흡입 마취제가 임파구 전이에 미치는 영향

가톨릭대학 의학부 마취과학교실

최진환·이종호·정운혁

— Abstract —

Effects of Inhalation Anesthetics on Lymphocyte Transformation

Jin Whan Choi, M.D., Jong Ho Lee, M.D. and Woon Hyok Chung, M.D.

Department of Anesthesiology, Catholic University Medical College, Seoul, Korea

Anesthesia and operation may impair the immune system so that bacterial growth and tumor cells spread can occur more rapidly and host response to transplanted tissue may be altered.

In order to evaluate the influence of inhalation anesthetics on immune function, mitogen induced lymphocyte transformation and colony formation of T lymphocyte of peripheral blood in rats were studied.

The experimental animals were divided into 4 groups according to inhaled anesthetics such as control, 0.8% halothane, 1.65% enflurane and 1.05% isoflurane 6 hours inhaled group.

One day after inhalation of anesthetics, 5 ml of blood was sampled from inferior vena cava and the lymphocytes were isolated and cultured.

Spontaneous and phytohemagglutinin (PHA) or pokeweed mitogen (PWM) induced lymphocyte transformation were measured by the titration of ³H-thymidine uptake and the number of colony forming unit-T lymphocyte (CFU-TL) were counted.

The results were as follows:

Spontaneous lymphocyte transformation was increased by halothane and decreased by enflurane significantly but not differed by isoflurane compared with the control group.

Lymphocyte transformation were decreased significantly before and after PHA stimulation in all of the anesthetic groups respectively compared with the control group.

3) Lymphocyte transformation by PWM stimulation also decreased in all of the anesthetic groups.

4) The numbers of CFU-TL cluster and colony decreased in all of the anesthetic groups compared with the control group.

In conclusion, inhalation anesthetics such as halothane, enflurane and isoflurane decreased immune competence and that halothane was the most, isoflurane was the least immunosuppressive among these three inhalation anesthetics.

Key Words: Halothane, Enflurane, Isoflurane, Lymphocyte transformation

서론

임파구 등에 의한 세포매개 면역기능은 수술후 감염이

*본 논문은 1988년도 가톨릭 중앙의료원 학술연구 보조비로 연구되었음.

나 암환자 수술시 암세포에 대한 방어기능으로서 중요하며, 마취 및 수술 등에 의해서도 이러한 면역기능이 억제될 수 있다¹⁾.

마취제나 마취방법에 의한 면역억제 현상은 거의 없다고 알려 왔으나^{2,3)}, 마취제도 직접 또는 내분비 증가에 의해 면역억제를 일으킬 수 있으며^{4,5)}, 전신마취에 의한

수술시 발생한 면역억제가 국소마취 및 경막외마취에 의한 수술시에는 감소될 수 있다고 한다⁴⁾.

그러나 지금까지는 임파구 배양기에 흡입마취제를 노출시키는 시험관적 방법이나 수술후 면역 기능의 변화를 관찰하는 것 등이었을 뿐, 수술 자극을 제외한 흡입 마취제 자체가 면역기능에 미치는 영향이나 기전에 관해서는 알려진 바가 거의 없었다.

저자들은 임상에서 흔히 사용되고 있는 흡입마취제인 halothane, enflurane 및 isoflurane으로 마취한 후 유사분열물질인 phytohemagglutinin (PHA)과 poke-weed mitogen (PWM)으로 자극된 임파구의 전이 양상과 T임파구의 세포집락 형성에 미치는 영향을 검토하여 흡입마취제가 면역기능에 미치는 영향과 작용기전을 규명하기위해 본 실험을 실시하였다.

재료 및 방법

1) 실험동물

체중 150-250 g의 건강한 Sprague-Dawley 계 쥐 40 마리를 암수 구별없이 대기흡입 상태로 정상사육한 대조군, 0.8% Halothane, 1.65% Enflurane 및 1.05% Isoflurane으로 각각 6시간 마취한 군으로 나누어 각군 10마리씩 사용하였다.

2) 실험방법

(1) 마취방법 : 용적 100 liter (80×50×25 cm)의 밀폐된 아크릴 통속에 10마리 썸의 쥐를 넣고, 마취기계 (Quantiflex®, Fraser-Sweetman, U.S.A.)로 부터 각각의 흡입마취제와 산소를 공급하였으며, 흡입 농도로는 생리적 부작용없이 6시간 동안 투여할 수 있는 최대 농도인 0.75최소폐포농도(minimum alveolar concentration)로 흡입시켰다⁵⁾.

흡입마취제 농도측정기 (Engström Emma®, Engström, Sweden)를 이용하여 매시간 흡입가스중의 마취제 농도를 측정하였고, 흡입구 반대편 상단에 배기구를 만들어 초과가스를 누출시켰으며, 이산화탄소 농도측정기 (Normocap®, Datex, Finland)를 이용하여 매시간 배기가스 중의 이산화탄소 농도를 측정하였다.

처음에는 산소 용량을 분당 8 liter로 공급하여 통속을 충만시킨 후, 배기가스중의 이산화탄소 농도가 1.0%내외가 되도록 산소의 유량을 조절하였다.

(2) 임파구의 분리 및 배양 : 각각의 마취제로 6시간 마취시킨 후 회복과 안정을 위해 1일간 대기흡입 상태로 정상사육한 다음, Pentobarbital (엔토발®, 한림제약) 15 mg을 복강내 주입하여 마취시키고 복부를 소독 절개한 뒤, 방부제가 들어있지 않은 heparin (Connaght Lab. Canada)을 묻힌 1회용 주사기로 하대정맥에서 5 ml의 혈액을 채취하였다.

혈액 5 ml를 동량의 RPMI 1640® (Difco Lab., U.S.A.)으로 희석한 후 Ficoll hypaque® (Sigma Chemical Co., U.S.A.)가 들어있는 시험관에 넣고 원심침전하여 (2000 rpm×30분) 중간층의 임파구층을 분리하였다.

T임파구 세포집락의 배양을 위해 interleukin-2 조건배지 (Sigma Chemical Co., U.S.A.) 2 units에 Dulbecco 배양액, 20% 우태혈청 및 1% PHA-LCM (phytohemagglutinin-leucocyte conditioned media)의 혼합액 1 ml를 가하여 세포농도가 2×10^5 되게한 후, 한천의 최종농도를 0.3%로 하여 37°C 완전 습윤된 5% 이산화탄소 배양기에 1주간 배양하였다.

(3) 임파구 전이율 및 자극지수의 계산 : 임파구 부유액 100 μ l에 PHA와 PWM을 각각 100 μ g/ml씩 첨가하여 72시간 동안 37°C, 5% 이산화탄소 배양기에서 배양한 뒤, ³H-thymidine 2 μ Ci를 첨가하고 다시 24시간 동안 배양한 후, 방사능 측정기 (Liquid Scintillation Counter 6100®, Beckman, U.S.A.)를 사용하여 3회 반복 측정하였다.

PHA또는 PWM을 가하여 측정된 방사능 계수 (cpm, counts per minute)를 대조치로 나누어 임파구 전이율을 구하거나 다음과 같은 공식에 의해 자극지수를 계산하였다.

$$\text{임파구 자극지수} = \frac{\text{유사분열 물질을 첨가한 후 방사능계수 (cpm)}}{\text{유사분열 물질을 첨가하기 전의 방사능계수 (cpm)}}$$

(4) 세포집합과 세포집락수의 관찰 : 임파구를 1주간 배양한 후, aceto-orcein으로 염색하여 역상현미경으로 100배 배율하에 관찰하였다.

3-9개의 세포가 모인 것을 세포집합(cluster)으로, 40개 이상의 세포가 모인 것을 세포집락(colony)으로 정하였으며, 배양접시 전체에서 세포집합과 세포집락의 수를 계산하였다. 실험의 오차를 줄이기위해 삼중복 계산하여 그 평균치를 구하였다.

(5) 통계 : 대조군과 실험군의 방사능 계수와 임파

구 자극지수 및 임파구 세포집락수를 평균±표준편차로 표시하였으며, student t-test로 검정하여 $p < 0.05$ 일때 통계적 의의를 부여하였다.

성 격

1) 임파구 자연전이 시의 방사능 계수

임파구 자연전이 시 측정된 ^3H -thymidine의 방사능 계수는 대조군에 비해 halothane 마취군은 유의있게 증가하였으나($p < 0.05$), enflurane 마취군은 유의있게 감소하였으며($p < 0.001$), isoflurane 마취군에서는 통계적 차이가 없었다(Table 1).

2) PHA와 PWM자극에 의한 임파구전이

PHA자극에 의한 ^3H -thymidine의 방사능 계수는 halotane, enflurane, isoflurane 마취군에서 대조군에 비해 모두 유의있게 감소하였으며($p < 0.001$), enflurane 마취군에서의 감소가 비교적 적었다(Table 1).

PWM자극에 의한 방사능 계수는 halothane과 enflurane 마취군에서 대조군에 비해 현저히 감소하였으며($p < 0.001$), isoflurane 마취군에서도 유의있게 감소하였다($p < 0.001$) (Table 1).

3) PHA와 PWM에 의한 임파구 자극지수

PHA에 의한 임파구 자극지수는 대조군(13.6 ± 0.98)에 비해 halothane과 isoflurane마취군에서 각각 7.4 ± 2.42 , 7.9 ± 0.57 로 유의있게 감소하였으며, enflurane 마취군에서는 10.6 ± 0.90 으로 역시 유의있게 감소하였으나($p < 0.001$) 감소폭은 적었다(Fig. 1).

PWM에 의한 임파구 자극지수는 대조군(9.6 ± 1.02)

에 비해 halothane, enflurane 마취군에서 각각 0.9 ± 0.23 , 1.2 ± 0.26 으로 현저히 감소하였으며, isoflurane 마취군에서는 5.3 ± 0.76 으로 유의있게 감소하였으나($p < 0.001$) 감소폭은 적었다(Fig. 2).

4) T 임파구 세포집합과 세포집락수

T 임파구 세포집합수는 대조군에 비해 halothane, enflurane 및 isoflurane 마취군에서 각각 유의있게 감

Fig. 1. Comparison of phytohemagglutinin stimulation index with or without inhalation anesthetics in rats.

(* $P < 0.001$)

C: Control H: Halothane
E: Enflurane I: Isoflurane

Table 1. Effects of Anesthetic Agents on Lymphocyte Transformation by Radioactivity of H^3 -thymidine Uptake in PHA or PWM Stimulated Lymphocytes, cpm (Mean ± SD) (n = 10)

	Spontaneous transformation	PHA stimulated	PWM stimulated
Control	1436.6 ± 117.85	19464.2 ± 745.50	13746.7 ± 1653.58
Halothane	1627.2 ± 248.86*	11477.5 ± 222.70**	1400.9 ± 202.60**
Enflurane	1237.2 ± 78.02**	13115.3 ± 148.77**	1481.9 ± 321.95**
Isoflurane	1493.5 ± 100.83	11862.8 ± 907.72**	7826.1 ± 927.86**

* $p < 0.05$, ** $p < 0.001$

PHA; phytohemagglutinin

PWM; pokeweed mitogen

Fig. 2. Comparison of pokeweed mitogen stimulation index with or without inhalation anesthetics in rats.

(*P < 0.001)

C: Control H: Halothane
E: Enflurane I: Isoflurane

Table 2. Changes of Number of CFU-TL Cluster and Colony in Peripheral Blood (Mean $\pm$ SD) (n=10)

	No. of cluster	No. of colony
Control	162.8 $\pm$ 5.95	156.4 $\pm$ 6.74
Halothane	91.5 $\pm$ 4.21**	104.0 $\pm$ 2.83**
Enflurane	96.4 $\pm$ 3.32**	106.0 $\pm$ 3.22**
Isoflurane	96.4 $\pm$ 5.20**	124.8 $\pm$ 5.88**

** P < 0.001

CFU-TL; colony forming unit-T lymphocyte

소하였으며 ($p < 0.001$), 세포집락수는 대조군에 비해 유의있게 감소하였다 ($p < 0.001$ (Table 2)).

고 찰

약제에 의한 면역기능의 저하를 규명하는 방법으로는 특이항원이나 유사분열 물질로 자극된 임파구 전이의 감소, 세포독성 임파구의 생성억제 및 항체형성의 감소 등

이 사용되고있는데, 이중 특이항원이나 유사분열 물질의 자극에 의한 임파구 전이가 면역적격성의 지표로 널리 사용되어왔다⁸⁾.

전신마취로 수술받은 환자에서 임파구 전이의 억제는 마취시작 2시간 내에 나타나며⁹⁾, 마취직후 최고로 억제되고¹⁰⁾, 3주간 지속된다¹¹⁾. 한편 전신마취로 대수술 후 임파구의 수와 기능이 감소되며¹⁰⁾ 임파구 전이도 억제되지만¹³⁾, 소수술 시에는 임파구 전이의 억제가 나타나지 않는다²⁾.

또한 대수술 후 임파구전이 억제도 술후 5일에 정상으로 회복되어 임상적 문제를 야기시키지 않는다¹²⁾.

즉 수술적 외상이 면역억제에 중요한 역할을 하며 마취 자체에 의한 영향은 적다고 하였는데^{2,14)}, 수술적 외상에 의한 신경계 자극으로 cortisol과 adrenalin의 분비가 증가되어, 내분비계와 stress의 복합반응에 의해 임파구전이 억제가 일어난다고 알려져있다¹⁵⁾.

또한 실혈⁹⁾, 질병¹⁶⁾, 고령¹⁷⁾등도 임파구전이 억제의 원인이 될 수 있으며, corticosteroids¹⁸⁾, salicylate¹⁹⁾, 면역억제제²⁰⁾등에 의해서도 임파구 전이가 억제될 수 있다.

한편 수술후 면역억제가 수술적 외상이나 마취제보다는 전신마취 자체에 의해 나타날 수 있다는 주장²¹⁾과, 마취도입 수술시작 전에 임파구 전이가 감소한다는 실험⁴⁾으로 마취제와의 연관성에 대해서도 의문을 갖게되었다.

저자들은 임파구 전이에 영향을 줄 수 있는 여러 요소들을 배제하고, 마취약제 자체 만의 영향을 규명하기 위해 쥐에게 halothane, enflurane 및 isoflurane을 흡입시키는 동물실험을 실시하였다.

6시간 동안의 마취제 흡입후 회복과 안정을 위해 1일간 정상사육한 후, 하대정맥에서 채혈하여 임파구를 분리배양하였으며, 임파구 전이의 자극을 위한 유사분열 물질로 T세포 자극을 위해 phytohemagglutinin (PHA), B세포 자극을 위해 pokeweed mitogen (PWM)을 사용하였다²²⁾.

저자들의 실험에서 halothane 마취군에서는 대조군에 비해 임파구의 자연전이는 증가하였으나, PHA와 PWM의 자극에 의한 임파구 전이는 현저히 감소하였다. 이는 halothane의 임상적 농도에서도 임파구 전이가 감소될 수 있음을 보여주는 것으로서, 임상적 농도와 노출시간에서는 임파구 전이의 감소를 보이지 않았다는

Duncan들의 보고²³⁾와는 상반되는 것이며, 임상적 농도 이상의 고농도²⁴⁾와 장시간 노출시²⁵⁾ 임파구 전이가 농도와 노출시간에 비례하여 감소된다는 보고와도 차이를 보이고 있다.

enflurane 마취군에서는 임파구 자연전이 뿐 아니라 PHA와 PWM의 자극에 의한 전이도 감소하였는데 enflurane에 의해 임파구 전이가 다소 증가하지만 유의 있는 증가를 보이지않았다는 Duncan들의 보고²³⁾와는 상반되는 결과를 보이고있으며, PHA에 의한 자극지수는 halothane이나 isoflurane보다 감소 폭이 적었다.

isoflurane 마취군에서도 임파구 자연전이와 PHA 자극에 의한 전이가 감소하였으며, PWM으로 자극한 경우 halothane이나 enflurane보다 감소폭이 훨씬 적었다. 이는 isoflurane에 의해 특히 T 임파구 억제에 심하며 B 임파구의 억제는 다른 약제에 비해 적다는 것을 의미하며, 현재까지 이에대한 보고는 전적 없었다. PHA보다 PWM 자극에 의한 ³H-thymidine 흡수가 더욱 감소한 것은 T 세포보다 B 세포 억제가 더욱 큰 것을 의미하는데, 이는 보조 T 세포는 감소되고 억제 T 세포는 증가하기 때문일 것이다²⁶⁾.

PHA와 PWM으로 자극된 임파구 전이의 감소는 임파구의 분화 증식을 억제하여, 혈액내의 T임파구와 B 임파구의 수와 기능을 억제함으로써 면역기능을 저하시키게된다.

한편 마취제를 흡입시킨 쥐의 혈액에서 채취한 T 임파구 전구세포의 배양결과, T 임파구의 세포집합과 세포집합의 형성은 대조군에 비해 모두 유의있게 감소하였는데, 이는 흡입마취제에 의해 임파구 간세포의 분화 초기단계에도 영향을 미친다는 것을 의미한다.

PHA자극에 의한 ³H-thymidine 흡수가 전신마취 후에는 감소하지만 경막의마취 후에는 증가한다는 보고⁶⁾에서 알 수 있듯이 마취방법에 따른 술후 면역 억제현상의 차이로 전신마취에 의한 면역 억제현상이 국소마취나 경막의마취에서는 나타나지 않는데, 이는 경막의마취에 의해 수술적 외상으로 인한 내분비-대사 반응이 차단되기 때문이라 생각된다.

또한 정맥마취제인 fentanyl, morphine 및 diazepam 등은 면역억제 현상이 적은 것으로 나타났으며, 근육이완제인 pancuronium과 국소마취제인 bupivacaine등도 변화가 없는 것으로 알려져있다¹⁵⁾.

흡입마취제 halothane, enflurane 및 isoflurane의

임상 농도에서 정도의 차이는 있으나 세포매개 면역의 억제가 나타남을 볼 수 있었고, halothane에 비해 enflurane이나 isoflurane이 면역억제가 적게 나타났다. 술중 또는 술후 면역기능의 억제를 고려해볼 때 경막의마취나 정맥마취가 영향이 적으며, 흡입마취제로서는 halothane 보다 enflurane이나 isoflurane이 면역억제가 적었으나, enflurane보다 isoflurane이 면역억제 기능이 더 적은 사실에 대해서는 더 많은 연구가 필요하다고 생각되었다.

저자들의 실험에 사용한 마취제의 농도와 노출시간은 임상적으로 흔히 사용되는 것이며, 이러한 농도와 시간에서의 마취제에 의한 면역억제는 전신상태가 불량한 환자나 면역기능이 저하된 환자에서는 특히 중요한 의미를 갖는다.

결 론

흡입마취제 자체가 면역기능에 미치는 영향을 알아보기 위해 Sprague-Dawley계 쥐를 이용하여, halothane, enflurane 및 isoflurane으로 6시간 동안 0.75 최소폐포 농도로 마취한 후, 임파구를 분리 배양하여 임파구의 자연전이 정도와 유사분열 물질인 phytohemagglutinin (PHA)과 pokeweed mitogen (PWM)으로 자극된 임파구의 전이 정도를 ³H-thymidine 방사능으로 측정하였으며, T 임파구의 세포집합과 세포 집락수를 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 임파구의 자연전이는 halothane 마취후 증가하였으며, enflurane 마취후 감소하였고, isoflurane 마취 후에는 대조군에 비해 변화가 없었다.

2) PHA로 자극된 임파구의 전이는 halothane, enflurane 및 isoflurane 마취군 모두에서 대조군에 비해 유의있게 감소하였다. 이중 enflurane 마취군에서의 임파구 전이의 감소가 다소 적었다.

3) PWM으로 자극된 임파구의 전이는 halothane, enflurane 및 isoflurane 마취군 모두에서 감소하였으나, isoflurane 마취군에서의 임파구 전이의 감소가 훨씬 적었다.

4) T 임파구 세포집합과 세포집락수는 halothane, enflurane 및 isoflurane 마취군에서 대조군에 비해 유의있게 감소하였다.

이상의 실험결과로 미루어 흡입마취제 halothane,

enflurane 및 isoflurane 모두가 정도의 차이는 있으나 면역기능을 저하시킴을 알 수 있었고, 임파구 분화증상의 전체단계에서의 영향을 미침을 알게되었으며, 특히 halothane이 enflurane이나 isoflurane보다 면역억제의 정도가 심했다.

참 고 문 헌

- 1) Cullen BF, Duncan PG, Ray-Keil L: *Inhibitor of cell-mediated cytotoxicity by halothane and nitrous oxide. Anesthesiology* 44:386, 1976
- 2) Cullen BF, van Belle G: *Lymphocyte transformation and changes in leukocyte count: Effects of anesthesia and operation. Anesthesiology* 43:563, 1975
- 3) Kent JR, Geist S: *Lymphocyte transformation during operations with spinal anesthesia. Anesthesiology* 42:505, 1975
- 4) Espanol T, Todd GB, Soothill JF: *The effect of anesthesia on the lymphocyte response to phytohaemagglutinin. Clin Exp Immunol* 18:73, 1974
- 5) Walton B: *Effects of anaesthesia and surgery on immune status. Br J Anaesth* 51:37, 1979
- 6) Hole A, Unsgaard G: *The effect of epidural and general anesthesia on lymphocyte functions during and after major orthopaedic surgery. Acta Anaesth Scand* 27:135, 1983
- 7) Mazze RI, Fujinaga M, Rie SA, et al: *Reproductive and teratogenic effects of nitrous oxide, halothane, isoflurane and enflurane in Sprague-Dawley rats. Anesthesiology* 64:339, 1986
- 8) Bloom BR: *In vitro methods in cell mediated immunity in man. N Engl J Med* 284:1212, 1971
- 9) Jubert AV, Lee ET, Hersh EM, et al: *Effects of surgery, anesthesia and intraoperative blood loss on immunocompetence. J Surg Res* 15:399, 1973
- 10) Park SK, Brody JJ, Wallace HA, et al: *Immunosuppressive effect of surgery. Lancet* 53, 1971
- 11) Bergman S, Borgström S, Tärnvik A: *Lymphocyte response to phytohaemagglutinin following cholecystectomy. Acta Pathol Microbiol Scand* 75:363, 1969
- 12) Slade MS, Simmons RL, Yunis E, et al: *Immunodepression after major surgery in normal patients. Surgery* 78:363, 1975
- 13) Riddle PR, Berenbaum MC: *Postoperative depression of the lymphocyte response to phytohaemagglutinin. Lancet* 746, 1967
- 14) Rem J, Brandt MR, Kehlet H: *Prevention of postoperative lymphopenia and granulocytosis by epidural analgesia. Lancet* 283, 1980
- 15) Hole A: *Depression of monocytes and lymphocytes by stress-related humoral factors and anaesthetic-related drugs. Acta Anaesth Scand* 28:280, 1984
- 16) Roth JA, Golub SH, Grimm EA, et al: *Effects of operation on immune response in cancer patients: Sequential evaluation of in vitro lymphocyte function. Surgery* 79:46, 1976
- 17) Gatti RA, Good RA: *Aging, immunity and malignancy. Geriatrics* 25:158, 1970
- 18) Caron GA: *The effect of antimetabolites and corticosteroids on lymphocyte transformation in vitro. Proc Third Annual Leucocyte Conference. New York, Appleton-Century-Crofts, 1967, p 287*
- 19) Pachman LM, Esterly NB, Peterson RDA: *The effect of salicylate on the metabolism of normal and stimulated human lymphocytes in vitro. J Clin Invest* 50:226, 1971
- 20) Hersh EM, Oppenheim JJ: *Inhibitor of in vitro lymphocyte transformation during chemotherapy in man. Cancer Res* 27:98, 1967
- 21) Whelan P, Morris PJ: *Immunological responsiveness after transurethral resection of the prostate: general versus spinal anesthetic. Clin Exp Immunol* 48:611, 1982
- 22) Stites DP, Stobo JD, Wells JV: *Clinical laboratory methods for detection of cellular immune function. In Basic & Clinical Immunology, 6th ed, Connecticut, Appleton & Lange, 1987, p 285*
- 23) Duncan PG, Cullen BF, Calverly R, et al: *Failure of enflurane and halothane anesthesia to inhibit lymphocyte transformation in volunteers. Anesthesiology* 45:661, 1976
- 24) Bruce DL: *Halothane inhibition of phytohemagglutinin-induced transformation of lymphocytes. Anesthesiology* 36:201, 1972
- 25) Cullen BF, Sample WF, Chretien PB: *The effect of halothane on phytohemagglutinin-induced transformation of human lymphocytes in vitro. Anesthesiology* 36:206, 1972
- 26) Hansbrough JF, Zapata-Sirvent RL, Bartle EJ, et al: *Alterations in splenic lymphocyte subpopulations and increased mortality from sepsis following anesthesia in mice. Anesthesiology* 63:267, 1985