

PAPER DETAILS

TITLE: Sugammadeks

AUTHORS: Tayfun ET

PAGES: 273-278

ORIGINAL PDF URL: <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/161698>

DERLEME / REVIEW

Sugammadex

Sugammadex

Tayfun ET¹

¹Karaman Devlet Hastanesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kliniği, Karaman

ÖZ

Genel anestezide steroid yapıdaki nöromusküler bloker ajanlar (NMBA); hızlı ve kolay endotrakeal entübasyon ve ventilasyon uygulamasındaki etkilerinden dolayı kullanımı artmaktadır. NMBA'nın kullanımından kaynaklanan postoperatif rezidüel blok; hipoventilasyon, havayolu obstrüksiyonu, hipoksi ve ölüm gibi komplikasyonlara neden olmaktadır. Sugammadex steroid yapıda NMBA'nın etkisini geri çeviren, gamma-siklodektrin yapıda ve sekiz glukoz molekülü içeren ilk seçici bağlayıcı ajandır. Sugammadex uygulamasının kolay, etkisinin yüksek ve hızlı olması ve yan etkisinin az olması sebebiyle kullanımı yaygınlaşmaktadır. Sugammadexin yapısı, uygulama dozu, yan etkisi ve terapotik etkisi hakkında bilgi vermeyi amaçladık.

Anahtar Kelimeler: Nöromusküler bloker; postoperatif rezidüel blok; sugammadex.

ABSTRACT

In general anesthesia, steroidal neuromuscular blocking agents (NMBAs), use increasing of quickly and facilitate endotracheal intubation and effects of ventilation application. The use of NMBAs may be associated with complications attributable to the development of postoperative residual curarisation, resulting in hypoventilation, airway obstruction, hypoxia, and death. Sugammadex is the first selective relaxant-binding agent designed to reverse the effect of steroidal NMBAs, is gamma-cyclodextrins and have got eight glucose molecule. Sugammadex the effect of high and fast and have less side effects and easy application, due to the usage is exploding. We aimed to give information about sugammadex, dosage, side effects and therapeutic effects.

Keywords: Neuromuskuler blocking agents (NMBAs); postoperative residual block; sugammadex.

Geliş Tarihi / Received: 13.11.2013

Kabul Tarihi / Accepted: 19.11.2013

Yazışma Adresi / Correspondence: Uzm Dr. Tayfun ET

Karaman Devlet Hastanesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kliniği, Karaman
drtayfunet@gmail.com

GİRİŞ

Modern teknoloji, anestezi uygulamasının kalitesine katkısı yanında, güvenirliliğinin artması için çaba harcarken kas gevşeticiler ile ilgili oldukça önemli ilerleme kaydedilmiştir. Kas gevşeticiler, anestezi uygulamasında analjezik ve anestezikler gibi çok özel ayrı bir konuma sahiptir. Kas gevşeticiler, anestezide kullanılan ilaç gereksinimini çok azaltmaktadır. Orta ve uzun etkili kas gevşetici ajanların klinik kullanımının yaygınlaşmasıyla bunların etkisini antogonize edecek ajanlara gereksinim artmıştır. Özellikle postoperatif erken dönem rezidüel blok oluşmaktadır buna bağlı olarak havayolu obstrüksiyonu, bronkospazm, solunum yetmezliği ve aspirasyon (kan, gastrik ve sekresyon) gibi önemli komplikasyonlara neden olmaktadır. Antogonize ajanlar etkilerini asetilkolininin (Ach) yıkımını engellenmesi, salınımın artırılması veya reseptördeki engelin ortadan kaldırılması gibi yollarla sağlamaktadır. Bu yollardan en yaygın olarak kullanılan uygulama kolinesteraz inhibitörlerinin (antikolinesteraz) verilmesidir. Non-depolarizan bloğun bu ilaçlarla geri döndürülmesi, kolinerjik reseptörlerde kas gevşeticilerle yarışacak kadar Ach konsantrasyonunun oluşmasına bağlıdır (1). Kolinesteraz inhibitörleri ile santral asetilkolin artışı kolinesteraz inhibitörlerinin yan etkiler oluşturmalarına neden olur. Bu yan etkiler, bradikardi veya sinüs arresti, bronkospazm, peristaltizm (özafagial, gastrik, intestinal) ve glanduler sekresyon artışıdır. Periooperatif bağırsak anostomoz kaçağı, bulantı, fekal inkontinans olabilir. Bu yan etkilerden özellikle muskarinik etkilerin önlenmesi amacıyla antikolinesterazlar ile birlikte glikoprilat veya atropin kullanılmaktadır. Sonuçta kullanılan her ilaç uygulamaya bağlı olarak yan etki ve komplikasyon görülme sıklığını artırmaktadır (2).

İdeal bir kas gevşetici antogonisti hızlı derlenme sağlamalıdır. Kas gevşetici uygulandıktan sonraki herhangi bir zamanda, yüzeysel ya da derin her seviyedeki bloğu tamamen ortadan kaldırabilmelidir. Muskarinik etkileri olmamalıdır. Son çalışmalar nöromüsküler kavşaktan steroid nöromüsküler blokerleri (rokuronyum, vekuronyum ve pankuronyum) çıkarmak, asetilkolin miktarını artırarak etkisini hafifletmek için siklodekstrin yapılarına odaklanmıştır (3, 4). Siklodekstrinler yemeklerde, kozmetikte ve farmakoloji alanında 1970'den beri güvenle kulla-

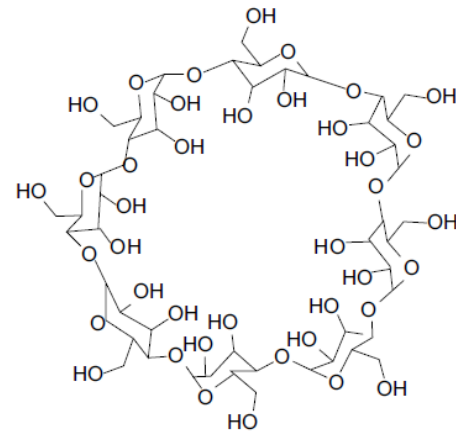
nılmaktadır. Gamma-siklodekstrin lipofilik iç yüz ve hidrofilik dış yüze sahiptir, dolayısıyla suda çözünabilir ve hidrofobik ilaçlar için hidrofilik taşıma ayrıca hidrofilik ilaçların geçirgenliğini artırarak etki gösterebilmektedir (5).

Sugammadexs, modifiye gamma-siklodekstrin yapıda nöromüsküler geri döndürücü ajanların ilk üyesidir. 2009 yılında ülkemizde kullanıma girmiştir (4).

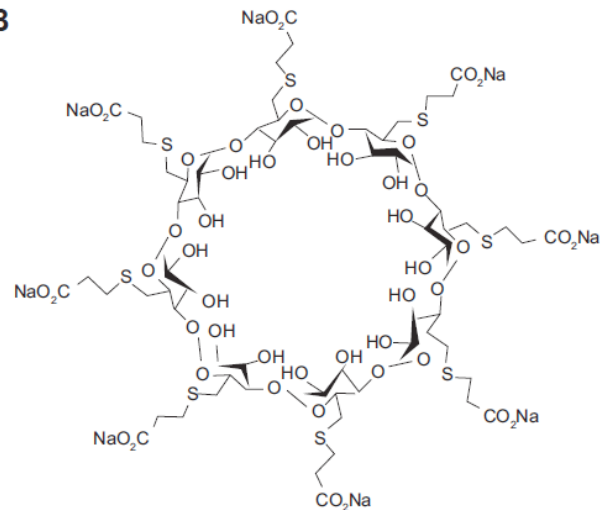
FARMAKODİNAMİK ÖZELLİKLERİ

Sugammadexs (organon 25969) gamma-siklodekstrin ve sekiz glukoz molekülünden oluşan dairesel bir yapıdadır (**Şekil 1**) (4). Sugammadexs genel anestezide yaygın olarak kullanılan amino steroid yapıda nöromüsküler bloker olan rokuronyum ve vekuronyumu çevreleyecek şekilde dizayn edilmiştir (6). Sugammadexsin yan zinciri rokuronyumu içine hapsetmek için santral kaviteye almakta bu sırada zincir sonu negatif karboksil grupları rokuronyumun pozitif nitrojen atomları ile elektrostatik bağlanma yapmaktadır (4).

A



B



Şekil 1: Siklodekstrin: A) modifiye olmamış gamma-siklodekstrin. B) modifiye gamma-siklodekstrinler (sugammadexs) (6)

Bu bağlanma sonucunda nöromüsküler bileşkedeki nikotinik reseptörlere bağlanan rokuronyum ve vekuronyum miktarı azalmaktadır. Nöromüsküler bileşkede meydana gelmiş olan blok geri döndürülmektedir. Oluşan sugammadeks ve rokuronyum kompleksi inaktive olup sugammadeksin farmokokinetik özellikleri ile vücuttan elimine edilmektedir (7, 8). Faz 2 ve 3 çalışmalarda sugammadeksin karaciğer ve böbrek fonksiyonları üzerine klinik yan etkisi belirtilmemiştir (9).

Gönüllülerde yapılan çalışmalarda sugammadeks kullanımının düzeltilmiş QT aralığını (QTc) uzatmadığı gösterilmiştir (9). Sugammadeks ile yapılan klinik çalışmalarda ise propofol ve sevofluran verilmiş cerrahi hastalarda (bu iki ajan QTc uzatma potansiyeli mevcuttur) QTc intervalinin çok az hastada uzadığı görülmüştür, fakat klinik olarak anlamlı bulunmamıştır (10- 12).

İLAÇ REAKSİYONLARI

Toremifen, fusidik asit veya flukloksasilin kullanımı sugammadeksin etkisini değiştirebilir. Tromifen, rokuronyum ve vekuronyuma göre plazma konsantrasyonunun ve afinititesinin yüksek olmasından dolayı sugammadekse daha çok bağlanma gösterir. Tromifen kullanan hastalarda aynı gün sugammadeks kullanılması gerektiğinde nöromüsküler blokajı geri çevirme süresi uzamaktadır (10). Postoperatif fusidik asit veya yüksek doz flukloksasilin (>500 mg) kullanımı sugammadeksin bağladığı rokuronyum ve vekuronyum yerini almaktadır. Bu yüzden bu ilaçlar sugammadeks kullanılan vakalarda postoperatif 6 saat içerisinde kullanılmamalıdır. Fusidik asit ve flukloksasilin kullanımından sonra 15 dakika içinde nöromüsküler blokerlerin tekrar etki ettiği gösterilmiştir, bu sebepten sugammadeks kullanımdan sonra bu ilaçlardan kaçınılmalıdır (11, 12).

Progesteronlu oral kontraseptif (kombine veya tek progesteron) kullanan kadınlarda sugammadeks kullanımından sonra o günkü dozu atlanmış gibi davranılmalıdır. Sugammadeks 4 mg/kg dozunda kullanımı progesteron düzeyini % 34 azaltmaktadır ve progesteron etkinliğinin azalmasına yol açmaktadır. Sugammadeks yapılan genel

laboratuvar testlerinde serum progesteron analizlerini ve koagülasyon parametrelerini etkilememekte olup çalışmalarda klinik olarak ilişkileri tam olarak değerlendirilmemiştir (11, 12).

FARMAKOKİNETİK ÖZELLİKLER

Sugammadeksin 1mg/kg'dan 16mg/kg'a kadar artan uygulama dozlarında cevapta doğrusal bir artış göstermektedir (12, 13).

İnsan plazma ve tam kan çalışmalarında (serbest form veya rokuronyum ile bağlı formlarda) plazma proteinlerine veya eritrositlere bağlanmamaktadır. Sugammadeksin metabolizmaya uğramadığı veya çok az metaboliti olduğu farz edilmektedir (12, 14).

Sugammadeks değişime uğramadan renal olarak atılmaktadır. Sağlıklı erişkinlerde sugammadeksin yarılanma zamanı 1.8 saattir. Sugammadeksin uygulanan dozunun çoğunluğu (% 90) 24 saat içinde vücuttan atılmaktadır, atılan kısmın % 96'lık kısmı üriner yolla, özellikle metabolize olmayan şekilde, çok az bir kısmı ise dışkı ve hava yolu ile atılmaktadır. Normal renal fonksiyonları mevcut bireylerde sugammadeks klirensi 84-138 mL/dakikadır (12, 14).

Sugammadeks veya sugammadeksle beraber rokuronyum kompleksinin atılımı ciddi renal yetmezliği olan hastalarda (kreatinin klirensi (CLcr) < 30 mL/dak.) normal renal fonksiyonu mevcut hastalara göre (CLcr > 80 mL/dak.) önemli biçimde azalmaktadır ve azalan kreatinin klirensi yarılanma zamanı ve ortalama etki süresini uzatmaktadır. Bu durum hastalarda sugammadeksin etkinliğini değiştirmemektedir ve rekürarizasyon oluşmamaktadır. Ciddi renal yetmezliği olan özellikle diyaliz gereksinimi mevcut hastalarda sugammadeksin plazma konsantrasyonunda azalan değişkenlik göstermektedir. Bu yüzden ciddi renal yetmezliği olan hastalarda kullanımı yaygın değildir (11, 12).

Sugammadeksin metabolizma ve atılımı hepatik bir yol izlememektedir. Bu sebepten hepatik yetmezliği olan hastalar değerlendirilmemiştir.

Sugammadeks kullanımı yaygınlaşmasıyla hepatik yetmezlikli hastalarda dikkatli olunmalıdır (12).

Sugammadeksin farmakokinetik özelliği yoğun bakım hastalarında değerlendirilmemiştir (13, 15).

Pediyatrik hastalarda plazma konsantrasyonu erişkin hastalardaki gibi değişiklikler göstermektedir. Sugammadeksin iki yaş altında yeterli veri bulunmadığından şu anki kullanımı kısıtlıdır (12, 16).

Sugammadeksin gebe kadınlarda kullanıma dair yeterli veri bulunmamaktadır. Sugammadeksin anne sütüne geçişi tam olarak bilinmemektedir, ama siklodekstrinlerin absorpsiyonu düşüktür bu yüzden sugammadeksin tek dozluk uygulaması emziren anneler için çocuklarda herhangi bir yan etki oluşturmamaktadır (12).

DOZ, UYGULAMA VE TERAPÖTİK ETKİSİ

Sugammadeks tek doz şeklinde intravenöz olarak on saniye içinde uygulanmalıdır. Eğer sugammadeks kullanımı sonrası rokuronyum ve vekuronyumun tekrarlanan uygulamaları gerekli ise bu uygulamalar 24 saat sonra yapılmalıdır, fakat 24 saat öncesinde kas gevşetici uygulaması gerekiyorsa steroid yapıda olmayan (atrakuryum cis-atrakuryum) kas gevşetici ajanlar kullanılmalıdır (10, 12).

Faz 2 ve 3 çalışmaları sugammadeksin etkin dozu üzerine odaklanılmıştır. Eğer train of four (TOF) en az iki kasılma veriyorsa 2 mg/kg, posttetanik sayım (PTC) 1-2 ye ulaşıyorsa 4 mg/kg, PTC 0 ise 16 mg/kg dozda kullanılması önerilmektedir (**Tablo 1**) (9, 17- 19).

Rokuronyumla oluşturulmuş derin ve orta dü-

zeydeki bloğun geri çevrilmesi, sugammadeks kullanımı ile neostigmin+atropine göre daha belirgin ve hızlı olmaktadır. Rokuronyum 0.6 mg /kg kullanımı ile oluşmuş nöromüsküler blok sonrası T2'nin oluşmasından (orta blok) sonra 2 mg/kg sugammadeks uygulamasıyla TOF $\geq$ 0.9 yaklaşık olarak 2 dak. iken bu oran 50 µg/kg neostigmin ve 10µg/kg glikoprilat ile yaklaşık olarak 12 dak. sürmektedir. Aynı şekilde PTC 1-2 (derin blok) oluşmasıyla sugammadeksin 4 mg/kg dozunda uygulanması, 70 µg/kg neostigmin ve 14 µg/kg glikoprilat uygulamasına göre TOF'un 0.9 oluşu 17 kat daha hızlı olmaktadır (20-22).

Rokuronyumun yüksek doz (1.2 mg/kg) kullanımasından sonra (PTC=0) nöromüsküler bloğun geri çevrilmesi için sugammadeksin 16 mg/kg dozunda kullanılması, suksetonyum klorid 1 mg/kg kullanılmasıyla karşılaştırıldığında; T1'nin % 10'dan % 90'a ulaşımı % 40 daha kısa sürede olmaktadır. Rokuronyumun özellikle yüksek doz (1.2 mg/kg) kullanımı suksetonyum klorid ile benzer entübasyon süresi oluşturmaktadır. Yüksek doz rokuronyum kullanımı sonrası TOF'un 0.9 ulaşması yaklaşık olarak 2.5 dakikadan kısa sürmektedir (23).

Renal fonksiyon kaybı veya ciddi renal yetmezliği bulunan hastalarda rokuronyumun oluşturduğu nöromüsküler bloğun geri çevrilmesinde sugammadeksin etkinliğinde herhangi bir değişme olmamaktadır fakat ciddi renal yetmezliği olan hastalarda (kreatinin klirensi (CLcr)<30 mL/dak.) kullanımı yaygın değildir (11, 12, 14). Kardiyak ve pulmoner hastalığı olanlarda veya obez hastalarda sugammadeks etkinliğinde herhangi bir değişme olmamakla birlikte güvenli şekilde kullanılmaktadır (24, 25).

TOLERASYON

Faz 2 ve faz 3 çalışmalarda sugammadeksin genellikle iyi tolere edildiği görülmektedir. Plasebo-kontrollü ve aktif karşılaştırmalı kontrollü çalışmalarda elde edilen verilerden en yaygın görülen yan etkiler; ağrı, bulantı ve kusmadır, fakat bunların cerrahi uygulamaya bağlı olabileceği de göz önünde bulundurulmalıdır (14, 24, 26).

Tablo 1: Tavsiye edilen sugammadeks dozu (10)

Orta blok (T2'nin tekrar ortaya çıkması)	Derin blok (PTC = 1-2 TOF = 0)	Acil geri döndürme (1.2 mg/kg rokuronyum uygulandıktan 3 dk sonra)
2.0 mg/kg	4.0 mg/kg	16.0 mg/kg

Ağızda metalik veya acı tat sağlıklı gönüllülerde sugammadexin 16 mg/kg altındaki uygulamaları sonrası çok fazla görülmeyen (% 0.07- 1) bir yan etki olarak değerlendirilmektedir, fakat yüksek doz (32- 96 mg/kg) uygulamalardan sonra bu oran artmaktadır (% 15.4- 66.7) (25). Sağlıklı gönüllülerde yapılan çalışmalarda sugammadexin 16, 20, 32, 64 ve 96 mg/kg uygulamaları sonrası doz bağımlı, herhangi ciddi yan etkiye rastlanmamıştır (9).

Artmış ve tekrarlayan nöromusküler bloklar sugammadex kullanımına bağlı olarak çok sık görülmemektedir. Plasebo kontrollü çalışmalardan elde edilen verilerden sugammadex 2-16 mg/kg kullanımı sonrası % 1.7 olarak rapor edilmiştir, plasebo uygulananlarda ise bu oran % 0.0'dır. Özellikle sugammadexin suboptimal dozlarda (< 2mg/kg) uygulaması sonrası görülmektedir (9).

Sugammadexin farklı dozlarda uygulama sonrası aşırı duyarlılık ve alerjik reaksiyon oluşumu % 1'in altındadır. Faz 3 çalışmalarda hipersensitivite ve alerjik reaksiyon (kontakt dermatit, alerjik kaşıntı, ilaç aşırı duyarlılık ve tranfüzyon reaksiyonları) yansımaları sugammadex kullanıma bağlı olarak gerçekleşmemektedir (9).

Neostigmin+glikoprilat ve sugammadexin, gaz ve postoperatif gastrointestinal rahatsızlıklar karşılaştırmalı olarak değerlendirildiğinde; sırasıyla ağız kuruluğu % 8.2 ve % 2.2, gastrointestinal bulgular % 5.6 ve % 0.0 anksiyete % 4.8 ve % 1.7' dir (27).

KAYNAKLAR

1. Caldwell JE. Clinical limitations of acetylcholinesterase antagonists. *J Crit Care* 2009;24(1):21-8.
2. Srivastava A, Hunter JM. Reversal of neuromuscular block. *Br J Anaesth* 2009;103(1):115-2.
3. Adam JM, Bennett DJ, Bom A. Cyclodextrin-derived host molecules as reversal agents for the neuromuscular blocker rocuronium bromide: synthesis and structure-activity relationships. *J Med Chem* 2002;45(9):1806-16.
4. Bom A, Bradley M, Cameron K. A novel concept of reversing neuromuscular block: chemical encapsulation of rocuronium bromide by a cyclodextrin-based synthetic host. *Angew Chem Int Ed Engl* 2002;41(2):266-70.

5. Challa R, Ahuja A, Ali J. Cyclodextrins in drug delivery. *AAPS Pharm Sci Tech* 2005;6(2):329-57.
6. Schering-Plough Corp. Bridion_ (sugammadex sodium) injection: first and only selective relaxant binding agent approved in European Union. http://www.scheringplough.com/schering_plough/news/release.jsp?releaseID=1180933 Erişim: 23.05.2013.
7. Stair C, Fernandez-Bustamante A. Sugammadex, the first selective relaxant binding agent for neuromuscular block reversal. *Drugs Today (Barc)* 2012;48(6):405- 13.
8. Miller RD. Sugammadex: an opportunity to change the practice of anesthesiology. *Anesth Analg* 2007;104(3):477-8.
9. Rosemary MGH, Rajinder KM. Sugammadex a selective relaxant binding agent for reversal of neuromuskuler block. *Neurother* 2009;9(5):599-608.
10. International Conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. The clinical evaluation of QT/QTc interval prolongation and proarrhythmic potential for non-anti arrhythmic drugs. <http://www.ich.org/LOB/media/MEDIA1476>. Erişim 30.04.2013.
11. European Medicines Agency. Bridion (sugammadex sodium) 100 mg/mL: <http://www.emea.europa.eu/humandocs/PDFs/EPAR/bridion/H-885-PI-en>. Erişim 20.03.2013.
12. Staals LM, Snoeck MMJ, Driessen JJ, et al. Multicentre, parallel-group, comparative trial evaluating the efficacy and safety of sugammadex in patients with end-stage renal failure or normal renal function. *Br J Anaesth* 2008;101(4):492-7.
13. Gijzenbergh F, Ramael S, Houwing N, et al. First human exposure of Org 25969, a novel agent to reverse the action of rocuronium bromide. *Anesthesiology* 2005;103(4):695-703.
14. Plaud B, Meretoja O, Hofmockel R, et al. Reversal of rocuronium-induced neuromuscular blockade with sugammadex in pediatric and adult surgical patients. *Anesthesiology* 2009;110(2):284-94.
15. Sparr HJ, Vermeyen KM, Beaufort AM, et al. Early reversal of profound rocuronium-induced neuromuscular blockade by sugammadex in a randomized multicenter study: efficacy, safety, and pharmacokinetics. *Anesthesiology* 2007;106(5):935-43.
16. Blobner M, Eriksson L, Scholz J, et al. Reversal of rocuronium-induced neuromuscular blockade with sugammadex compared with neostigmine during sevoflurane anaesthesia: results of a randomised, controlled trial. *Eur J Anaesthesiol* 2010;27(10):874-81.

- 17.** Sorgenfrei IF, Norrild K, Larsen PB, et al. Reversal of rocuronium-induced neuromuscular block by the selective relaxant binding agent sugammadex: a dose-finding and safety study. *Anesthesiology* 2006;104(4):667-74.
- 18.** de Boer HD, Driessen JJ, Marcus MAE, et al. Reversal of rocuronium-induced (1.2 mg/kg) profound neuromuscular block by sugammadex: a multicenter, dose-finding and safety study. *Anesthesiology* 2007;107(2):239-44.
- 19.** Organon USA. FDA Anesthetic and Life Support Advisory Committee Meeting: briefing document (background package) for sugammadex sodium injection: <http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/08/briefing/2008-4346b1-02-Organon>. Erişim 11.06.2013.
- 20.** Jones RK, Caldwell JE, Brull SJ, et al. Reversal of profound rocuronium-induced blockade with sugammadex: a randomized comparison with neostigmine. *Anesthesiology* 2008;109(5):816-24.
- 21.** Flockton EA, Mastronardi P, Hunter JM, et al. Reversal of rocuronium-induced neuromuscular block with sugammadex faster than reversal of cisatracurium-induced block with neostigmine. *Br J Anaesth* 2008;100(5):622-30.
- 22.** Lee C, Jahr JS, Candiotti KA, et al. Reversal of profound neuromuscular block by sugammadex administered 3 minutes after rocuronium: a comparison with spontaneous recovery from succinylcholine. *Anesthesiology* 2009;110(5):1020-5.
- 23.** Dahl V, Pendeville PE, Hollman MW, et al. Safety and efficacy of sugammadex for the reversal of rocuronium-induced neuromuscular blockade in cardiac patients undergoing noncardiac surgery. *Eur J Anaesthesiol* 2009;26(10):874-84.
- 24.** McDonagh DL, Benedict PE, Kovac AL, et al. Efficacy and safety of sugammadex for reversal of rocuronium-induced blockade in elderly patients. *Anesthesiology* 2011;114(2):318-29.
- 25.** Peeters PA, van den Heuvel MW, van Heumen E, et al. Safety, tolerability and pharmacokinetics of sugammadex using single high doses (up to 96 mg/kg) in healthy adult subjects: a randomized, double-blind, crossover, placebo-controlled, single-centre study. *Clin Drug Investig* 2010;30(12):867-74.
- 26.** Molina AL, de Boer HD, Klimek M, et al. Reversal of rocuronium-induced (1.2 mg kg⁻¹) profound neuromuscular block by accidental high dose of sugammadex (40 mg kg⁻¹). *Br J Anaesth* 2007;98(5):624-7.
- 27.** Khuenl-Brady KS, Wattwil M, Vanacker BF, et al. Sugammadex provides faster reversal of vecuronium-induced neuromuscular blockade compared with neostigmine: a multicenter, randomized, controlled trial. *Anesth Analg* 2010;110(1):64-73.