

Trombolíticos

CÉSAR CARDOSO DE OLIVEIRA

Médico Cardiologista do Serviço de Cardiologia do Hospital Copa D'Or e do Hospital Municipal Miguel Couto. Presidente do Departamento de Doença Coronariana da SOCERJ

INTRODUÇÃO HISTÓRICA:

Embora a atividade trombolítica do sangue coagulado fosse conhecida há vários anos, apenas em 1933, através da publicação de Tillet¹, especialista em doenças infecciosas e bacteriologista, comprovou-se “in vitro” que o caldo de cultura filtrado de certas cepas de estreptococos beta-hemolíticos possuía uma substância capaz de desencadear uma fibrinólise rápida dos coágulos humanos. Esta substância foi chamada de “fibrinolisina estreptocócica”.

Milstone observou, em 1941², que coágulos preparados com fibrinogênio e trombina purificados não sofriam a ação da fibrinolisina estreptocócica. Para que esta atuasse, era necessária a adição de uma euglobulina do soro humano à mistura, o que provocava a rápida dissolução do coágulo. Em 1945, Christensen demonstrou que a euglobulina plasmática,

descrita por Milstone, era o precursor inativo de uma enzima proteolítica e fibrinolítica que era ativada rapidamente pela fibrinolisina estreptocócica.³ Como o derivado estreptocócico era um ativador ao invés de fibrinolisina, ele sugeriu o nome de estreptoquinase. As primeiras experiências clínicas com a estreptoquinase foram realizadas em pacientes portadores de hemotórax e abscesso pulmonar localizados, pela necessidade de se dissolver seu conteúdo para facilidade de drenagem. Para o tratamento do infarto agudo do miocárdio (IAM), a droga foi utilizada na década de 50 com um protocolo que durava 72 horas e causando hemorragia e anafilaxia por não ser purificada (continha apenas 10% de estreptoquinase), impossibilitando sua larga prescrição.

Há cerca de 20 anos, cardiologistas de todo o mundo foram surpreendidos pela revelação de um

medicamento capaz de tratar o infarto agudo do miocárdio (IAM): a estreptoquinase. Os primeiros trabalhos foram feitos em laboratório de hemodinâmica e por isto a medicação era administrada por via intracoronária.⁴ Estudos subseqüentes demonstraram que a via de administração venosa era segura e que conseguia reduzir a mortalidade, assim como a via intracoronária.⁵ Embora não fosse novidade, pois a estreptoquinase já havia sido utilizada para este fim, os protocolos de dose e tempo de infusão eram diferentes dos anteriores, o que conferiu ao tratamento uma diminuição das complicações hemorrágicas e redução das fatalidades pelo IAM de 14% para 8%.⁶

MECANISMO DE AÇÃO:

Na verdade, o nome “trombolítico” é um engano para estes agentes, pois o que fazem, na verdade, é ativar o plasminogênio em sua transformação para plasmina, esta sim com capacidade para degradar a fibrina, o maior componente do trombo. (Figura 1) Assim, na verdade, estes agentes devem ser chamados de **agentes fibrinolíticos**.

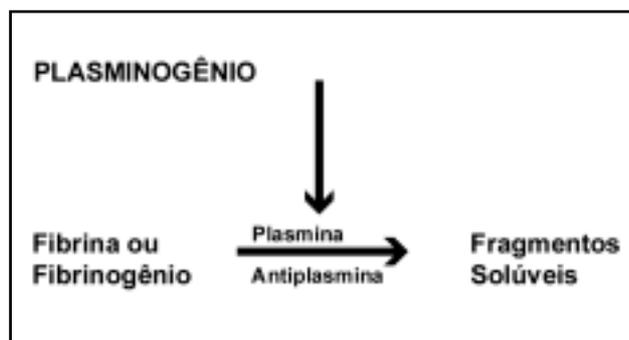


Figura 1
Mecanismo de ação da estreptoquinase

OS FIBRINOLÍTICOS DIVIDEM-SE EM FIBRINO-ESPECÍFICOS E NÃO FIBRINO-ESPECÍFICOS

Atualmente, existem no mundo seis agentes fibrinolíticos disponíveis para uso clínico: a estreptoquinase (SK), o ativador do complexo plasminogênio-estreptoquinase sem acilação (APSAC ou anistreplase), o ativador do plasminogênio do tipo uroquinase de dupla cadeia (tcu-PA), o ativador do plasminogênio do tipo uroquinase de cadeia única (scu-PA), o ativador tecidual do plasminogênio (t-PA) na sua forma recombinante (rt-PA) e a recentemente incorporada reteplase (r-PA).

A estreptoquinase, APSAC e o scu-PA induzem a geração de grande quantidade de **plasmina**

sistêmica, apesar da tentativa de inibição da α_2 -antiplasmina circulante que pode se esgotar durante a terapia lítica, pois sua concentração no plasma é cerca de metade daquela do plasminogênio. Como resultado, a plasmina, que tem uma ampla gama de substratos específicos, degradará várias proteínas plasmáticas, como o fibrinogênio, fatores da coagulação V, VIII, XII e fator de von Willebrand. Por isto estes agentes são considerados **não fibrino-específicos**.

Outros agentes, como t-PA, rt-PA, tcu-PA e os novos derivados mutantes do t-PA (r-PA, TNK-tPA) são **fibrino-específicos**, porque ativam o plasminogênio, preferencialmente, na superfície da fibrina e menos na circulação. A plasmina, aderida na superfície da fibrina, é protegida da rápida inibição da α_2 -antiplasmina, porque os locais de ligação à lisina estão ocupados e podem assim, de maneira eficiente, degradar a fibrina do trombo.⁷

CARACTERÍSTICAS DOS DIVERSOS AGENTES

Estreptoquinase (SK):

Obtida a partir de caldo de cultura de Streptococos beta-hemolíticos, é uma proteína natural e, portanto, capaz de causar reações alérgicas.

Dose: 1.500.000UI diluídos em 60 ml de Soro Glicosado a 5% ou em solução fisiológica a 0,9%. Colocar a solução em um microgotas e gotejar 60 microgotas por minuto, toda a solução, o que acontecerá em aproximadamente 60 minutos.

O uso de heparina não oferece benefícios quando utilizada com a estreptoquinase. Quando houver necessidade de utilizá-la, manter o PTT dentro de 1,5 a 2 vezes o controle.

Reações alérgicas: por ser um antígeno, a estreptoquinase pode causar reações alérgicas, raramente anafilaxia (0,5%), mas tremores, vermelhidão da pele ou pirexia podem ocorrer em até 10% dos pacientes tratados. A eficácia da estreptoquinase não é reduzida pela reação alérgica, mas deve ser evitada a sua reutilização por um período de 1 a 2 anos.⁸

Hipotensão: pode ocorrer durante administração rápida da solução (acima de 500 unidades/kg/min), mas geralmente responde aos líquidos, dopamina, diminuição da velocidade de infusão e raramente é necessária a interrupção.

Sangramento: o pequeno sangramento é a complicação mais comum, ocorrendo em 3% a 4% dos pacientes, geralmente nos locais de punção. Os grandes sangramentos, por definição os que necessitam de transfusão de sangue, são menos comuns. O risco de acidente vascular cerebral hemorrágico (AVCh) é menor que 1% em todos os pacientes e, em pacientes acima dos 70 anos, é de 1,6%.^{9,10,11}

Ativador Tecidual do Plasminogênio (t-PA):

Ativador direto do fibrinogênio, sem imunogenicidade, com especificidade razoável pela fibrina e sem resistência ao PAI-1.

Dose: O esquema atual, proposto por Neuhaus e col. no estudo TAPS¹² e utilizado no estudo GUSTO, é o de dose de ataque (“front loaded”), que consiste em se fazer um bólus intravenoso de 15mg da droga, seguido por uma infusão de 0,5mg/kg (até 50mg), durante os 30 minutos seguintes, e então 0,5mg/kg (até 35mg) nos próximos 60 minutos. Este esquema terapêutico totaliza 100mg de rt-PA em 90 minutos, em um paciente de tamanho médio.⁹ Deve-se administrar heparina venosa por pelo menos 24 horas, como medicação concomitante, para manter a artéria culpada pelo infarto pérvia, após ter sido recanalizada pelo rt-PA, pois sua meia-vida é muito curta (4-8min).

Complicações: a principal complicação do tratamento com rt-PA é o sangramento. A incidência de AVCh em pacientes com mais de 70 anos é 1% maior do que nos tratados com estreptoquinase (2,7% vs. 1,6%).^{9,10,11} Este risco pode aumentar em pacientes com peso menor do que 70kg, pressão arterial acima de 170/95 mmHg e uma heparinização agressiva.

Anistreplase (APSAC):

Sua grande vantagem é a de poder ser administrado sob a forma de “bólus” em 2 a 5 minutos, devido a sua meia-vida mais longa do que a estreptoquinase (90 a 100 minutos vs. 18 a 23 minutos) e ao seu maior tempo de ação.

Dose: 30 unidades em bólus de 2 a 5 minutos.

Complicações: são semelhantes às da estreptoquinase. Por ser um antígeno, deve se evitar reutilizá-la pelo período de 1 (um) ano.

Uroquinase:

Atualmente não é utilizado para tratamento do infarto agudo do miocárdio (IAM), entretanto é

freqüentemente utilizado para trombólise nas salas de hemodinâmica e para tratamento da embolia pulmonar grave.

FATORES QUE INIBIRAM O TRATAMENTO TROMBOLÍTICO

Em 1989, o Ministério da Saúde dos Estados Unidos da América (EUA) fez um levantamento dos pacientes que receberam alta dos hospitais públicos dos EUA com o diagnóstico de IAM, para avaliar quantos haviam sido tratados por agentes trombolíticos.¹³ Surpreendentemente, apenas 25% haviam recebido o medicamento, apesar de 11% se apresentar nas emergências americanas em condições “ideais” para o tratamento, seu médico assistente contra-indicou a terapia, 21% chegou aos hospitais além das 6 horas (limite da época), 10% tinham ECG que poderia levar a “equivocos” (bloqueio de ramo, infradesnível de ST), apesar da precordialgia ser típica.¹³

Estes “fatores” inibiram o tratamento adequado dos pacientes, fazendo com que apenas 1/3 fosse tratado, o que certamente elevou o número de complicações e de óbitos do grupo não tratado. A seguir enumeramos os mais importantes:

- **Idade:** Os estudos da época afastavam os pacientes com idade superior a 65 anos pelo receio de que houvesse sangramento cerebral, entretanto a mortalidade neste grupo, quando não tratado, é maior do que no tratado por trombolíticos, como foi evidenciado no estudo ISIS-II.¹⁴
- **Delta t (Dt):** O estudo GISSI-I¹⁵ e, anteriormente, o trabalho experimental de Reimer e Jennings¹⁶ haviam mostrado que a janela de tempo ideal para se tratar um paciente com reperfusão da artéria responsável pelo IAM era de 6 horas, entretanto pequenos estudos haviam conseguido redução da mortalidade com Dt além das 6 horas, confirmado pelos estudos ISIS-II e LATE.^{14,17}
- **Bloqueio de ramo no ECG:** O estudo GISSI-I,¹⁵ no sentido de evitar dúvidas quanto à interpretação dos dados eletrocardiográficos, não randomizou pacientes com bloqueio de ramo, embora seja alta a mortalidade neste grupo. Os estudos ISIS-II e FTT,^{14,18} mostram que submetidos a trombólise, pacientes deste grupo tem maior benefício do que os pacientes com supradesnível do segmento ST.
- **Localização do IAM:** Dentre os resultados do estudo GISSI-I,¹⁵ verificamos que havia pouco benefício em se utilizar a estreptoquinase nos infartos de parede inferior, diferente dos localizados na parede anterior. No estudo ISIS-II,¹⁴ os

resultados confirmaram o benefício do tratamento no IAM anterior, entretanto, diferente do que encontramos no estudo GISSI-I, tratar pacientes com IAM inferior demonstrou resultados estatisticamente significativos. O estudo TAPS,¹² que introduziu o conceito de utilização do rt-PA “acelerado”, mostrou uma redução da insuficiência mitral por disfunção do músculo papilar no IAM inferior.

- **Tamanho do IAM:** Quanto maior a área do IAM, determinada pelo número de derivações com elevação do segmento ST no eletrocardiograma (ECG) de 12 derivações, maior será o benefício do tratamento com trombolíticos.
- **Bloqueio do ramo esquerdo (BRE):** Por mascarar o supra de ST no ECG, o BRE foi um dos critérios de exclusão em vários estudos, entretanto a mortalidade dos pacientes que o desenvolvem é alta, mas no estudo ISIS-II a terapia trombolítica reduziu drasticamente o número de mortes neste grupo.^{14,18}
- **Hipertensão e hipotensão arterial:** No estudo ISIS-II,¹⁴ a hipertensão severa mantida era considerada uma possível contra-indicação, porém os dados deste estudo indicam que mesmo os pacientes que se apresentaram com uma pressão arterial sistólica ≥ 175 mmHg e foram tratados com estreptoquinase e aspirina tiveram uma sobrevivência maior do que os do grupo controle. Por outro lado, pacientes com hipotensão relativa (≤ 100 mmHg) também tiveram a mortalidade reduzida, quando tratados pela combinação de estreptoquinase e aspirina.
- **Ressuscitação cardiorrespiratória (PCR):** O uso de trombolíticos em pacientes que tivessem sido submetidos à massagem cardíaca externa (MCE) sempre causou apreensão aos médicos, pois havia possibilidade de piorar um sangramento decorrente de uma possível fratura de costelas ou do esterno. Para avaliar as complicações hemorrágicas e o prognóstico dos pacientes com parada cardiorrespiratória (PCR), durante um IAM tratado com agentes trombolíticos, 708 pacientes consecutivos do estudo TAMI-III foram avaliados.¹⁹ Foram retirados do estudo os pacientes com RCR prolongada, isto é > 10 min. Embora a mortalidade hospitalar tenha sido maior no grupo com PCR (11% vs.6%), não houve diferença entre as complicações hemorrágicas e não ocorreu hemotórax ou tamponamento. Estes resultados indicam que não deve haver contra-indicação ao uso de trombolíticos se a RCR for < 10 min.
- **Diabetes:** Embora nos preocupemos com a possibilidade de se induzir uma hemorragia retiniana e cegueira conseqüente nos pacientes diabéticos com retinopatia proliferativa com IAM

que tenham sido submetidos ao tratamento com trombolíticos, existem poucos casos de cegueira documentada e publicada na literatura médica. No estudo TAMI, as complicações hemorrágicas dos 122 pacientes diabéticos não foram mais freqüentes do que nos 688 pacientes não diabéticos - ambos os grupos receberam trombolíticos. A trombólise é importante nos diabéticos com IAM porque este grupo tem um curso mais complicado na fase hospitalar e após a alta.

APLICAÇÕES CLÍNICAS DOS TROMBOLÍTICOS

- 1) IAM
- 2) EMBOLIA PULMONAR COM INSTABILIDADE HEMODINÂMICA
- 3) ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL ISQUÊMICO
- 4) TROMBOSE DE VEIA CENTRAL DA RETINA
- 5) TROMBOSE DE PRÓTESE VALVAR

INDICAÇÃO DO USO DE TROMBOLÍTICOS²⁰

- Paciente com dor precordial típica, com duração menor do que 12 horas e supradesnível maior que 1 mm do segmento ST em pelo menos duas derivações que explorem a mesma parede nas derivações periféricas, ou um supradesnível de ST maior que 2 mm, em pelo menos duas derivações contíguas no plano horizontal, podendo ou não haver depressão do segmento ST na parede contrária ou “remota”.
- Paciente com dor precordial típica, com duração até 12 horas e bloqueio de ramo no ECG.
- Pacientes com dor precordial típica com duração superior a 12 horas, em hospital que não possua instalações que permitam angioplastia primária.

CONTRA-INDICAÇÃO ABSOLUTA AO USO DOS TROMBOLÍTICOS²⁰

- Sangramento interno em atividade, excetuando-se menstruação.
- Suspeita de dissecação aórtica.
- Traumatismo craniano recente ou neoplasia intracraniana.
- História de acidente vascular cerebral hemorrágico (AVCh), em qualquer época, ou de outros eventos cerebrovasculares, nos últimos doze meses.

CONTRA-INDICAÇÃO RELATIVA AO USO DOS TROMBOLÍTICOS²⁰

- Hipertensão arterial grave, não controlada, acima de 180/110 mmHg.
- Gravidez.
- RCR traumática ou prolongada (>10 min.).
- Trauma recente, incluindo trauma de crânio entre 2 a 4 semanas.
- História de AVC, tumor, trauma ou neurocirurgia.
- Diátese hemorrágica conhecida que possibilite sangramento.
- Uso de anticoagulante (warfarin) com INR>2.
- Neoplasia ou doença com possível anormalidade torácica, abdominal ou intracraniana.
- Úlcera péptica ativa.
- Sangramento interno recente (2 a 4 semanas).
- Uso de estreptoquinase ou anistreplase, nos 24 últimos meses.
- Grande cirurgia até 3 semanas.
- Punções vasculares não compressíveis.

NOVOS AGENTES TROMBOLÍTICOS:

Embora os trombolíticos tenham mudado a história do tratamento do IAM, desde que utilizados precocemente, apresentam limitações como a taxa de reoclusão de 10% a 15%, dificuldade em abrir o vaso em 15% a 20% dos pacientes e o risco sempre presente de hemorragia intracraniana.

O trombolítico ideal deve ter as seguintes propriedades:

- Reperusão rápida
- Reperusão TIMI 3 de 100%
- Administração em "bólus" IV
- Especificidade pela Fibrina
- Baixa incidência de sangramento sistêmico
- Baixa incidência de hemorragia intracraniana
- Resistência ao PAI-1
- Baixa taxa de reoclusão
- Sem efeito na pressão arterial
- Sem antigenicidade
- Custo razoável

Na grande maioria, os novos trombolíticos são derivados modificados por engenharia genética do t-PA nativo para ter as propriedades acima descritas, principalmente a facilidade de se fazer o tratamento com injeção intravenosa em "bólus", o que antecipa a atuação do fibrinolítico e consegue diminuir a área de infarto, melhorando a fração de ejeção e reduzindo, por consequência, a mortalidade no IAM e a fibrino-especificidade.

Retepase (r-PA):

É o único fibrinolítico mutante do t-PA até agora aprovado pelo FDA.

Tem menor atividade fibrino-específico e maior meia-vida do que o t-PA. No estudo RAPID II, observou-se uma maior incidência de fluxo TIMI III nos pacientes que receberam r-PA do que nos que receberam tPA, em 60 minutos (51,2% vs.37,4%, $p<0,03$) e 90 minutos (59,9% vs.45,2%, $p=0,01$).²¹ Houve uma menor taxa de intervenções coronárias nas primeiras 6 horas de tratamento (13,6% vs.26,5%, $p=0,01$). Não houve diminuição da mortalidade em 35 dias (4,1% vs.8,4%), da incidência de AVCh (1,2% vs.1,9%) ou de sangramento severo (12,4% vs.9,7%).

Dose: é administrada em 2 bólus de 10 MU separados por 30 minutos, seguidos por heparina e aspirina.

Complicações: conforme mostrado acima, o maior número de complicações é o resultante das hemorragias.

Tenecteplase (TNK-tPA):

Ativador direto do plasminogênio, sem imunogenicidade, com grande especificidade pela fibrina e único fibrinolítico resistente ao inibidor da ativação do plasminogênio-1 (PAI-1). Similar ao tPA nativo, obtido a partir de mutações pela substituição de aminoácidos em determinadas posições. Tais alterações acarretaram, em animais, um aumento da meia-vida, da especificidade pela fibrina e aumento da resistência ao PAI-1, quando comparado ao tPA nativo. Em humanos, houve aumento da meia-vida (20 min).

Administrado em "bólus" único, na dose de $\pm 0,5$ mg/kg, este trombolítico foi comparado, no estudo ASSENT-2, ao t-PA (Alteplase), de maneira randomizada e duplo-cega.²⁵ A mortalidade em 30 dias foi similar, entretanto, pela facilidade de aplicação da Tenecteplase, o tratamento pode ser instituído dentro e fora do hospital.²²

Estafiloquinase:

É um agente profibrinolítico derivado de determinadas cepas de *S.Aureus*. Com imunogenicidade, grande especificidade pela fibrina, ativa indiretamente o plasminogênio; meia-vida de 6 min. Administrado em "bólus" duplo de 15mg + 15mg ou 30 mg em 30min. Não se sabe se é resistente ao PAI-1. Em experiências com animais, mostrou ser tão potente quanto a SK na

dissolução de coágulos de sangue ou mesmo de plasma, mas é mais potente para dissolver os trombos ricos em plaquetas.²³

Reações alérgicas: Devido a sua antigenicidade e por induzir anticorpos neutralizantes que persistem por mais de um ano, a sua reutilização é proibida, levando a tentativas de modificação da sua estrutura. Entretanto, apesar das mudanças realizadas, após a segunda semana de utilização da droga, há um aumento dos anticorpos neutralizantes, o que requer novos estudos clínicos e outras modificações na estrutura.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Tillet WS, Garner RL. The fibrinolytic activity of hemolytic streptococci. *J Exptl Med*, 1933;58: 485-502.
2. Milstone H. A factor in normal human blood which participates in streptococcal fibrinolysis. *J Immunol*, 1941;42: 109-116.
3. Christensen LR. Streptococcal fibrinolysis: A proteolytic reaction due to a serum enzyme activated by streptococcal fibrinolysin. *J Gen Physiol*, 1945;28: 363-383.
4. Chazov EI, Mateeva LS, Mazaev AV, et al. Intracoronary administration of fibrinolysin in acute myocardial infarction. *Ter Arkh*, 1976; 48: 8-19.
5. Kennedy JW, Martin GV, Davis KB et al. The Western Washington intravenous streptokinase in acute myocardial infarction randomized trial. *Circ*, 1988;77(2): 345.
6. Kenedy, JW, Ritchie JL, Davis KB, Stradius ML, Maynard C, Fritz JK. The Western Washington randomized trial of intracoronary streptokinase in acute myocardial infarction. A 12- month follow-up report. *N Engl J Med* 1985; 312: 1073-1078.
7. Collen D, Lijnen HR. Molecular basis of fibrinolysis, as relevant for thrombolytic therapy. *Thromb Haemost* 1995;74:167-171.
8. Tsang TSM, Califf RM, Stebbins AL. *AmJCardiol* 1997;79:1232.
9. The GUSTO Investigators. *NEnglJMed* 1993; 329:673
10. Holmes DR, Califf RM, Topol EJ. *JAmCollCardiol* 1995;25(Suppl):10S.
11. The GUSTO Investigators. *N Engl J Med* 1993; 329:1615.
12. Neuhaus KL, Feuerer W, Jeep-Tebbe S, Niederer W, Vogt A, Tebbe U. Improved thrombolysis with a modified regimen of recombinant tissue-type plasminogen activator. *J Am Coll Cardiol*, 1989; 14: 1566-1569.
13. Cragg DR, Bonema JD, Jayiesimi IA, et al. Ineligibility for intravenous thrombolytic therapy predicts high mortality after acute myocardial infarction (abstr). *Circ*, 1989; 80(suppl II):II-522.
14. ISIS-2 (Second International Study of Infarct Survival) COLLABORATIVE GROUP. Randomized trial of intravenous streptokinase, oral aspirin, both or neither among 17.189 cases of suspected acute myocardial infarction: ISIS-2. *Lancet*, 1988; ii: 349.
15. GISSI (GRUPPO ITALIANO PER LO STUDIO DELLA STREPTOCHINASI NELL'INFARTO MIOCARDICO). Long-term effects of intravenous thrombolysis in acute myocardial infarction: final report of the GISSI study. *Lancet*, 1986; ii: 871.
16. Reimer KA, Jennings RB. The "wave front phenomenon" of myocardial ischemic cell death. II. Transmural progression of necrosis within the frame work of ischemic bed disease (myocardium at risk) andd collateral flow. *Lab. Invest.*, 1979; 40: 633-640.
17. LATE (Late assessment of thrombolytic efficacy study with alteplase 6-24 h after onset of acute myocardial infarction) Study Group. *Lancet*, 1993; 342: 759-766.
18. FTT – Indications for fibrinolytic therapy in suspected acute myocardial infarction: collaborative overview of early mortality and major morbidity results from all randomized trial of more than 1000 patients. *Lancet*, 1994; 343: 311-322.
19. Topol E, George BS, Kereiakes DJ, Stump DC, Candela RJ, Abbottsmith CW, Aronson L, Pickel A, Boswick JM, Lee KL, Ellis SG, Califf RM and The Thrombolysis and Angioplasty in Myocardial Infarction Study Group. A randomized controlled trial of intravenous tissue plasminogen activator and early intravenous heparin in acute myocardial infarction. *Circ*, 1989; 79: 281-286.
20. Advanced Cardiac Life Support. *American College of Cardiology*;1997.
21. Bode C, Smalling RW, Berg G, Burnett C, Lorch G, Kalbtfleisch JM, Chernoff R, Christie LG, Feldman RL, Seals AA, Weaver D, for the RAPID II investigators. *Circ*, 1996;94:891-898.
22. ASSENT-2 Single-bolus tenecteplase compared with front-loaded alteplase in acute myocardial infarction: the ASSENT-2 double blind randomized trial. *Lancet*, 1999; 354: 716-722.
23. Lingen,HR. Mechanisms of action and thrombolytic potential of staphylokinase. *Verh K Acad Genneskd Belg* 1995; 57:303.