

Současnost a budoucnost farmakogenetického testování se zaměřením na farmakoterapii deprese

prof. MUDr. Eva Češková, CSc.^{1,2}, MUDr. Petr Šilhán, Ph.D.²

¹Psychiatrická klinika LF MU a FN Brno

²KPN LF Ostravská univerzita a Oddělení psychiatrie, FN Ostrava

Článek pojednává o možnostech farmakogenetického testování v psychiatrii. Největšího pokroku v této oblasti bylo dosaženo u deprese. Několik expertních týmů a odborných společností se zabývá tvorbou doporučení pro farmakogenetické testování. Shody a silné evidence bylo dosaženo u genotypizace enzymů cytochromu P450 CYP2D6 a CYP2C19. Bylo zjištěno, že jejich aktivita souvisí i s účinností a tolerancí řady látek. V současnosti se dostávají do popředí zájmu multigenové testy, převážně komerčně vyráběné, které mohou pomoci při volbě léku a adekvátní dávky u konkrétního jedince. Nepochybně farmakogenetika bude hrát stále významnější roli v optimalizaci a individualizaci léčby v psychiatrii a měli bychom tuto problematiku zařadit do celoživotního vzdělávání v psychiatrii.

Klíčová slova: farmakogenetické testy, psychiatrie, doporučené postupy, antidepressiva.

The present and the future of pharmacogenetic testing with focus on the pharmacotherapy of depression

The paper deals with possibilities of pharmacogenetic testing in psychiatry. The greatest progress has been made in depressive disorder. Several expert groups and professional associations specialize on developing guidelines for pharmacogenetics testing. Consensus and high level of evidence have been achieved in genotyping of P450 CYP2D6 and CYP2C19 enzymes. It was found that their activity is associated with efficacy and tolerability of many drugs. Nowadays, the multigenes, mostly commercially produced tests, are becoming important. They can help with choice and adequate dosing of drug in individual patient. Undoubtedly, the pharmacogenetics will play an important role in optimization and individualization of treatment in psychiatry and we should include this topic into life long education in psychiatry.

Key words: pharmacogenetic testing, psychiatry, guidelines, antidepressants.

Úvod

Rychlý rozvoj moderních technologií umožnil soustředit velké množství objektivně měřitelných dat v reálném čase. V oblasti zdravotnictví jich využívá mj. precizní medicína, tedy personalizovaný přístup, který přidává k rozhodovacímu procesu měřitelné indikátory normálních a patogenních procesů (biomarkery) (1, 2).

Individuální rozdíly v účinnosti jednotlivých léčebných látek jsou zapříčiněny značnou měrou rozdílnou genetickou výbavou jednotlivce. Genetické faktory ovlivňující farmakokinetiku (absorpci, transport, metabolismus a exkreci léků), a farmakodynamiku (mechanismus působení na cílových strukturách) zkoumá farmakogenetika. Farmakogenetika v užším smyslu se zabývá studiem jednotlivých genů,

DECLARATIONS:

Declaration of originality:

The manuscript is original and has not been published or submitted elsewhere.

Ethical principles compliance:

The authors attest that their study was approved by the local Ethical Committee and is in compliance with human studies and animal welfare regulations of the authors' institutions as well as with the World Medical Association Declaration of Helsinki on Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects adopted by the 18th WMA General Assembly in Helsinki, Finland, in June 1964, with subsequent amendments, as well as with the ICMJE Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing, and Publication of Scholarly Work in Medical Journals, updated in December 2018, including patient consent where appropriate.

Conflict of interest and financial disclosures:

None.

Funding/Support:

None.

Cit. zkr: Psychiatr. praxi. 2024;25(2):71-75

<https://doi.org/10.36290/psy.2024.012>

Článek přijat redakcí: 14. 3. 2024

Článek přijat k tisku: 15. 4. 2024

prof. MUDr. Eva Češková, CSc.

eva.ceskova@gmail.com

zatímco farmakogenomika bere v úvahu celý lidský genom a studuje současně více genů. Lékařská genetika se na lékařských fakultách vyučuje v rámci klinických předmětů. Zabývá se spíše obecnými aspekty – posuzováním genetického rizika, prevencí, diagnostikou a v některých případech i léčbou geneticky podmíněných nemocí a vrozených vývojových vad. Problematika farmakogenetiky je nepochybně užší, částečně je pokryta výukou farmakologie. Její význam se poněkud liší v jednotlivých oborech. Významnou roli má v onkologii. Měla by být soustavněji zařazována do postgraduálního studia a celoživotního vzdělávání lékařů.

Farmakogenetické/genomické (PGx) testy umožňují určit pro jedince specifické varianty genů, které ovlivňují působení farmak, a mohou vést k individualizaci a optimalizaci léčby. Nejdelší zkušenosti máme s PGx testy identifikujícími geny zodpovědné za metabolismus léčiv, konkrétně izoenzymů cytochromu P450 CYP2D6 a CYP2C19. Jedinci s žádnou, nízkou nebo vysokou aktivitou metabolizujících enzymů jsou v riziku nadměrně vysokých nebo nízkých koncentrací léků v krvi, a tím vyššího výskytu nežádoucích účinků (NÚ) či neúčinnosti léčby (3).

Současný stav PGx testování v psychiatrii

Termín farmakogenetika poprvé použil Friedrich Vogel v roce 1959. Od té doby výzkum i znalosti v této oblasti značně pokročily a již zmíněné moderní technologie je dále urychlují. Průlomem ve vývoji bylo zavedení prvního farmakogenetického testu schváleného FDA. Jednalo se AmpliChip™ CYP450, který stanovil genotyp spojený s metabolizačními fenotypy izoenzymů CYP2D6 a CYP2C19 (4). V současnosti jsou stále více využívány kombinatorní testy zahrnující panely genů ovlivňující jak farmakokinetiku, tak farmakodynamiku léků. U antidepresiv (AD) se jedná o genetický polymorfismus genů související s funkcí serotoninu (serotoninového transportéru, serotoninových receptorů typu 5-HT_{2A}), u antipsychotik (AP) o polymorfismus genů pro dopaminové receptory. Mimo oblast farmakogenetiky jsou dnes již dostupné genetické, převážně komerčně vyráběné multigenové testy, které mohou poskytnout informaci o predispozici k hereditárním chorobám. Tvorbou postupů a aktualizací PGx testování v psychiatrii se zabývá řada expertů a odborných společnos-

tí. Nejuznávanější expertní skupiny jsou DPGW (The Dutch Pharmacogenomics Working Group, DPGW) a CPIC (Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium), z odborných společností Mezinárodní společnost pro psychiatrickou genetiku (International Society of Psychiatric Genetics, ISPG). Většina současných doporučených postupů se shoduje v tom, že stanovení aktivity metabolizujících enzymů CYP2D6 a CYP2C19 může v klinické praxi pomoci při individuální volbě a dávkování antidepresiv (AD) a antipsychotik (AP). Shoda panuje také na využitelnosti stanovení genetického polymorfismu genů pro HLA-A a HLA-B, který může souviset se závažnými kožními reakcemi při podávání karbamazepinu neběložské populace (5). Aktualizované doporučené postupy jsou přístupné na webových stránkách Pharm GKB (www.Pharmgkb.org) (6).

V našich podmínkách psychiatr může žádat (formou žádanky) o farmakogenetické vyšetření pod kódem E88.8 (jiná specifikovaná metabolická porucha stávající platné klasifikace MKN 10) oddělení lékařské genetiky a genomiky fakultních a velkých nemocnic, které tato oddělení mají. Farmakogenetické vyšetření v oblasti psychiatrie, zahrnuje genotypizaci CYP2C19 (resp. 2CD6). Jedná se o výkon hrazený pojišťovnou. Výsledek zahrnuje identifikaci a analýzu funkčních variant genu a interpretaci výsledků zahrnující zhodnocení aktivity enzymu a důsledku jejich aktivity (zrychlení, resp. zpomalení metabolizace, snížené reaktivity ev. snášenlivosti léku tímto enzymem metabolizovaných). V ČR vycházíme z doporučených postupů CPIC a informací zřejmějších PharmGKB.

I když stále více důkazů ukazuje, že PGx testování může zlepšit bezpečnost a účinnost většiny látek běžně předepisovaných v psychiatrické praxi, jsou v ČR požadavky ze strany psychiatrů, na rozdíl od celosvětového trendu minimální. Nedávno byla publikována práce zaměřená na využívání farmakogenetického testování u nemocných s psychiatrickou diagnózou ve FN Brno Bohunice (7). V letech 1997–2019 byl sledován počet žádánek na genotypizaci a fenotypizaci CYP2D6. Nejvíce vyšetření bylo realizováno v první dekádě v rámci klinických studií zaměřených na vliv aktivity CYP2D6 na účinnost a toleranci léčby AD. Postupně pak počet žádostí soustavně klesal, v r. 2019 již žádná žádost nebyla podána.

Ani v dalším období nebyl zaznamenán žádný požadavek ze strany psychiatrů.

Opačný trend, tj. postupný nárůst požadavků z praxe, byl pozorován v nedávno publikované studii ze severní Itálie. První tři roky sledovaného 5letého období (2014–2019) se požadavky týkaly pouze těhotných matek léčených AD, zařazených do velké klinické studie. V průběhu dalších dvou let docházelo postupně k nárůstu požadavků z praxe, nejčastěji na genotypizaci a fenotypizaci genů pro CYP2D6 a CYP2C19 (z AP nejvíce u klopazinu, haloperidolu a aripiprazolu, z AD SSRI) (8). V míře požadavků na tyto testy hraje roli řada faktorů, včetně finančních. Zajímavá je studie provedená v USA u depresivních nemocných, u kterých byla zahájena léčba AD v systému řízené péče. V systémech řízené péče se jedinec nepojišťuje na krytí nákladů spojených s jeho onemocněním, ale předplácí si přímo zdravotní péči. Platba lékařů tak není spojena se skutečně provedenými úkony a nutí poskytovatele k ekonomickému chování (provádí se pouze nezbytně nutné úkony, hospitalizace je minimalizována na nezbytně nutnou dobu). Bylo sledováno, zda genotypizace CYP2D6 a CYP2C19 byla požadována a plně hrazena v období jednoho roku po indexové depresivní epizodě. V konečném hodnocení to bylo méně než 1 % zařazených. Bez ohledu na iniciálně zvolené AD, 60 % pacientů po realizaci farmakogenetického testu cíleného na CYP2D6 a CYP2C19 nemělo předepsáno po roce stejné AD jako na začátku (9).

PGx testování u depresivní poruchy

Z psychických poruch má depresivní porucha nejvyšší prevalenci a postihuje na světě více než 300 milionů lidí (10). Pouze třetina nemocných reaguje na první léčbu remisí, u více než 30 % přetrvávají depresivní příznaky i po několika kúrách, což vede k preskripci pokus-omyl, horšímu dlouhodobému průběhu a finanční zátěži zdravotnického systému. Řada pacientů vysadí AD kvůli nežádoucím účinkům (NÚ) (11). AD předepisují lékaři prvního kontaktu a další specialisté. Zřejmě z těchto důvodů byla depresivní porucha věnována z hlediska PGx testování největší pozornost.

Užitečnost PGx testování u depresivní poruchy potvrdilo několik přehledových prací a metaanalýz. V roce 2023 Schaars publikoval nejnovější přehled randomizovaných kontrolo-

Inzerce

vaných studií (RCT) srovnávajících klinický efekt léčby řízené dle výsledků PGx testů oproti léčbě standardní (TAU = treatment as usual, běžně užívaná zkratka v anglosaské literatuře) (12). Do přehledu bylo zahrnuto 14 prospektivních klinických studií, z toho 11 RCT. Studie nejčastěji využívaly kombinatorní testy (Genesight test, zahrnující variace alel 5 genů – CYP1A2, CYP2D6, CYP2C19, serotoninový transportér a serotoninový receptor 5HT2A). Léčba na základě výsledků PGx testování vedla častěji k remisi a responzi než TAU a pacienti méně často vysazovali medikaci pro NÚ. Vysazení medikace je považováno za přibližný indikátor adherence a spokojenosti s léčbou. Zařazené studie byly převážně krátkodobé, trvající 8–12 týdnů. Jedna dlouhodobá studie nezjistila po 24 týdnech rozdíl mezi oběma skupinami v dosažení remise či odpovědi.

Zatímco některé obory prediktivní testování (tj. před zahájením léčby) u konkrétních léčiv vyžadují, současné doporučené postupy pro PGx v psychiatrii je pro běžnou klinickou praxi nedoporučují. Přesto některé studie ukazují, že prediktivní genotypizace může minimalizovat dobu titrace léku, snížit výskyt a závažnost NÚ a urychlit dosažení lékové odpovědi a remise včetně dosažení terapeutických hladin některých léků. Wang ve své metaanalýze (11 studií, 5347 pacientů) srovnával efekt léčby na bázi PGx testování s TAU po 4, 8, 12 a 24 týdnech. Zjistil, že PGx testování vedlo zpočátku k signifikantně častější lékové odpovědi a remisi, po 24 týdnech již rozdíl nebyl signifikantní (13). Vos a kolegové zjistili, že dávkování TCA dle výsledků genotypizace CYP2D6 a CYP2C19 vedlo k rychlejšímu dosažení terapeutických hladin a menšímu počtu a menší závažnosti NÚ (14). Swen s kolegy provedli otevřenou, TAU kontrolovanou studii s využitím farmakogenetického panelu 12 genů u téměř 7000 pacientů v řadě psychiatrických zařízení 7 evropských zemí a zjistili nižší výskyt klinicky relevantních NÚ v průběhu 12týdenního sledování (15). Nejčastěji předepisovaná AD (sertralin, citalopram a escitalopram) jsou významnou měrou metabolizovány CYP2C19. Funkční varianty CYP2C19 enzymu ovlivňují míru jejich NÚ, protože pomalí metabolizátoři jsou exponováni vyšší koncentrací těchto AD a mají zvýšené riziko gastrointestinálních, neurologických a sexuálních NÚ (16, 17). Pro širší využití PGx testů bude nezbytné provést dlouhodobé, komerčně nefinancované studie na dostatečně

velkých souborech, které by objektivně zhodnotily jejich ekonomický dopad. Na webových stránkách České společnosti pro lékařskou genetiku a genomiku je odkaz na poskytovatele jednotlivých PGx testů.

Kdy doporučit PGx testování?

DPWG doporučené postupy pro užití PGx testů v psychiatrické praxi doporučují zvažovat genotypizaci CYP2D6 a CYP2C19 při výskytu závažných NÚ nebo neúčinnosti standardně dávkovaných léků těmito enzymy metabolizovaných, případně u plazmatických koncentrací neodpovídajících dávce (16). Z uvedeného vyplývá aktuálnost PGx testování u farmakorezistentní deprese, definované nedostatečným efektem dvou AD při užití adekvátní dávky po dostatečnou dobu. Stanovení genotypu (a/nebo fenotypu) nejdůležitějších enzymů metabolizujících psychofarmaka usnadní a urychlí u neregulujícího jedince volbu další léčebné strategie. O výsledku by měl být nemocný informován a výsledek by měl být zaznamenán v jeho zdravotnické dokumentaci pro volbu farmakoterapie v budoucnosti (18, 19).

Perspektiva PGx testování v psychiatrii

Lze očekávat, že v budoucnosti budeme využívat častěji multigenové PGx testování. Již dnes se ukazuje, že proaktivní jednou za život provedené multigenové testování několika alel s výsledky integrovanými do elektronického zdravotního systému je ekonomičtější než reaktivní testování jednoho genu (20). Genetický výzkum a dynamicky se vyvíjející technologie sekvenování DNA postupně povede k lepší finanční dostupnosti testů. Strojové učení (algoritmus, který se zlepšuje v průběhu získávání zkušeností) lze využít ke zlepšení přesnosti a spolehlivosti výsledků zahrnutím mnohočetných faktorů ovlivňujících lékovou odpověď (21). Jejich predikční potenciál umožní v budoucnosti přechod od současné reaktivní medicíny k převážně preventivnímu přístupu. Aby se tato vize stala realitou, je nutné zaměřit se na lepší informovanost lékařů o této problematice a vypracovat jasné a konzistentní doporučené postupy.

Shrnutí a závěry

Pokud nebudou objasněny další léčebné cíle, zůstanou látky ovlivňující aktivitu neuro-

transmitterových systémů základem psychofarmakoterapie. V současnosti máme k dispozici dva způsoby, jak individualizovat a optimalizovat léčbu, tj. terapeutické monitorování léků (TDM) a farmakogenetické testování.

Česká psychiatrická společnost v r. 2018 poprvé zařadila kapitolu TDM v psychiatrii do svých doporučených diagnostických a léčebných postupů s příslibem pravidelné inovace (22). Nejčastějšími příčinami neúspěšné léčby, která je spojená s nízkými (neúčinnost) či vysokými (intolerance) krevními koncentracemi léků, je nonadherence, méně často individuální metabolické odchylky organismu či lékové interakce. TDM s kvalifikovanou interpretací klinickým farmakologem se v ČR rutinně provádí ve FN Ostrava a FN Brno. Výsledky TDM poskytnou přesnou aktuální informaci o přítomnosti léku v organismu. Interpretace příčin koncentrací neodpovídajících dávce však zůstává obsahem klinické rozvahy. Při podezření na individuální metabolické odchylky vyplývající z TDM bychom měli provést PGx testování. Zjištěné genetické metabolické abnormality jsou totiž stálou charakteristikou pacienta a jeho metabolismu xenobiotik. Zatímco TDM poskytuje průřezovou informaci v konkrétním čase, metabolický genotyp je stálý, byť za určitých okolností může dojít k zásahu do transkripce genetické informace, která vyústí v takovou změnu metabolické aktivity, že hovoříme o fenokonverzi (23). K této situaci může vést podávání AD ze skupiny specifických inhibitorů zpětného vychytávání serotoninu, SSRI, nebo současně probíhající zánětlivé onemocnění. Fenotypizace, která hodnotí aktuální stav aktivity metabolizujících enzymů může být výhodnější za situace, kdy předpokládáme výrazný vliv komedikace. Možnost fenotypizace však souvisí s dostupností laboratoře akreditované pro její provedení a je vyžadována nejspíše v rámci klinických studií.

Výsledek PGx testování slouží jako důležitý dlouhodobý nástroj pro zpřesnění terapeutických úvah napříč farmaky i obory. Svou přidanou hodnotu má zvláště u léků, bez stanoveného terapeutického rozmezí a v případě problematické dostupnosti TDM (při ambulantní léčbě).

V oboru psychiatrie je v ČR PGx testování zatím požadováno velmi sporadicky. Přitom počet pacientů užívajících AD roste, stejně jako se rozšiřuje off-label podávání AP. V účinnosti léčby hraje roli nejen interindividuální variabi-

lita, ale také genetický polymorfismus vázaný na jednotlivé etnické skupiny, což v současné době globalizace a migrace je nepochybně významné. Pomalý metabolismus AD a AP byl pozorován výrazně častěji u jedinců pocházejících z Asie a Afriky (24). I při limitovaných zdrojích

by měli tvůrci zdravotní politiky a poskytovatelé zdravotních služeb zajistit dostupnost PGx testování. TDM spolu s PGx testováním by měly být dostupné alespoň ve velkých a fakultních nemocnicích, kde se kumulují farmakorezistentní a problematicky léčitelní pacienti. Jejich uva-

žená aplikace zkrátí dobu do zahájení vhodné individualizované léčebné intervence se všemi pozitivními důsledky pro pacienta a ekonomickými pro společnost. Stejně důležitým krokem je také dostatečná pozornost věnovaná tomuto tématu při vzdělávání lékařů.

LITERATURA

1. Hockings JK, Pasternak AL, Erwin AL, et al. Pharmacogenomics: An evolving clinical tool for precision medicine. *Cleve Clin J Med*. 2020;87:91-99.
2. Quinlan EB, Banaschewski T, Barker GJ, et al; IMAGEN Consortium. Identifying biological markers for improved precision medicine in psychiatry. *Mol Psychiatry*. 2020;25(2):243-253.
3. Koopmans AB, Braakman MH, Vinkers DJ, et al. Meta-analysis of probability estimates of worldwide variation of CYP2D6 and CYP2C19. *Transl. Psychiatry*. 2021;11(11):141.
4. de Leon J. AmpliChip CYP450 test: personalized medicine has arrived in psychiatry. *Expert Rev Mol Diagn*. 2006;6:277-86.
5. Bousman CA, Bengesser SA, Aitchison KJ, et al. Review and consensus on pharmacogenomic testing in Psychiatry. *Pharmacopsychiatry*. 2021;54:5-17.
6. Clinical Guideline Annotations [Internet]. Pharm GKB; Available from: <https://www.pharmgkb.org/guidelineAnnotations>.
7. Češková E, Valášková I, Pindurová E, et al. Farmakogenetické testy a jejich současné využití v psychiatrické praxi Čes a slov Psychiat. 2022;118(6):237-239.
8. Baldelli S, Cheli S, Montrasio C, et al. Therapeutic drug monitoring and pharmacogenetics of antipsychotics and antidepressants in real life settings: A 5-year single centre experience. *World J Biol Psychiatry*. 2021;22:34-45.
9. Anderson HD, Thant TM, Kao DP, et al. Pharmacogenetic testing among patients with depression in a US managed care population. *Clin Transl Sci*. 2022;15(7):1644-1653.
10. Trivedi MH. Major depressive disorder in primary care: Strategies for identification. *J Clin Psychiatry*. 2020; 81(2)UT-17042BR1C.
11. Minelli A, Barlati S, Baune B. European College of Neuropsychopharmacology (ECNP) Pharmacogenomics and Transcriptomics Network. Evaluating study designs and treatment outcomes of antidepressant pharmacogenetic clinical trials – Challenges and future perspectives. A critical review. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2022;59:68-81.
12. Schaars KK, van Westrhenen R, Drakoulis M. Pharmacogenomics and the management of mood disorders – a Review. *J Pers Med*. 2023;13(7):1183.
13. Wang X, Wang Ch, Zhang Y, Zhuoling A. Effect of pharmacogenomics testing guiding on clinical outcomes in major depressive disorder: A systematic review and meta-analysis of RCT. *BMC Psychiatry*. 2023;23:334.
14. Vos CF, Ter Hark SE, Schellekens AFA, et al. Effectiveness of genotype-specific tricyclic antidepressant dosing in patients with major depressive disorder: A randomized clinical trial. *JAMA Netw Open*. 2023;6(5):e2312443.
15. Swen JJ, van der Wouden CH, Manson LE, et al. A 12gene pharmacogenetic panel to prevent adverse drug reactions: An open-label, multicentre, controlled, cluster-randomised crossover implementation study. *Lancet*. 2023; 401:347-356.
16. Cacabelos V, Naidoo L, Corzo N, et al. Genophenotypic factors and pharmacogenomics in adverse drug reactions. *Int. J. Mol. Sci*. 2021; 22:13302.
17. Desta Z, Zhao X, Shin JG, et al. Clinical significance of the cytochrome P450 2C19 genetic polymorphism. *Clin Pharmacokinet*. 2002; 41(12):913-58.
18. van Westrhenen R, Aitchison KJ, Ingelman-Sundberg M, et al. Pharmacogenomics of antidepressants and antipsychotic treatment: How far have we got and where are we going? *Front. Psychiatry*. 2020;11:94.
19. van Westrhenen R, van Schaik RHN, van Gelder T, et al. Policy and practice review: A first guideline on the use of pharmacogenetics in clinical psychiatric practice. *Front. Pharmacol*. 2021;12:640032.
20. Morris SA, Alsaïdi AT, Verbyla A, et al. Cost effectiveness of pharmacogenetic testing for drugs with Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guidelines: A systematic review. *Clin Pharmacol Ther*. 2022;112(6):1318-1328.
21. Cilluffo G, Fasola S, Ferrante G, et al. Machine learning: An overview and applications in pharmacogenetics. *Genes (Basel)*. 2021;12(10):1511.
22. Terapeutické monitorování léčiv v psychiatrii [Internet]. Psychiatrická společnost ČLS JEP; 2018. Available from: <https://postupy-pece.psychiatrie.cz/lecba/monitorovani-lecby-psychofarmaky/terapeuticke-monitorovani-leciv-v-psychiatrii>.
23. Moschny N, Hefner G, Grohmann R, et al. Therapeutic drug monitoring of second – and third-generation antipsychotic drugs-influence of smoking behavior and inflammation on pharmacokinetics. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2021;14(6):514.
24. Bertilsson L. Geographical/interracial differences in polymorphic drug oxidation. Current state of knowledge of cytochromes P450 (CYP) 2D6 and 2C19. *Clin Pharmacokinet*. 1995;29(3):192-209.