida de orina de 24 horas a las 8 horas a.m.

**Día 3 (jueves):** Finaliza la recogida de la orina de 24 horas a las 8 horas a.m.; en esta orina se analizan parámetros de función renal y plumburia. Extracción de sangre para estudio de la función renal.

**Día 5 (sábado):** A las 12 horas p.m., última dosis del primer ciclo de tratamiento.

**Día 6 (domingo):** Se inicia recogida de orina de 24 horas a las 8 horas a.m. y comienza el segundo ciclo del tratamiento, que tendrá una duración de catorce días, reduciendo la dosis de DMSA a 10 mg/kg/12 horas.

**Día 7 (lunes):** A las 8 horas a.m. finaliza la recogida de la orina de 24 horas; en esta orina se analizan parámetros de función renal, plumburia, ALA-D, coproporfirinas y uroporfobilinógenos. Extracción de sangre para estudio de la función renal, pruebas hepáticas y hemograma.

**Día 14 (lunes):** Revisión clínica. El paciente trae de su casa orina de 24 horas para estudio de la función renal, plumburia, ALA-D, coproporfirinas y uroporfobilinógenos. Extracción de sangre para estudio de la función renal, pruebas hepáticas y hemograma.

**Día 19 (sábado):** A las 12 horas p.m. finaliza el tratamiento con DMSA.

**Día 21 (lunes):** Revisión clínica. El paciente trae de su casa orina de 24 horas para estudio de la función renal, plumburia, ALA-D, coproporfirinas y uroporfobilinógenos. Extracción de sangre para estudio de la función renal, pruebas hepáticas, hemograma, ZPP y plomo.

**Día 49 (lunes):** Revisión clínica. Extracción de sangre para hemograma, ferritina, sideremia, índice de saturación, ZPP y plomo.

Posteriormente, se hacían chequeos de plomo en sangre con una periodicidad bimensual.

## RESULTADOS

Una vez suspendida la fuente de exposición, recibieron tratamiento quelante con DMSA tres pacientes (Tabla III). El caso nº 3, en función de los niveles de plomo y ZPP en sangre, estaría en clase III, pero, al tener menos de treinta meses de edad, se incluyó en la clase IV. El caso nº 1 estaba diagnosticado de hipercalciuria idiopática y el nº 3 de intolerancia a las proteínas de la leche de vaca. Ninguno de los tres pacientes presentó clínica sugerente de intoxicación por plomo.

La respuesta al tratamiento fue claramente positiva en los casos nº 2 y nº 3, mientras que el caso nº 1 precisó tres tandas de tratamiento (Tabla IV). Diez meses después del inicio del tratamiento, los casos nº 2 y nº 3 tenían unas plumbemias de 19,5 µg/dL (reducción del 72%) y 13,3 µg/dL (reducción del 59%), respectivamente. Dos años después del inicio del tratamiento, el caso nº 1 tenía una plumbemia de 34,3 µg/dL (reducción del 38%).

Comparando la respuesta a la primera tanda de tratamiento (Fig. 1), vemos que en la plumbemia de control del día 21 los tres casos presentaron una reducción similar, en torno al 40%: caso nº 1, 32 µg/dL (reducción del 42%); caso nº 2, 38 µg/dL (reducción del 45%); caso nº 3, 21,6 µg/dL (reducción del 42%). Posteriormente, en el control del día 49 se observa un incremento en los tres casos ("efecto rebo-

TABLA III. PERFIL DE LOS PACIENTES TRATADOS CON DMSA Y DEL NO TRATADO

Caso nº	Edad	Sexo	Zona	Fuente expos.	Grado	ZPP	Pb	I.Wintrobe	Met. Férrico	Clínica
1	9 a.	V	P. de Vega	Agua	IV	185	56	N	N	No
2	3 a.	M	P. de Vega	Agua	IV	236	70	D	D	No
3	1 a.	M	P. de Vega	Desconocida	IV	109	37,8	N	N	No
NT	7m	M	Luarca	Agua	IV	157,2	67,2	N	N	No

Fuente expos.: fuente de exposición. ZPP: zinc protoporfirina en sangre ( $\mu\text{g}/\text{dL}$ ). Pb: plomo en sangre ( $\mu\text{g}/\text{dL}$ ). I. Wintrobe: índices de Wintrobe. Met. Férrico: metabolismo férrico. N: normales. D: disminuidos. NT: no tratado.

TABLA IV. TENDENCIA EVOLUTIVA DE LOS VALORES DE PLOMO

	Caso nº 1			Caso nº 2			Caso nº 3			Caso NT		
Control nº 1	III	143	32*	II	67	38*	II	58	21,6*	IV	246	59,5
Control nº 2	III	117	45	III	86	50,4	II	71	25,3			
Control nº 3	III	126	52,1	III	82,2	28,8	II	55,9	27,2			
Control nº 4	II	74	46*	III	75,12	42,7	II	44,8	32,5			
Control nº 5	III	102,4	53,5	II	50,28	28,4	II	38	20,4	IV	87	59,5
Control nº 6	II	69,4	44,9*	II	58,8	33,1	I	36,4	15,8			
Control nº 7	II	61,1	30,4	II	48	40	II	34,7	20,1			
Control nº 8	III	77,5	49,7	II	38	31,2	I	22,1	14,2			
Control nº 9	III	78,8	34,3	I	30,8	19,5	I	26	15,3	II	46	32,1

Secuencia: Clase/ZPP ( $\mu\text{g}/\text{dL}$ )/Pb ( $\mu\text{g}/\text{dL}$ ). \*: valores de plomo inmediatamente después de cada tanda de tratamiento. NT: no tratado

te”), pasando el caso nº 1 de 32  $\mu\text{g}/\text{dL}$  a 45  $\mu\text{g}/\text{dL}$  (incremento del 40%), el caso nº 2 de 38  $\mu\text{g}/\text{dL}$  a 50,4  $\mu\text{g}/\text{dL}$  (incremento del 32%) y el caso nº 3 de 21,6  $\mu\text{g}/\text{dL}$  a 25,3  $\mu\text{g}/\text{dL}$  (incremento del 17%). Finalmente, en el control del día 109, el caso nº 1 presentó una reducción global del 7% (plumbemia de 52,1  $\mu\text{g}/\text{dL}$ ), el caso nº 2 del 58% (plumbemia de 28,8  $\mu\text{g}/\text{dL}$ ) y el caso nº 3 del 28% (plumbemia de 27,2  $\mu\text{g}/\text{dL}$ ).

El tratamiento fue muy bien tolerado en todos los casos y no se observaron efectos secundarios de ningún tipo. El medicamento utilizado, Chemet®, viene presentado en cápsulas de 100 mg de un tamaño relativamente grande, por lo que, para facilitar tanto la ingestión como la dosificación, fue preciso extraer el contenido de las mismas y administrarlo junto con las comidas, pues desprendía un olor particularmente desagradable.

Los chequeos bioquímicos, enzimáticos y hematológicos realizados a lo largo del tratamiento fueron normales, constatándose solamente fluctuaciones en la plum-

buria en consonancia con el aumento de la excreción de plomo.

En cuanto al perfil de las plumbemias del caso no tratado y del caso nº 3, que recibió una tanda de tratamiento con DMSA y que es el que tenía una edad más próxima a él, las tendencias (Fig. 2) fueron prácticamente paralelas y los porcentajes finales de disminución de los niveles de plomo en sangre fueron muy similares.

Al inicio, el caso tratado tenía una plumbemia de 37,8  $\mu\text{g}/\text{dL}$  frente a 67,2  $\mu\text{g}/\text{dL}$  del caso no tratado; considerando solamente las plumbemias de ambos casos obtenidas en periodos de tiempo similares (Tabla IV), se obtuvieron tres controles con los siguientes resultados: control-1 (a los 49 días), caso tratado 21,6  $\mu\text{g}/\text{dL}$  y caso no tratado 59,5  $\mu\text{g}/\text{dL}$  (esto supone una reducción de la plumbemia del 33% en el primer caso y del 11% en el segundo); control- 2 (a los 6 meses), caso tratado 20,4  $\mu\text{g}/\text{dL}$ , caso no tratado 59,5  $\mu\text{g}/\text{dL}$  (reducción de la plumbemia del 46 y del 11%, respectiva-

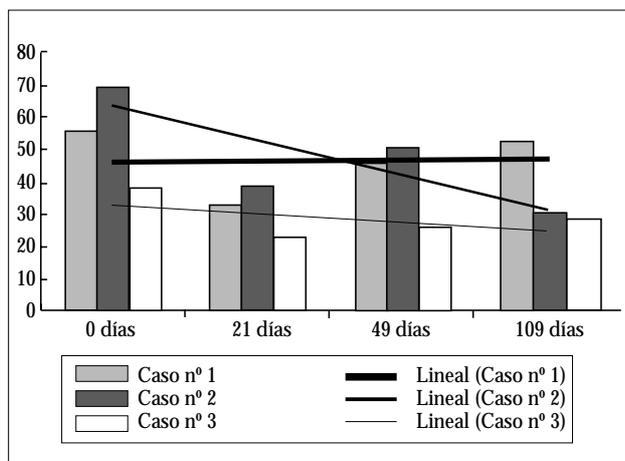


Figura 1. Respuesta al tratamiento con DMSA.

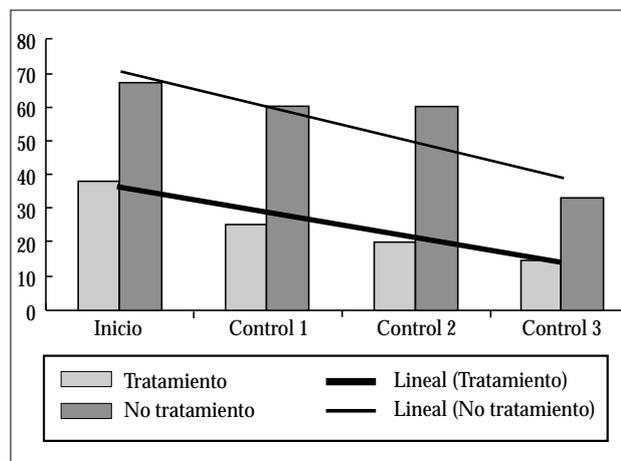


Figura 2. Evolución comparativa entre los casos tratados y no tratados.

mente); control-3 (a los 10 meses para el caso tratado y a los 12 meses para el caso no tratado), caso tratado 15,3 µg/dL, caso no tratado 32,1 µg/dL (reducción de la plumbemia del 59 y del 52%, respectivamente; un control posterior a los 24 meses en el caso no tratado arrojó una plumbemia de 26,3 µg/dL, con una reducción neta de la plumbemia del 60%).

## DISCUSIÓN

En el presente estudio, la administración de DMSA a tres niños con una intoxicación por plomo de moderada a intensa dio lugar a una disminución de un 43% de la concentración de plomo en sangre durante el tratamiento, produciéndose posteriormente un "efecto rebote" con un aumento medio de la concentración de plomo del 30%. Estos datos están en consonancia con los encontrados por otros autores (7, 9, 10).

La pauta de tratamiento utilizada por nosotros fue similar a la de Besunder y colaboradores<sup>(9)</sup>, consistente en cinco días de tratamiento en régimen hospitalario y catorce días de tratamiento en régimen ambulatorio, con una dosis de 10 mg/kg/8 horas los primeros cinco días y de 10 mg/kg/12 horas los restantes días. Estos autores jalonan la respuesta al tratamiento según los niveles de plomo en cuatro momentos distintos: antes del inicio del tratamiento y los días 18, 30 y 80 después del tratamiento (nosotros lo hicimos antes del inicio del tratamiento y los días 21, 49 y 109, que podríamos considerar superponibles) y definen la eficacia del tra-

tamiento quelante como una disminución en un 20% o más de la concentración de plomo en sangre tras el rebote a los 30 días.

De acuerdo con esta definición, los casos nº 2 y nº 3 habrían respondido satisfactoriamente al tratamiento (disminución de la plumbemia tras el rebote a los 49 días de un 28% y 33%, respectivamente), mientras que el caso nº 1 no habría respondido (disminución de la plumbemia tras el rebote a los 49 días de un 19%). Este último caso, después de un total de tres tandas de tratamiento alcanzó, dos años después, una concentración de plomo en sangre de 34,3 µg/dL (una reducción del 38% con respecto al inicio). Los casos nº 2 y nº 3, que solo recibieron una tanda de tratamiento, alcanzaron, diez meses después, concentraciones de 19,5 µg/dL y 15,3 µg/dL, respectivamente (reducciones del 72 y del 59%, respectivamente). Naturalmente, en los tres casos se evitó la exposición al plomo desde el comienzo del seguimiento.

Puesto que no parecen existir variables concretas que puedan diferenciar los pacientes que responden al tratamiento con DMSA y los que no<sup>(9)</sup>, el análisis de estos datos parece reflejar, más que el mayor o menor efecto quelante del DMSA, la toxicinética del plomo en el organismo humano, en el sentido de que, cuanto menor es la edad del niño, mayor es la absorción del plomo, mayor la acumulación del mismo en los tejidos blandos y mayor su eliminación urinaria. Por el contrario, a medida que aumenta la edad de los pacientes la cantidad de plomo almacenada en los huesos es

cada vez mayor<sup>(11)</sup> y es este plomo almacenado el menos susceptible a la eliminación espontánea y al efecto quelante.

Por otra parte, la reducción a largo plazo del plomo depositado en los tejidos blandos puede depender, en parte, de la eliminación del plomo de los huesos. En un estudio que evaluaba la eficacia a largo plazo del DMSA en modelos de ratas intoxicadas por plomo se observó una marcada reducción en el contenido de plomo en sangre y cerebro, pero no en hueso, 24 horas después de finalizar un curso de tratamiento de cinco días con DMSA. Sin embargo, cuatro meses después no había una reducción neta en el contenido de plomo en el cerebro. Esta falta de eficacia del DMSA a largo plazo en la disminución del plomo acumulado en el cerebro puede haber sido causada por la redistribución, con el paso del tiempo, del plomo desde el hueso hacia la sangre y los tejidos blandos<sup>(3)</sup> puesto que este compartimento ya no se considera inerte<sup>(12)</sup>.

En cuanto a la comparación entre el caso tratado y el no tratado, vemos que diez meses después de la suspensión de la exposición al plomo la diferencia entre la disminución de la plumbemia en un caso y otro era mínima, una disminución del 59% en el caso tratado y del 52% en el caso no tratado. El tratamiento con DMSA, aunque aceptablemente seguro no está exento de potenciales efectos secundarios (síntomas gastrointestinales, malestar general, elevación transitoria de las transaminasas, anemia, neutropenia, reacciones de hipersensibilidad, etc.) y es relativamente caro (un curso de tratamiento como el descrito en este trabajo costaría, para un niño de diez kilos de peso, unas 50.000 ptas.); por todo ello, cabe preguntarse si, en los casos asintomáticos de corta edad, en los que se pueda asegurar un control y un seguimiento adecuados, no sería más razonable posponer el tratamiento quelante durante un tiempo mínimo de un año, toda vez que, naturalmente, nos aseguráramos de que la exposición al plomo había sido suspendida, lo que en definitiva constituye la parte esencial del tratamiento.

En conclusión, el tratamiento quelante con DMSA en niños con intoxicación por plomo de moderada a intensa es eficaz y bien tolerado. No obstante, al comparar el perfil de las plumbemias al cabo de diez meses entre dos casos de edades similares, uno tratado y otro no tratado, surge la duda en cuanto a la necesidad de iniciar o no el tratamien-

to de forma inmediata, aunque, naturalmente, al tratarse solamente de dos casos, esta aseveración ha de permanecer en el terreno de las conjeturas.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Centers for Disease Control and Prevention: Preventing lead poisoning in young children: a statement by the Centers for Disease Control and Prevention. Atlanta, GA; US Department of Health and Human Services; 1991.
2. Committed on Drugs. Treatment guidelines for lead exposure in children. *Pediatrics* 1995; **96**: 155-160.
3. Cory-Slechta DA, Weiss B, Cox C. Mobilization and redistribution of lead over the course of calcium disodium ethylenediaminetetraacetate chelation therapy. *J Pharmacol Exp Ther* 1987; **243**: 804-813.
4. Chisolm JJ Jr. Mobilization of lead by calcium disodium edetate: a reappraisal. *Arch Pediatr Adolesc Med (Am J Dis Child)* 1987; **141**: 1256-1257.
5. Miller AL. Dimercaptosuccinic acid (DMSA), a non-toxic, water-soluble treatment for heavy metal toxicity. *Altern Med Rev* 1998 Jun; **3**: 199-207.
6. Flora SJS, Battacharya R, Vijayaraghavan R. Combined therapeutic potential of 3-mercaptoposuccinic acid and calcium disodium edetate on the mobilization and distribution of lead in experimental lead intoxication in rats. *Fund Appl Toxicol* 1995; **25**: 233-240.
7. Graziano JH, Lolocono NJ, Moulton T, Mitchell ME, Slavkovich V, Zarate C. Controlled study of meso-2-3-dimercaptosuccinic acid for the management of childhood lead intoxication. *J Pediatr* 1992; **120**: 133-139.
8. Cory-Slechta DA. Mobilization of lead over the course of DMSA chelation therapy and long-term efficacy. *J Pharmacol Exp Ther* 1988; **246**: 84-91.
9. Besunder JB, Anderson RL, Super DM. Short-term efficacy of oral dimercaptosuccinic acid in children with low to moderate lead intoxication. *Pediatrics* 1995; **96**: 683-687.
10. Liebelt EL, Shannon M, Graef JW. Efficacy of oral 2-3-dimercaptosuccinic acid therapy for low-level childhood plumbism. *J Pediatr* 1994; **124**: 313-317.
11. Aumento de la absorción de plomo e intoxicación por plomo. En: Behrman RE, Vaughan VC, Nelson WE. Nelson, eds. Tratado de Pediatría. 14ª edición (esp). Mex/España/Brasil/Colombia/Ecuador/Venezuela; Interamericana, 1993: 2168-2172.
12. Rosen JF. The metabolism of lead in isolated bone cell populations: interactions between lead and calcium. *Toxicol Appl Pharmacol* 1983; **71**: 101-112.