

Plasmaféresis y vasculitis pauciinmune: experiencia Hospital Universitario San Ignacio, Bogotá, Colombia

Juan P. Córdoba¹, Kateir Contreras¹, Maite Hurtado¹, Jessica Pinto¹,
Martha P. Rodríguez¹, Carolina Larrarte²

¹ Unidad de Nefrología, Hospital Universitario San Ignacio, Bogotá, Colombia

² Unidad Renal, RTS - Agencia Santa Clara, Bogotá, Colombia

Resumen

Introducción: Las vasculitis asociadas a anticuerpos contra el citoplasma de los neutrófilos (ANCA) son un grupo de enfermedades con una presentación clínica variada. La plasmaféresis (PMF), se ha convertido en una herramienta más de manejo para estos pacientes.

Objetivo: Describir las características demográficas, clínicas y los desenlaces finales de los pacientes con diagnóstico de vasculitis pauciinmune que requirieron manejo con PMF.

Materiales y métodos: Se incluyeron todos los pacientes mayores de 18 años con diagnóstico de vasculitis pauciinmune (biopsia renal o ANCA) que requirieron PMF, durante el período comprendido entre mayo de 2010 hasta diciembre de 2013.

Resultados: Se intervinieron 13 pacientes, realizándose en total 73 sesiones de PMF. La edad promedio fue 52,3 años (rango 17 a 70). El principal diagnóstico para intervención fue glomerulonefritis rápidamente progresiva (GNRP) más hemorragia alveolar (63%). El promedio de sesiones por paciente fue 5,6 (rango 1 a 10) con un promedio de recambios plasmáticos por sesión de 1,26 (rango 0,72 a 1,56). De los 13 pacientes, 11 (84,6%) requirieron terapia de reemplazo renal (TRR) durante la hospitalización. Al egreso 36,3% recuperó la función renal, 27% continuó con TRR y 36,3% falleció. Se presentó al menos una complicación en 6,8% de las sesiones.

Conclusiones: La PMF es una herramienta terapéutica necesaria en pacientes con vasculitis ANCA positiva que cursen con GNRP, coexistencia de enfermedad antimembrana basal glomerular o hemorragia alveolar severa. Es un procedimiento seguro, con resultados comparables y estudios internacionales publicados.

Palabras clave: Aféresis, plasmaféresis, intercambio plasmático, vasculitis, ANCA.

Therapeutic plasma exchange in patients with pauciimmune vasculitis: Hospital Universitario San Ignacio experience; Bogotá, Colombia

Abstract

Introduction: The vasculitis ANCA positive, are a group of diseases with different clinical manifestations. Therapeutic plasma exchange has become an excellent tool for the treatment of these patients in specific conditions. **Objective:** Describe the demographic and clinical characteristics of patients and the final outcomes in patients with positive ANCA vasculitis that required therapeutic plasma exchange (TPE).

Materials and methods: All patients under 18 years old with positive ANCAS vasculitis that required TPE were included during the period of May 2010 and December 2013.

Results: 13 patients were treated, with a total of 73 TPE sessions. The average age was 52,3 years (Range 17 to 70). The principal diagnosis for interventions was rapidly progressive glomerulonephritis (RPGN) plus alveolar hemorrhage (63%). The average number of sessions per patient was 5,6 (range 1 a 10) with an average of plasma volume exchange per session of 1,26 (range 0.72 a 1,56). Of the 13 patients, 11 (84,6%) required renal replacement therapy (RRT) during hospitalization. At discharge, 36,3% recover the renal function, 27% continue on RRT and 36,3% died. There was at least one complication in 6,8% of all sessions.

Conclusions: TPE is an excellent tool to treat patients with positive ANCAS vasculitis that present with RPGN, high levels of serum creatinine or dialysis need, or alveolar hemorrhage. This is a safe procedure with comparable results according to International literature. Key words: Apheresis, plasmapheresis, therapeutic plasma exchange, vasculitis, ANCA.

Key words: Apheresis, plasmapheresis, therapeutic plasma exchange, vasculitis, ANCA

Introducción

Las vasculitis asociadas a anticuerpos contra el citoplasma de los neutrófilos (ANCA) incluyen la granulomatosis con poliangeítis (anteriormente conocida como granulomatosis de Wegener), la poliangeítis microscópica, granulomatosis eosinofílica con poliangeítis (también conocida como Síndrome de Churg Strauss) y la vasculitis confinada a riñón^{1,2}. La presentación clínica es variable, con un espectro que va desde la instauración insidiosa de insuficiencia renal, precedida por síntomas similares a los de una infección viral dados por artralgias, mialgias, fiebre de bajo grado, hasta el deterioro acelerado de la función renal, con hematuria, cilindruria y proteinuria, e incluso con requerimiento de terapia de reemplazo renal, siendo un cuadro potencialmente fatal cuando se asocia con hemorragia alveolar¹.

La afectación renal en las vasculitis es frecuente, mayor al 50% al momento del diagnóstico y de 70 a 85% en el curso de la enfermedad¹.

La PMF se ha convertido en una herramienta adicional de manejo para estos pacientes, demostrando su beneficio, principalmente, en 3 escenarios: glomerulonefritis rápidamente progresiva (GNRP), coexistencia de enfermedad antimembrana basal glomerular y hemorragia alveolar severa. El racional para la utilización de PMF en esta patología es que los ANCA, principales implicados en su fisiopatología, son moléculas de alto peso molecular, bajo vo-

lumen de distribución, baja tasa de recambio y una vida media larga, que permiten que sean removidos efectivamente por esta terapia.

El presente trabajo pretende mostrar la experiencia del grupo del Hospital Universitario San Ignacio en el manejo con PMF de pacientes con vasculitis pauciinmune, describiendo las características demográficas, clínicas, los desenlaces de los pacientes y las propiedades técnicas de la terapia. Según nuestro conocimiento, esta sería la primera serie de casos a escala nacional que ha sido reportada en la literatura médica, aportando al conocimiento sobre el comportamiento de esta enfermedad en nuestra población.

Objetivos: Describir las características demográficas, clínicas y los desenlaces de los pacientes con diagnóstico de vasculitis pauciinmune que requirieron manejo con PMF y describir las propiedades técnicas de dicha terapia en el Hospital Universitario San Ignacio, en el período comprendido entre mayo de 2010 y diciembre de 2013.

Materiales y métodos

Se incluyeron todos los pacientes mayores de 18 años con diagnóstico de vasculitis pauciinmune (biopsia renal o ANCA) que requirieron PMF según las indicaciones internacionales actuales (creatinina $\geq 5,7$ mg/dL, necesidad de diálisis, hemorragia alveolar), manejados por el grupo de aféresis del Hospital Universitario San Ignacio. La información se obtuvo del Sistema de Administración Hospitalaria

Integrado (SAHI) y se registró en la base de datos realizada en programa Excel. Se realizaron análisis descriptivos de las características sociodemográficas y clínicas de la población del estudio. Para las variables categóricas se utilizaron medidas de frecuencias absolutas y relativas. Para las variables continuas medidas de dispersión y de tendencia central.

Resultados

En el período observado, se intervinieron 13 pacientes, realizándose en total 73 sesiones de PMF. La edad promedio fue 52,3 años (rango 17 a 70), 46,1% de los pacientes tenía más de 65 años y 53,8% era de sexo masculino. La principal indicación de PMF fue GNRP más hemorragia alveolar (63%) (Tabla 1). Todos los pacientes tenían ANCA positivos, de estos el 53,8% eran p-ANCA y 46,1% c-ANCA. A 8 pacientes se les realizó medición de anticuerpos contra membrana basal glomerular los cuales fueron negativos. El 54% tuvo anticuerpos antinucleares, ANA, positivos, de estos el 71% patrón moteado y los demás homogéneos. Solo uno de los pacientes tenía consumo de complemento (C4).

El 93% de los pacientes cursó con compromiso renal y pulmonar, sólo un paciente presentó solamente hemorragia alveolar.

El promedio de sesiones por paciente fue 5,6 (rango 1 a 10) con un promedio de recambios plasmáticos por sesión de 1,26 (rango 0,72 a 1,56). La solución de reposición usada con mayor frecuencia fue el plasma fresco congelado (53,5% de las sesiones) seguido de albúmina al 5% en 39,7% (Tabla 2). En to-

dos los casos se utilizaron catéteres transitorios para hemodiálisis como acceso vascular, 42% de localización yugular y 58% en la vena femoral. La mayoría de sesiones (68,5%) se realizaron en la unidad de cuidado intensivo (UCI), las demás en sala general. La técnica utilizada en el 100% de las sesiones fue técnica de filtración transmembrana.

Cinco sesiones (6,8%) presentaron al menos una complicación. Fueron 7 complicaciones en total que ocurrieron en dos pacientes. La mayoría de complicaciones estuvieron relacionadas al acceso vascular, en 5 sesiones se registró disfunción del catéter y en una episodio de sangrado menor. Un paciente presentó infección relacionada con el acceso vascular.

En más del 80% de sesiones de plasmaféresis los valores de calcio y potasio, antes del inicio de la terapia, fueron normales y el 75% fue compatible con hiperfosfatemia (Tabla 3).

Se registraron los electrolitos realizados a los pacientes durante el tiempo que estuvieron en tratamiento con PMF. Los registros de calcio y potasio tuvieron una distribución similar, 12% de los registros de calcio indicaba hipocalcemia. Alrededor de la mitad de los registros eran compatibles con hipermagnesemia (Figura 1).

Todos los pacientes recibieron ciclofosfamida y corticosteroides como parte del manejo médico. De los 13 pacientes, 11 (84,6%) requirieron terapia de remplazo renal (TRR) durante la hospitalización, 10 por lesión renal aguda (LRA) asociada a vasculitis ANCA positivo y uno se encontraba en diálisis crónica e ingresa por hemorragia alveolar secundaria a vasculitis p-ANCA. La mitad de los 10 pacientes

Tabla 1

| Diagnósticos, pacientes y número de sesiones | | | | | | |
|--|--------------|------------|---------------|-----------------|--------------------|------------------|
| Diagnósticos | Sesiones No. | Sesiones % | Pacientes No. | Sesión/Paciente | Procedimientos No. | Procedimientos % |
| GNRP más hemorragia alveolar | 46 | 63,0 | 8 | 5,8 | 8 | 61,5 |
| GNRP sin hemorragia alveolar | 26 | 35,6 | 4 | 6,5 | 4 | 30,8 |
| Hemorragia alveolar sin GNRP | 1 | 1,4 | 1 | 1,0 | 1 | 7,7 |
| Total | 73 | 100,0 | 13 | | 13 | 100,0 |

GNRP: Glomerulonefritis rápidamente progresiva

Tabla 2

| Número de sesiones según el diagnóstico y el líquido de reposición usado | | | | |
|--|------------|------------|------------------|-----------|
| Diagnósticos | Alb 5% (%) | Plasma (%) | Plasma + alb (%) | Total (%) |
| GNRP más hemorragia alveolar | 9 (19,5) | 32 (69,5) | 5 (11) | 46 (100) |
| GNRP sin hemorragia alveolar | 20 (77) | 6 (23) | 0 | 26 (100) |
| Hemorragia alveolar sin GNRP | 0 | 1 (100) | 0 | 1 (100) |
| Total | 29 (39,7) | 39 (53,5) | 5 (6,8) | 73 (100) |

GNRP: Glomerulonefritis rápidamente progresiva. Alb: albúmina

Tabla 3

| Medición de electrolitos previo al inicio de la plasmaféresis | | | | | |
|---|----------------------|---------------------|----------|--------|--------|
| Electrolitos | Proc evaluados No. % | Valor promedio (DS) | Normal % | Bajo % | Alto % |
| Calcio | 10 (77) | 9,46 (0,77) | 90% | 0% | 10% |
| Potasio | 7(54) | 4,09(0,38) | 86% | 14% | 0% |
| Fósforo | 8(62) | 5,48 (1,79) | 25% | 0% | 75% |
| Magnesio | 13(100) | 2,2(0,31) | 54% | 0% | 46% |

Total de procedimientos 13 DS: Desviación estándar

que requirieron diálisis por la vasculitis, fallecieron. De los 5 restantes, 3 continuaron con requerimiento de diálisis al egreso hospitalario.

Seis pacientes fallecieron. La causa de fallecimiento en 75% de los casos fue sepsis y en 25% falla respiratoria secundaria a hemorragia alveolar.

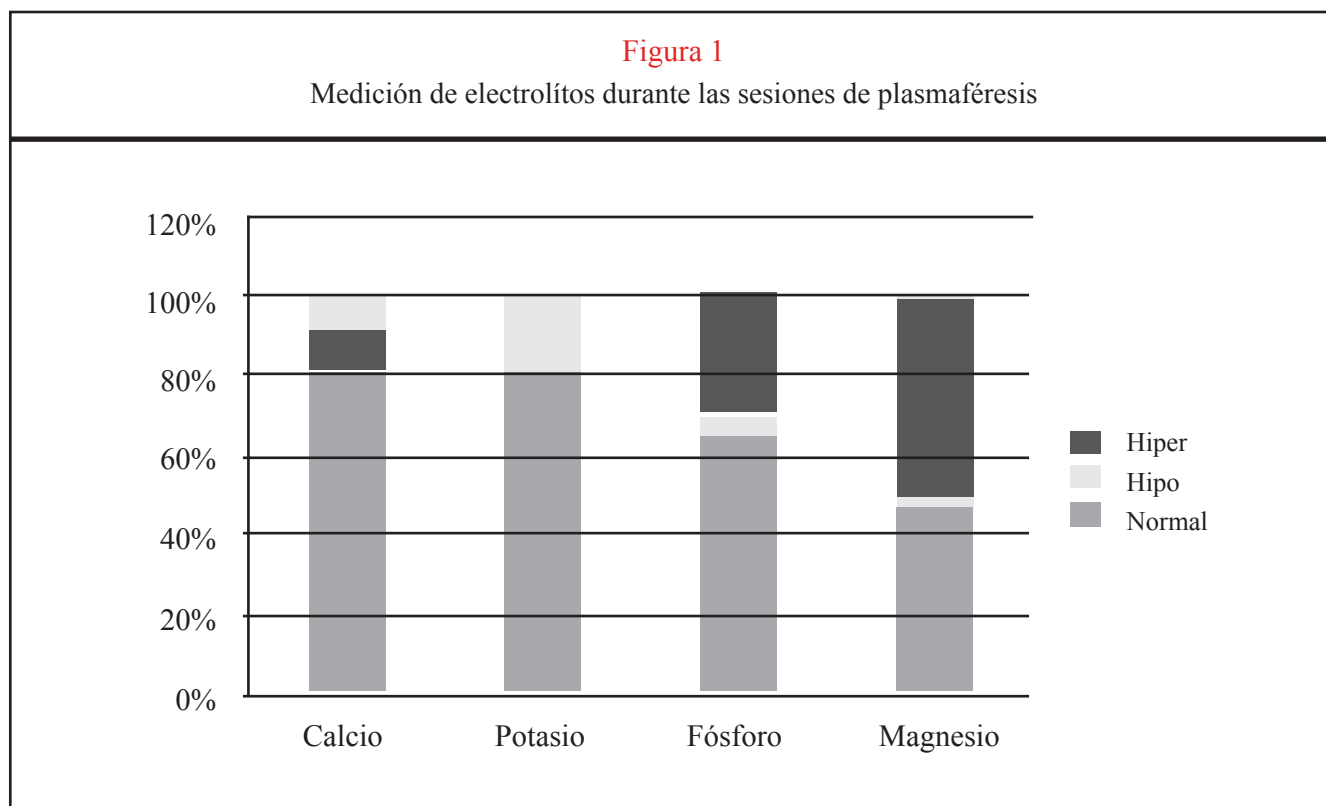
Discusión

La incidencia anual de esta enfermedad es de alrededor de 5-20 casos por millón de habitantes y varía de una región a otra. Tiene mayor predilección por pacientes mayores de 50 años y no hay diferencia de sexo en los pacientes afectados. El compromiso renal en la vasculitis ANCA es frecuente, presentándose en el 50% de los pacientes en el momento del diagnóstico y entre el 70 y el 85% en el curso de la enfermedad¹. Los factores pronósticos son la velo-

cidad con la cual se inicia el tratamiento, la función renal al momento del diagnóstico y la extensión del compromiso en la biopsia renal³. Este compromiso puede ser leve a severo y el compromiso descrito como severo, generalmente, indica terapia de PMF.

El objetivo del tratamiento es inducir la remisión completa que se define como la ausencia de enfermedad activa, sin embargo, en la literatura se encuentran múltiples definiciones^{4,5}.

Este estudio descriptivo pretende demostrar la experiencia del Hospital en la intervención con PMF en pacientes con vasculitis ANCA positivo. Por esta razón, no permite establecer el porcentaje de pacientes con vasculitis pauciinmune con compromiso renal, dado que es parte de una muestra de pacientes la que requiere intervención con PMF y no la población con vasculitis en general. Al igual que reporta la literatura médica, la mayoría de los pacientes interveni-



dos eran mayores de 50 años y no había diferencias de sexo¹.

Los estudios clínicos demuestran que en la vasculitis pauciinmune, del 50 al 75% de los pacientes tienen ANCA positivos⁶. Todos los pacientes registrados en este estudio tenían ANCA positivos porque fue usado como criterio diagnóstico de la enfermedad. No se ha realizado PMF en la institución a pacientes con diagnóstico histopatológico sin positividad de los ANCA.

El tratamiento de la vasculitis ANCA con compromiso sistémico debe ser oportuno para evitar las complicaciones a mediano y largo plazos, como la pérdida de la función renal, requerimiento de terapia reemplazo renal, hemorragia alveolar e incluso la muerte. El tratamiento consta de 2 fases, la de inducción y la de mantenimiento¹. La ciclofosfamida es el medicamento de primera elección en la fase de inducción⁷. Los pacientes reportados en este estudio tenían compromiso severo y sistémico con necesidad de tratamiento inmunosupresor de inducción por lo cual recibieron ciclofosfamida asociada a es-

teroiide. El objetivo del estudio no era describir las fases siguientes de tratamiento ni la presencia o no de remisión, por lo cual no se realiza énfasis en este aspecto, si no en la respuesta a la PMF.

La mortalidad de los pacientes con vasculitis ANCA con compromiso sistémico es alta⁸. Vale la pena resaltar que el compromiso renal y la hemorragia alveolar son marcadores de mal pronóstico, lo cual explica la mortalidad de alrededor de la mitad de los pacientes del estudio. Dado que el seguimiento de los pacientes se realiza hasta el alta hospitalaria, no es posible conocer la dependencia de soporte renal ni la mortalidad extrahospitalaria.

La PMF se ha constituido en una herramienta terapéutica de estos pacientes y ha sido evaluada en diferentes estudios clínicos. Dos estudios evaluaron la eficacia del recambio plasmático en pacientes con enfermedad renal activa severa, 48 pacientes con GMN focal necrotizante fueron asignados a terapia inmunosupresora con o sin PMF, sin encontrar diferencias entre los pacientes que tenían creatinina menor de 5,7 mg/dL o en los que tenían un valor

mayor pero no requerían diálisis, en cambio mostró beneficio en aquellos que requirieron diálisis⁹. El estudio MEPEX incluyó pacientes con diagnóstico de glomerulonefritis pauciinmune y una creatinina sérica alrededor de 5,7 mg/dL, con un promedio de 8,3 mg/dL, y mostró que la terapia con PMF se asocia con mayor probabilidad de supervivencia renal libre de diálisis a 3 meses (69 vs. 49%), disminución del riesgo de progresión a enfermedad renal crónica terminal a 1 año (19 vs. 43%)¹⁰. En casos de hemorragia alveolar no hay estudios clínicos aleatorizados controlados, pero esta estrategia terapéutica tiene sustento teórico en este escenario y es el beneficio que aporta la remoción de ANCA y los resultados obtenidos en pacientes con enfermedad antinuclear basal glomerular^{11,12}. En el Hospital Universitario San Ignacio se realiza intervención con PMF a los pacientes con vasculitis ANCA positivo según las recomendaciones de las guías internacionales de aféresis ASFA¹³, las indicaciones han sido anotadas previamente en este escrito.

En cuanto a la técnica de PMF, todas las sesiones fueron realizadas con técnica de filtración transmembrana. La solución de reposición usada con mayor frecuencia en este registro fue el plasma fresco congelado. Las indicaciones de esta solución de reposición son puntuales e incluye el sangrado activo o el riesgo de presentarlo por coagulopatía asociada a la terapia. El uso de plasma fresco congelado durante la terapia de estos pacientes se explica por el tipo de población intervenida y el porcentaje de pacientes con hemorragia alveolar.

Las guías internacionales de aféresis recomiendan realizar de 1 a 1.5 recambios de volúmenes plasmáticos en cada sesión y realizar la PMF de forma diaria o interdiaria para un total de 6 a 9 sesiones según sea la indicación¹³. En la institución se realiza la prescripción de la terapia bajo el mismo número de recambios plasmáticos y la periodicidad y tiempo de la terapia se define según la respuesta al manejo, el estado clínico del paciente y los eventos adversos de la terapia como la presencia de coagulopatía.

La terapia de PMF es segura, documentándose un bajo porcentaje de sesiones con complicaciones. La mayoría de estas fueron relacionadas con el acceso vascular. No se documentó hipotensión arterial ni

reacciones alérgicas en ninguna sesión de PMF, que son eventos adversos reportados frecuentemente en la literatura.

La hipocalcemia se atribuye a la PMF y al tipo de solución de reposición usada, la hiperfosfatemia no se asocia a la terapia y la experiencia del grupo ha documentado este hallazgo en los pacientes intervenidos con PMF que tienen concomitantemente disfunción renal¹⁴. La hipermagnesemia puede ser explicada por la administración de sulfato de magnesio que se usaba, en ese entonces, como protocolo de PMF en la institución. Dado que se documentan alteraciones electrolíticas antes y durante la terapia de PMF, es importante realizar seguimiento de los electrolitos y manejo individualizado de éstos.

Actualmente, se encuentra en curso el estudio Plasma Exchange and Glucocorticoids for Treatment of Anti-Neutrophil Cytoplasm Antibody (ANCA) - Associated Vasculitis (PEXIVAS), cuyo objetivo es determinar si el recambio plasmático es efectivo en reducir las tasas de muerte y enfermedad renal crónica terminal, se esperan los resultados para el año 2016¹⁵.

Conclusión

Las vasculitis ANCA positivos que cursen con GNRP, coexistencia de enfermedad antinuclear basal glomerular o hemorragia alveolar severa, se benefician de la PMF terapéutica. Este es un procedimiento seguro, con un porcentaje de complicaciones de 6,8% en nuestro grupo. Los resultados clínicos y desenlaces encontrados fueron similares a los reportados en la literatura mundial. 84,6% requirió terapia de reemplazo renal durante la hospitalización. 36,3% recuperó la función renal al egreso y 27% continuó con TRR. La mortalidad intrahospitalaria fue de 36,3%. Lo anterior ratifica la necesidad de contar con PMF terapéutica como una herramienta más de tratamiento para este tipo de pacientes.

Conflicto de interés

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

Referencias bibliográficas

1. Ponticelli, C., Glasscock, RJ. Treatment of Primary Glomerulonephritis. Second Edition. Oxford University Press. Chapter 10, pag 399-426.
2. Falk RJ, Gross WL, Guillevin L, Hoffman GS, Jayne DR, Jennette JC, Kallenberg CG, Luqmani R, Mahr AD, Matteson EL, Merkel PA, Specks U, Watts RA; American College of Rheumatology; American Society of Nephrology; European League Against Rheumatism. Granulomatosis with polyangiitis (Wegener's): an alternative name for Wegener's granulomatosis. *Arthritis Rheum.* 2011 Apr;63(4):863-4.
3. Hogan SL, Falk RJ, Chin H, Cai J, Jennette CE, Jennette JC, Nachman PH. Predictors of relapse and treatment resistance in antineutrophil cytoplasmic antibody-associated small-vessel vasculitis. *Ann Intern Med.* 2005 Nov 1;143(9):621-31. PubMed PMID: 16263884.
4. Miloslavsky EM, Specks U, Merkel PA, Seo P, Spiera R, Langford CA, Hoffman GS, Kallenberg CG, St Clair EW, Tchao NK, Viviano L, Ding L, Sejismundo LP, Mieras K, Iklé D, Jepsen B, Mueller M, Brunetta P, Allen NB, Ferrienza FC, Geetha D, Keogh K, Kissin EY, Monach PA, Peikert T, Stegeman C, Ytterberg SR, Stone JH; Rituximab in ANCA-Associated Vasculitis-Immune Tolerance Network Research Group. Clinical outcomes of remission induction therapy for severe antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Arthritis Rheum.* 2013 Sep;65(9):2441-9.
5. Stone, JH., Kaplan, AA., Falk, RJ. Initial immunosuppressive therapy in granulomatosis with polyangiitis and microscopic polyangiitis Last updated: Agosto 26, 2013. Uptodate 2014.
6. Lionaki S, Blyth ER, Hogan SL, Hu Y, Senior BA, Jennette CE, Nachman PH, Jennette JC, Falk RJ. Classification of antineutrophil cytoplasmic autoantibody vasculitides: the role of antineutrophil cytoplasmic autoantibody specificity for myeloperoxidase or proteinase 3 in disease recognition and prognosis. *Arthritis Rheum.* 2012 Oct;64(10):3452-62. doi: 10.1002/art.34562. PubMed PMID: 23023777.
7. Harper L, Morgan MD, Walsh M, Høglund P, Westman K, Flossmann O, Tesar V, Vanhille P, de Groot K, Luqmani R, Flores-Suarez LF, Watts R, Pusey C, Bruchfeld A, Rasmussen N, Blockmans D, Savage CO, Jayne D; EUVAS investigators. Pulse versus daily oral cyclophosphamide for induction of remission in ANCA-associated vasculitis: long-term follow-up. *Ann Rheum Dis.* 2012 Jun;71(6):955-60. doi: 10.1136/annrheumdis-2011-200477. Epub 2011 Nov 29
8. Nachman PH, Hogan SL, Jennette JC, Falk RJ. Treatment response and relapse in antineutrophil cytoplasmic autoantibody-associated microscopic polyangiitis and glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol.* 1996 Jan;7(1):33-9.
9. Pusey CD, Rees AJ, Evans DJ, Peters DK, Lockwood CM. Plasma exchange in focal necrotizing glomerulonephritis without anti-GBM antibodies. *Kidney Int.* 1991 Oct;40(4):757-63.
10. Jayne DR, Gaskin G, Rasmussen N, Abramowicz D, Ferrario F, Guillevin L, Mirapeix E, Savage CO, Sinico RA, Stegeman CA, Westman KW, van der Woude FJ, de Lind van Wijngaarden RA, Pusey CD; European Vasculitis Study Group. Randomized trial of plasma exchange or high-dosage methylprednisolone as adjunctive therapy for severe renal vasculitis. *J Am Soc Nephrol.* 2007 Jul;18(7):2180-8. Epub 2007 Jun 20.
11. Walsh M, Catapano F, Szpirt W, Thorlund K, Bruchfeld A, Guillevin L, Haubitz M, Merkel PA, Peh CA, Pusey C, Jayne D. Plasma exchange for renal vasculitis and idiopathic rapidly progressive glomerulonephritis: a meta-analysis. *Am J Kidney Dis.* 2011 Apr;57(4):566-74.
12. Gallagher H, Kwan JT, Jayne DR. Pulmonary renal syndrome: a 4-year, single-center experience. *Am J Kidney Dis.* 2002 Jan;39(1):42-7.
13. Schwartz J, Winters JL, Padmanabhan A, Balogun RA, Delaney M, Linenberger ML, Szczepiorkowski ZM, Williams ME, Wu Y, Shaz BH. Guidelines on the use of therapeutic apheresis in clinical practice-evidence-based approach from the Writing Committee of the American Society for Apheresis: the sixth special issue. *J Clin Apher.* 2013 Jul;28(3):145-284.
14. Córdoba J.P., et al. Plasmaféresis terapéutica. *Acta Médica Colombiana*, 2014, enero-marzo: (39)29-34.
15. <http://clinicaltrials.gov/show/NCT00987389>