



Estudio Observacional Referente a Patrones de Actividad Renal y Esquemas Terapéuticos Empleados en Nefritis Lúpica en Pacientes Mexicanos en el Hospital General de Culiacán



Serrano Ruiz Jorge Alejandro*, Maradiaga Ceceña Marco Antonio**

RESUMEN

Introducción: Diversos patrones de enfermedad se han descrito en relación a nefritis lúpica en múltiples investigaciones; el patrón remisión – recaída es el más observado, la presencia de recaídas después de alcanzar remisión se asocia con peores resultados a largo plazo para estos pacientes; el uso de esquemas triples se ha asociado con menor presencia de patrón remisión – recaída.

Objetivo: Correlacionar el patrón de enfermedad con las características bioquímicas, histológicas y esquema terapéutico en pacientes con nefritis lúpica.

Material y Métodos: Se realizó un estudio observacional, retrospectivo, en el Hospital General de Culiacán en el periodo comprendido de enero de 2018 a septiembre de 2018, donde se incluyeron a un total de 48 pacientes con lupus eritematoso sistémico y nefritis lúpica diagnosticada, bajo tratamiento con inmunosupresores y bajo observación durante un periodo de al menos 2 años.

Resultados: El patrón remisión – recaída fue el más comúnmente observado seguido por el patrón persistente – inactivo; se observó correlación entre uso de esquemas dobles con el patrón remisión – recaída y uso de esquema triple con patrón persistente – inactivo; así mismo, se estableció correlación con la determinación de patrón de enfermedad y proteinuria basal y de última medición, así como con la determinación de patrón de enfermedad y creatinina basal de y de última medición.

Conclusión: El patrón de enfermedad en nefritis lúpica más predominantemente encontrado fue el de remisión y recaída; el uso de esquemas dobles se correlaciona con la mayor presencia de este patrón, el uso de esquemas triples se asoció a mayor presencia de patrón persistente – inactivo.

Palabras clave: Lupus eritematoso sistémico, Nefritis lúpica, Patrón de enfermedad, Esquemas terapéuticos.

ABSTRACT

Introduction: Various disease patterns have been described in relation to lupus nephritis in multiple investigations; the remission-relapse pattern is the most observed, the presence of relapses after reaching remission is associated with worse long-term results for these patients; the use of triple schemes has been associated with less presence of remission - relapse pattern.

Objective: To correlate the disease pattern with biochemical, histological and therapeutic scheme characteristics in patients with lupus nephritis.

Material and Methods: An observational, retrospective study was conducted at the General Hospital of Culiacan in the period from January 2018 to September 2018, where a total of 48 patients with systemic lupus erythematosus and diagnosed lupus nephritis were included, under treatment with immune suppressants and under observation for a period of at least 2 years.

Results: The pattern of remission – relapse was the most commonly observed followed by persistent - inactive pattern; a correlation was observed between the use of double schemes with the remission – relapse pattern and the use of a triple scheme with a persistent - inactive pattern; Likewise, correlation was established with the determination of disease pattern and baseline proteinuria and last measurement, as well as with the determination of the baseline disease and creatinine pattern and the last measurement.

Conclusion: The disease pattern in lupus nephritis most predominantly found was remission and relapse; the use of double schemes correlates with the greater presence of this pattern, the use of triple schemes was associated with a greater presence of persistent - inactive pattern.

Key words: Systemic lupus erythematosus, Lupus nephritis, Disease pattern, Therapeutic schemes.

INTRODUCCIÓN

Las patologías autoinmunes si bien no son enfermedades de gran prevalencia en la población mundial, si tienden a ser enfermedades las cuales al afectar al paciente suelen conferirle un mal pronóstico a largo plazo.

En este caso el Lupus eritematoso Sistémico es una enfermedad autoinmune que puede afectar prácticamente cualquier órgano y/o sistema; que comúnmente afecta de mucha mayor manera al sexo femenino y que al afectar al

riñón (40-60% en adultos)¹ suele conferir menor calidad de vida, mayores riesgos de morbilidad como progresión de enfermedad renal a etapa terminal con requerimiento de hemodiálisis y mayor mortalidad.

Además de ser común, la nefritis lúpica (NL) demarca morbilidad y mortalidad elevadas, como se enfatizó en meta-análisis de 12 estudios que incluyeron 27,123 pacientes con 4,993 muertes que otorgó índice estandarizado de

*Residente de Medicina Interna del Hospital General de Culiacán, Correo: alex_legion_1908@hotmail.com

Estudio Observacional Referente a Patrones de Actividad Renal y Esquemas Terapéuticos Empleados en Nefritis Lúpica en Pacientes Mexicanos en el Hospital General de Culiacán

mortalidad a la glomerulonefritis de 7.9.² El tener afección renal incrementa sustancialmente morbi-mortalidad, principalmente nefritis lúpica proliferativa, mezclas de formas proliferativas, y más aún al estar en insuficiencia renal en fase sustitutiva.³

Aproximadamente el 45% de los pacientes con NL no responde al tratamiento inicial o presenta recaídas, lo que ha llevado a la búsqueda de otras estrategias terapéuticas.^{4,6} Györi et al recientemente describieron patrones de actividad de LEG en 1886 pacientes con seguimiento de 1-28 años, encontrando que el patrón más frecuente fue el caracterizado por recaídas y remisiones según SLEDAI modificado y evaluación global de médico en 53.8% y 49.9%, respectivamente.⁵

La combinación de GC con CFM ha sido un régimen tradicional (National Institutes of Health Regimen y Euro-lupus Regimen), sin embargo su eficacia no ha sido totalmente satisfactoria y ya se ha mencionado que en ocasiones su empleo se ve limitado por sus potenciales efectos adversos.⁶ De igual manera, recientemente MMF ha sido utilizado como alternativa para el tratamiento inicial de NL y los inhibidores de calcineurina (Tacrolimus (TAC) y ciclosporina A (CiA)) han sido introducidos como terapia alternativa a CFM.⁷ Zimmerman consideró que la combinación de fármacos que impacte en múltiples blancos simultáneamente resulta más adecuada para controlar enfermedades sistémicas complejas.⁸

En nuestro medio (específicamente en nuestro hospital) no existe de momento una determinación de cuál es el patrón predominante de nefritis lúpica, así tampoco un protocolo de cuál debe ser el esquema terapéutico a seguir con este tipo de pacientes basado en la información y estadística local, por esta razón, es importante determinar cuál es el patrón más observado, si existe correlación con el uso de esquemas dobles o triples con el desarrollo de estos patrones y de ser posible posteriormente llevar a cabo ensayos aleatorizados para evaluar que esquema es el que otorgue mayores beneficios a los pacientes con nefritis lúpica, una patología creciente en la población mexicana y de nuestra localidad.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio observacional, retrospectivo, en el Hospital General de Culiacán en el periodo comprendido de Noviembre de 2017 a Septiembre de 2018.

Mediante uso del expediente clínico electrónico se obtuvo la información de los pacientes identificados con Lupus eritematoso Sistémico en la consulta de reumatología, así mismo dentro de estos mismos a los pacientes con nefritis lúpica identificada por biopsia o por criterios especificados en los siguientes apartados; de enero 2012 a enero de 2018 evaluando su evolución por medio de las consultas subsecuentes y el registro de su estado físico y laboratoriales subsecuentes.

Identificando de esta manera los patrones de actividad lúpica y su correlación con los esquemas terapéuticos empleados.

Se estudiaron a un total de 48 pacientes, todas del sexo femenino, con edades de entre 15 a 45 años, con diagnóstico establecido por criterios SLICC de Lupus eritematoso sistémico y con nefritis lúpica establecida por criterios ya previamente mencionados.

Se identificó como datos principales, la creatinina basal y proteinuria en orina de 24 hrs, así mismo se recabaron los datos de seguimiento a estas dos variables principales en los 3,6,9,12,18 y 24 meses siguientes como mínimo de seguimiento de tiempo, según lo plasmado en el expediente clínico.

Las pacientes se pudieron dividir de acuerdo al esquema terapéutico que estas recibieron durante el periodo de tiempo en que fueron estudiadas en tres grandes grupos, aquellas recibiendo el esquema triple que consiste en ciclofosfamida, micofenolato y prednisona, esquema doble con ciclofosfamida y prednisona y esquema doble con micofenolato y prednisona, con dosis variables de acuerdo a peso corporal.

Una vez identificado el esquema terapéutico utilizado se siguieron las variables antes mencionadas y de esta manera se establecieron tres patrones de actividad renal (criterios para cada uno previamente mencionados), aquellas con actividad remisión y recaída, crónico activo y persistente inactivo; así mismo se estableció correlación entre el esquema terapéutico empleado y el tipo de actividad renal que presentó cada paciente de esta manera buscando correlación entre esquema y severidad de actividad lúpica renal.

Estudio Observacional Referente a Patrones de Actividad Renal y Esquemas Terapéuticos Empleados en Nefritis Lúpica en Pacientes Mexicanos en el Hospital General de Culiacán

RESULTADOS

Se realizó un estudio observacional, retrospectivo, descriptivo en un total de 48 pacientes de entre 15 y 45 años de edad promedio fue de 27.2 años (DE=6.6), en su totalidad del sexo femenino (por prevalencia de Lupus eritematoso sistémico en este género), con diagnóstico de Lupus eritematoso sistémico diagnosticado por criterios SLICC y presencia de nefritis lúpica diagnosticada mediante prueba histológica por biopsia o marcadores bioquímicos ya descritos; en el periodo comprendido de enero de 2018 a septiembre de 2018. Las variables demográficas de los pacientes se muestran en el cuadro 1.

Cuadro 1.- Características clínicas e histológicas de las pacientes incluidas

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA	FRECUENCIA (%)
VARIABLE	FRECUENCIA (%)
DIABETES MELLITUS	1 (2.1%)
HIPERTENSION ARTERIAL	10 (20.8%)
CLASE DE NEFRITIS LÚPICA	
CLASE III	6 (12.5%)
CLASE IV	1 (2.1%)
NO REPORTA	41 (85.4%)
ESQUEMA TERAPIA	
TRIPLE (C+F+P)	11 (22.9%)
DOBLE CICLO (C+P)	23 (47.9%)
DOBLE MMF (M+P)	13 (27.1%)
PREDNISONA	1 (2.1%)
PATRON DE ENF	
RECAÍDAS REMISIONES	35 (72%)
PERSISTENTE INACTIVO	12 (25%)
CRÓNICO ACTIVO	1 (2.1%)

Podemos observar que de las 48 pacientes incluidas solamente en 7 pacientes se obtuvo biopsia renal y de las cuales el 12.5% (6) obtuvieron un reporte de grado III histológico, la otra paciente con biopsia renal reportada se encontraba en grado IV.

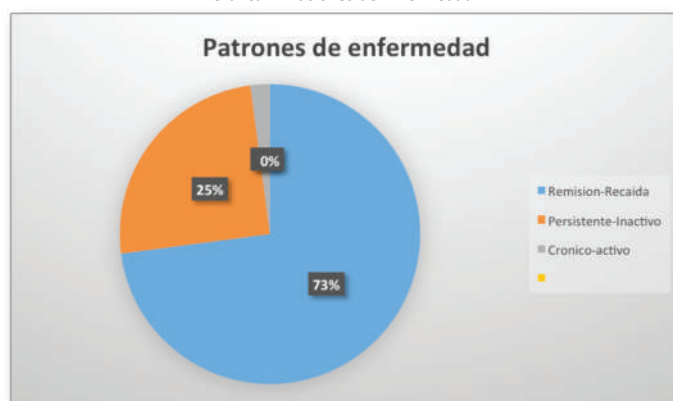
En cuanto a los esquemas terapéuticos empleados podemos observar que en el 47.9% (23) se utilizó un esquema a base de dos fármacos ciclofosfamida mas prednisona, el 22.9% recibieron triple esquema (ciclofosfamida, micofenolato mas prednisona) y el 27.1% recibieron esquema doble basado en micofenolato y prednisona, mostrando así el uso predominante de esquemas con doble fármaco en nuestro medio.

Grafica 1. Esquemas terapéuticos empleados.



En cuanto a los patrones de enfermedad observados el 72% fueron catalogadas bajo un patrón de Remisión y recaída, mientras que el 25% en un patrón Persistente inactivo y solo el 2.1% en un patrón Crónico activo.

Grafica 2. Patrones de Enfermedad



La descripción bioquímica de las pacientes con nefritis lúpica puede realizarse basados en niveles de creatinina sérica y proteinuria descritos en el cuadro 1, donde observamos que la creatinina basal promedio fue de 0.87 mg/dl, a los 6 meses de 0.96 mg/dl, a los 12 meses de 1.04 a los 24 meses de 0.82 mg/dl y de ultimo seguimiento de 0.89 mg/dl.

Estudio Observacional Referente a Patrones de Actividad Renal y Esquemas Terapéuticos Empleados en Nefritis Lúpica en Pacientes Mexicanos en el Hospital General de Culiacán

La proteinuria basal promedio fue de 393.5 mg/dl, a los 6 meses de 476.4 mg/dl, a los 12 meses de 529.3 mg/dl a los 24 meses de 516.1 mg/dl y en último seguimiento de 437.7 mg/dl; con un patrón predominante ya descrito de remisión y recaída.

Con respecto a la correlación entre esquema terapéutico empleado y patrón de enfermedad observado los resultados mostraron lo siguiente:

*El 62.9% (22) de los pacientes en recaída remisión utilizó el esquema doble de ciclofosfamida más prednisona.

*Mientras que el 31.4% de los pacientes en remisión – recaída utilizó el esquema doble de micofenolato más prednisona.

Estos últimos datos sugieren una correlación entre uso de esquemas dobles y mayor presencia de patrón remisión y recaída.

EL 75% (9) de los pacientes en persistente inactivo utilizó el esquema triple, esto sugiere una correlación entre uso de esquema triple y mayor presencia de patrón persistente inactivo, es decir mayor tiempo sin actividad de la enfermedad y por ende mejores resultados a largo plazo.

Mientras que en la categoría de crónico activa sólo hubo una paciente que utilizaba el esquema doble de ciclofosfamida más prednisona.

Cuadro 2. Correlación entre esquema terapéutico empleado y patrón de enfermedad observado. R-R Remisión y recaída, P-I Persistente Inactivo, C-A Crónico-Activo.

Relación patrón de enfermedad y esquema utilizado			
	R-R	P-I	C-A
Doble (C+P)	22 (62.9%)	0	1 (100%)
Triple (C+M+P)	2 (5.7%)	9 (75%)	0
Doble (M+P)	11 (31.4%)	2 (16.7%)	0
Prednisona	0	1 (8.3%)	0
TOTAL	35 (100%)	12 (100%)	1 (100%)

Por medio del análisis de datos podemos establecer correlación entre el patrón de enfermedad y la proteinuria y creatinina basales y de última medición, esto expresado en el cuadro 3.

Cuadro 3. Correlación entre patrón de enfermedad y creatinina y proteinuria basales y finales. R-R Remisión y recaída, P-I Persistente –Inactivo, Cr Creatinina, ProtU Proteinuria

Relación patrón de enfermedad y Cr. y ProtU basales y finales			
	R-R (35px)	P-I (12 px)	p
Cr_B	0.8 ± 0.4	0.9 ± 0.3	0.33
CR_24m	0.86 ± 0.23	0.70 ± 0.23	0.043*
ProtU_B	328.6 ± 483.1	607.3 ± 784.5	0.233
ProtU_2a	596.1 ± 620.6	281.5 ± 148.8	0.033*

Podemos observar una correlación entre la determinación del patrón de enfermedad y la medición de creatinina basal y a 24 meses, donde en el patrón remisión y recaída se presenta un aumento de la misma, no así en el patrón persistente-inactivo donde se denota un descenso de la misma, esto estadísticamente significativo con una p 0.043.

En cuanto a la determinación del patrón de enfermedad y proteinuria también podemos observar una correlación; donde en el patrón remisión – recaída pudimos observar un aumento en la medición final con relación a la basal, por otro lado podemos observar en el patrón persistente-inactivo un descenso de la proteinuria de última medición con relación a la basal esto con un resultado estadísticamente significativo con una p 0.033.

Por último se realizó un análisis de correlación entre el esquema utilizado y la proteinuria y creatinina basales y de última medición, esto se muestra en los cuadros 4 y 5.

Cuadro 4. Correlación entre esquema terapéutico utilizado y creatinina basal y final. C Ciclofosfamida, M Micofenolatomofetilo, P prednisona.

Relación esquema de Tx y Cr			
	CR_B	CR_24m	p
Doble (C+P)	0.85 ± 0.4	0.83 ± 0.1	0.982
Triple (C+M+P)	0.95 ± 0.3	0.80 ± 0.1	0.413
Doble (M+P)	0.83 ± 0.3	0.87 ± 0.3	0.879
Prednisona	NA	NA	NA

En cuanto a la relación entre esquema de tratamiento y última creatinina basal, no se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre el aumento de esta medición basal y final en ninguno de los esquemas utilizados.

Estudio Observacional Referente a Patrones de Actividad Renal y Esquemas Terapéuticos Empleados en Nefritis Lúpica en Pacientes Mexicanos en el Hospital General de Culiacán

Cuadro 5. Correlación entre esquema terapéutico y proteinuria basal y final.

Relación esquema de Tx y PROT_U			
	Prot_Basal	Prot_24m	P
Doble (C+P)	206.9 ± 293	550.2 ± 408	0.014*
Triple (C+M+P)	248 ± 339	293.6 ± 154	0.449
Doble (M+P)	294.08 ± 270	667.3 ± 883	0.240
Prednisona	NA	NA	NA

En el cuadro 5 se describen los datos de correlación entre esquema terapéutico y proteinuria basal y final; donde se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre el uso de esquema doble a base de ciclofosfamida y prednisona y aumento de proteinuria a los 24 meses con una *p* significativa de 0.014; para el resto de esquemas no se encontró una diferencia estadísticamente significativa.

DISCUSIÓN

Durante esta investigación encontramos que el patrón de remisión y recaída fue el más prevalente en la población de pacientes con nefritis lúpica estudiada; seguido por el patrón de persistente inactivo y menos común el crónico activo; estos resultados son similares al estudio de cohorte de Lupus de Hopkins ⁶, donde el patrón remisión – recaída también fue el más observado; no así con investigaciones previas donde el patrón crónico activo fue el más observado ⁴.

En cuanto a los esquemas terapéuticos empleados encontramos que fueron más utilizados los esquemas dobles tanto con ciclofosfamida y prednisona como micofenolato y prednisona, siendo más utilizado el esquema ciclofosfamida más prednisona con dosificaciones de acuerdo a guías de manejo previamente señaladas.

Menos utilizado fue el esquema triple a base de micofenolato + ciclofosfamida + prednisona, así mismo otro medicamento bastante utilizado en las pacientes del presente estudio fue hidroxycloquinina; sin embargo, esta no fue incluida como variante en los esquemas terapéuticos establecidos.

De acuerdo a los resultados obtenidos se pudo observar una correlación entre el uso de esquemas dobles (cualquiera de los dos previamente establecidos) y mayor presencia de patrón remisión – recaída, de esta manera se puede determinar que este esquema podría conllevar a menores resultados favorables a largo plazo para las pacientes con

mayor incidencia de enfermedad renal en etapa terminal así como mortalidad; por otro lado, el empleo de esquema triple se correlaciono con una mayor presencia de patrón persistente-inactivo, de esta manera se puede determinar que el uso de esquemas en base a tres fármacos puede conllevar a menor actividad de la enfermedad con recaídas y por ende mejores resultados a largo plazo y mejor calidad de vida.

En cuanto a las características bioquímicas de los pacientes pudimos observar una mayor presencia de recaídas en el primer año de seguimiento; con aumento de creatinina sérica y proteinuria en orina de 24 hrs, cumpliendo criterios (según herramientas establecidas) para determinar patrón remisión – recaída; además se denota la poca realización en nuestro medio de biopsia renal esto secundario a la falta de recursos que encontramos en el medio donde se realizó esta investigación.

Se encontró una correlación entre uso de esquema doble a base de ciclofosfamida + prednisona y aumento de proteinuria de basal a última medición a los 24 meses; esto coincide con los resultados de estudios previos que han mostrado que el uso de esquemas dobles puede conllevar a peores resultados como lo determina el estudio de Bao y cols (8) donde el uso de esquemas triples llevo a mejores resultados sobre todo en pacientes en etapas IV y V; no se encontró correlación con el uso de esquemas triples y creatinina y proteinuria basales y finales; esto puede deberse a diferentes motivos, por ejemplo; el tamaño de la muestra donde probablemente en una cohorte con mayor número de pacientes podría mostrarse un resultado positivo o por otro lado, en los datos recabados se incluían niveles de proteinuria y creatinina muy elevados, es decir muy por arriba de la media, que podrían conllevar a una distribución menos homogénea y por lo tanto a un resultado estadísticamente no significativo.

El presente estudio cuenta con múltiples debilidades, el diseño retrospectivo, la obtención de los datos por medio del expediente electrónico de la institución donde se realizó la investigación son algunos factores que pueden dar debilidad al estudio; sin embargo los resultados obtenidos pueden sentar la base para una investigación más profunda y con un diseño de mayor poder estadístico que sustente el uso de un esquema prototipo de tratamiento de las pacientes con nefritis lúpica en nuestro medio y de este modo obtener patrones de enfermedad persistente – inactivo que conlleve a mejores resultados a largo plazo, menor enfermedad en etapa terminal, menor requerimiento de terapia de sustitución renal, trasplante renal y menor mortalidad entre este grupo de pacientes.

Estudio Observacional Referente a Patrones de Actividad Renal y Esquemas Terapéuticos Empleados en Nefritis Lúpica en Pacientes Mexicanos en el Hospital General de Culiacán

CONCLUSIONES

El grado histológico más observado fue el grado III, seguido por el grado IV, aunque la realización de biopsia en nuestro medio es realizada en contadas ocasiones, esto por la falta de recursos del nosocomio.

Los esquemas terapéuticos más comúnmente empleados en nuestro medio fueron esquemas dobles a base de ciclofosfamida + prednisona o micofenolato + prednisona y esquemas triples a base de micofenolato + ciclofosfamida + prednisona, con uso de algunos fármacos añadidos a la mayoría de pacientes como hidroxicloroquina.

El patrón de enfermedad más observado fue el de remisión – recaída, seguido por el patrón persistente inactivo; así mismo se correlaciona el uso de esquemas dobles (ciclofosfamida + prednisona o micofenolato + prednisona) con la mayor presencia de patrón remisión y recaída, así como el uso de esquema triple (micofenolato + ciclofosfamida + prednisona) con la presencia de patrón persistente inactivo; es decir es más favorable el uso de esquemas triples, incluso puede llegar a ser factor de mejores resultados a largo plazo para estos pacientes.

Se observó una correlación estadísticamente significativa entre el uso de esquema doble a base de ciclofosfamida + prednisona y el aumento de proteinuria de basal a última medición; no así con el resto de esquemas y proteinuria.

Se observó una correlación entre patrón de enfermedad determinado y proteinuria; esto con mantenimiento o descenso de proteinuria basal a última medición en el patrón persistente – inactivo, y de aumento de proteinuria de basal a última medición en el patrón remisión – recaída.

REFERENCIAS

- 1.- D. L. Kamen and E. S. Zollars, "Corticosteroids in Lupus Nephritis and Central Nervous System Lupus.," *Rheum. Dis. Clin. North Am.*, vol. 42, no. 1, pp. 63–73, viii, Feb. 2016.
- 2.- M. Yurkovich, K. Vostretsova, W. Chen, and J. A. Aviña-Zubieta, "Overall and cause-specific mortality in patients with systemic lupus erythematosus: a meta-analysis of observational studies.," *Arthritis Care Res. (Hoboken)*, vol. 66, no. 4, pp. 608–16, Apr. 2014.
- 3.- C. C. Mok, R. C. L. Kwok, and P. S. F. Yip, "Effect of renal disease on the standardized mortality ratio and life expectancy of patients with systemic lupus erythematosus.," *Arthritis Rheum.*, vol. 65, no. 8, pp. 2154–60, Aug. 2013.
- 4.- G. G. Illei, K. Takada, D. Parkin, H. A. Austin, M. Crane, C. H. Yarboro, E. M. Vaughan, T. Kuroiwa, C. L. Danning, J. Pando, A. D. Steinberg, M. F. Gourley, J. H. Klippel, J. E. Balow, and D. T. Boumpas, "Renal flares are common in patients with severe proliferative lupus nephritis treated with pulse immunosuppressive therapy: long-term followup of a cohort of 145 patients participating in randomized controlled studies.," *Arthritis Rheum.*, vol. 46, no. 4, pp. 995–1002, Apr. 2002.
- 5.- C. C. Mok, "Understanding lupus nephritis: diagnosis, management, and treatment options.," *Int. J. Womens. Health*, vol. 4, pp. 213–22, Jan. 2012.
- 6.- Györi N, Giannakou I, Chatzidionysiou K, et al. Disease activity patterns over time in patients with SLE: analysis of the Hopkins Lupus Cohort. *Lupus Science & Medicine* 2017;4:e000192.
- 7.- G. R. Zimmermann, J. Lebar, and C. T. Keith, "Multi-target therapeutics: when the whole is greater than the sum of the parts.," *Drug Discov. Today*, vol. 12, no. 1–2, pp. 34–42, Jan. 2007.
- 8.- H. Bao, Z.-H. Liu, H.-L. Xie, W.-X. Hu, H.-T. Zhang, and L.-S. Li, "Successful treatment of class V+IV lupus nephritis with multitarget therapy.," *J. Am. Soc. Nephrol.*, vol. 19, no. 10, pp. 2001–10, Oct. 2008.