

11244

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA
"IGNACIO CHÁVEZ"

PREVALENCIA DE ISOTIPOS DE ANTICUERPOS
ANTI-CARDIOLIPINA
Y ANTI- β 2 GLICOPROTEÍNA-I,
EN PACIENTES EN HEMODIÁLISIS
Y DIÁLISIS PERITONEAL CRÓNICA.

TESIS DE POSGRADO
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO EN LA ESPECIALIDAD DE:

REUMATOLOGÍA

PRESENTA:
DR. MIN HYUNG KOOH SONG

ASESORA DE TESIS:
DRA. MA. DEL CARMEN AMIGO CASTAÑEDA

MÉXICO, D.F.

MARZO, 2005

m343882



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGIA
"IGNACIO CHAVEZ"

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la
UNAM a difundir en formato electrónico el contenido de
este trabajo.

NOMBRE: Lin Hyung Kook Song

FECHA: 3 de mayo de 2005

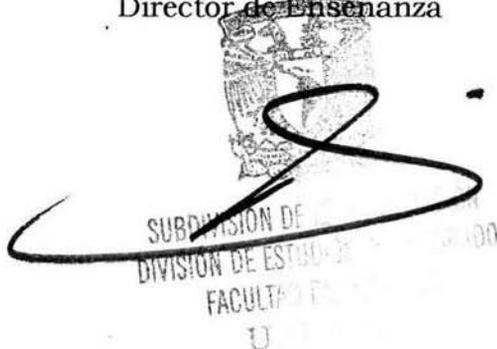
FIRMA: 



DRA. MA. DEL CARMEN AMIGO CASTAÑEDA
Asesora de tesis

DR. MANUEL MARTÍNEZ LAVÍN
Jefe del Departamento de Reumatología
Profesor Titular del Curso de Reumatología

DR. JOSÉ FERNANDO GUADALAJARA BOO
Director de Enseñanza



SUBMISION DE
DIVISION DE ESTUDIOS
FACULTAD DE



ÍNDICE

Introducción	4
Antecedentes	5
El síndrome de anticuerpos anti-fosfolípidos (SAAF)	5
Hallazgos de laboratorio del SAAF	6
Nefropatía terminal y SAAF	12
Hipótesis y Objetivo	16
Material y Métodos	16
Resultados	19
Tabla 1	20
Tabla 2	21
Tabla 3	22
Tabla 4	22
Tabla 5	23
Discusión	23
Conclusiones	27
Co-Autores	29
Bibliografía	30

INTRODUCCIÓN

Desde 1991 se ha reportado la presencia del anticoagulante lúpico (AL) y anticuerpos anti-cardiolipina (α CL) a títulos altos en el suero de pacientes en hemodiálisis.

Diversos reportes, han asociado la presencia de dichos anticuerpos con la pérdida del acceso vascular por trombosis asociada a los α CL. Pero éstos no han sido confirmados en series más grandes.

También se ha explorado la presencia de anticuerpos anti- β_2 glicoproteína-I ($\alpha\beta_2$ GP-I) en estos pacientes, y la opinión general de muchos expertos es que los α CL encontrados en los pacientes en hemodiálisis son generalmente no dependientes de β_2 glicoproteína-I (β_2 GP-I).

En un estudio previo, encontramos alta prevalencia de diferentes isotipos de α CL y $\alpha\beta_2$ GP-I en pacientes con falla renal terminal en un centro de HD.

Se decidió ampliar la muestra en base a la alta prevalencia inicial de α CL e incluir otro centro, así como también la detección de α CL libre de β_2 GP-I (anticuerpos anti-cardiolipina pura).

ANTECEDENTES

1. El síndrome de anticuerpos anti-fosfolípidos (SAAF).

Entre 1983 y 86, Graham Hughes y colaboradores (1, 2), describieron la asociación de los anticuerpos anti-fosfolípidos (α FL) con fenómenos trombóticos arteriales y venosos, enfermedad neurológica (especialmente evento vascular cerebral [EVC]), hipertensión pulmonar, *livedo reticularis*, trombocitopenia ocasional, y pérdidas fetales recurrentes.

Este síndrome, frecuentemente asociado a lupus eritematoso generalizado (LEG), fue inicialmente nombrado "síndrome anti-cardiolipina". Hughes observó dicho síndrome, como un fenómeno que podía ocurrir en pacientes con LEG negativos a anticuerpos antinucleares, pacientes con lupus atípico, o inclusive pacientes sin dato alguno de LEG. En 1984, el equipo formado por Hughes, Khamashta, Harris y Gharavi, instituyeron la primera reunión mundial de estudio de este síndrome.

En 1987, el grupo de Hughes, introdujo por primera vez el término de "síndrome antifosfolípidos primario" (3, 4), y 2 años después, en 1989, dos grandes series de pacientes fueron publicadas por este grupo (5) y por el grupo del Dr. Donato Alarcón Segovia (6), confirmando y detallando las descripciones clínicas iniciales del síndrome.

De esta manera, el síndrome se ha clasificado como “primario” en ausencia de otras condiciones autoinmunes, tales como LEG y que en cuyo caso se le denomina como “síndrome de anti-fosfolípidos secundario”.

En 1998, se llevó a cabo en Sapporo, Japón, el 8o. Simposium Internacional de SAAF, organizado por Takao Koike, donde se realizó el consenso preliminar para los Criterios de Clasificación del síndrome (7, 8).

Y desde las primeras descripciones en los 80's a la fecha, se ha reconocido a ésta condición como la enfermedad autoinmune más común.

Actualmente se reconoce en Obstetricia como la causa protrombótica mas frecuente de pérdida fetal recurrente, y en Neurología, hasta un 20% de los EVC en menores de 40 años, se asocian a este síndrome (9, 10).

En la actualidad, es reconocida probablemente como la causa mas frecuente de trombofilia adquirida.

2. Hallazgos de laboratorio en el SAAF.

El SAAF es un síndrome caracterizado por lesiones trombóticas (venosas o arteriales), pérdidas fetales, trombocitopenia, livedo reticularis y la presencia de

anticuerpos dirigidos contra fosfolípidos de carga negativa, que paradójicamente, producen un alargamiento de los tiempos de coagulación dependientes de fosfolípidos *in Vitro*..

Históricamente, la alteración inmunológica más antigua en el LEG, es la reacción de Wasserman. En 1952, Moore y Mohr, reconocieron que la prueba para sífilis (BFP-STS), podía ser falsa positiva en pacientes con LEG (11). Esta anomalía de laboratorio se asoció a LEG y a un fenómeno anticoagulante *in Vitro* (12, 13), durante los años 50's, tras el desarrollo de la prueba de coagulación de tiempo parcial de tromboplastina (que utilizaba un extracto fosfolipídico de cerebros de animales [cefalina] como un equivalente plaquetario para acelerar la coagulación).

De ésta manera, se reconoció la presencia de la actividad anticoagulante en pacientes con LEG, frecuentemente acompañados de la prueba BFP-STS positiva. Al fenómeno le dieron el nombre de "anticoagulante lúpico" (AL), debido a su asociación inicial con eventos trombóticos (14) en pacientes con LEG y posteriormente, su reconocimiento en la ausencia de manifestaciones clínicas de LEG.

Actualmente, la detección del AL se basa en la prolongación de pruebas de coagulación dependientes de fosfolípidos (tiempo de tromboplastina parcial activada [TPTa],

tiempo de veneno de víbora de Russell [TVVR], tiempo de coagulación de caolín [TCK] y otros), la presencia de un inhibidor demostrado por estudios de mezcla con plasma normal, y la confirmación de la naturaleza dependiente de fosfolípidos de tal inhibidor (15).

En 1983, desarrollaron una prueba para la medición cuantitativa de anticuerpos dirigidos contra el fosfolípido aniónico *cardiolipina* (difosfatidil glicerol), uno de los antígenos que componen el reactivo para la prueba de sífilis (2).

Las especificidades antigénicas (idiotípicas) de estos anticuerpos anti-cardiolipina (α CL) aún no se han determinado, pero en sueros de pacientes con el SAAF, la mayoría de los anticuerpos detectados en los ensayos inmunoenzimáticos (EIE) α CL, reconocen epítomos localizados en proteínas séricas que se unen a fosfolípidos (mal llamados *cofactores*), uno de los más estudiados es la β_2 GP-I y no propiamente a la cardiolipina. La β_2 GP-I en estos ensayos, proviene del suero bovino que se utiliza como agente bloqueante en el EIE. Estos α CL, son también llamados *dependientes de cofactor*.

Los anticuerpos dirigidos directamente contra epítomos de la cardiolipina, pueden también ser detectados mediante

EIE, pero estos anticuerpos *no se asocian a las manifestaciones clínicas del SAAF*, sino que se asocian a diversos procesos infecciosos (como sífilis, enfermedad de Lyme, etc.) (16). Una forma de detectar los anticuerpos específicos contra la cardiolipina (o anticuerpos independientes de cofactores), es mediante ensayos inmunoenzimáticos modificados, libres de suero bovino, con *cardiolipina pura* como antígeno.

La β_2 GP-I o *apolipoproteína H*, es una proteína plasmática constituida por una sola cadena polipeptídica de 326 aminoácidos altamente glicosilada, con un peso molecular relativo de 50 kDa, que parece ser el principal, mas no el único, cofactor para el reconocimiento de fosfolípidos aniónicos por los anticuerpos anti-fosfolípidos patogénicos, en los ensayos en fase sólida (ELISAs). Su conformación tridimensional es similar a la de las proteínas reguladores del complemento o súper familia SCR (del ingles *short consensus repeat*), sin embargo, no se le conoce ninguna función similar a la de dichas proteínas. Posee 5 dominios SCR (también llamados por su forma *dominios sushi*), designados dominios I al V del extremo N-terminal al C-terminal (17). Su función aun no esta establecida completamente, pero se ha sugerido un posible papel en el recambio y depuración de fosfolípidos de membranas celulares tras fenómenos de

apoptosis, así como una función de anticoagulante natural (18, 19).

Las especificidades idiotípicas de los anticuerpos $\alpha\beta_2\text{GP-I}$, aún no han sido determinadas completamente, y probablemente constituyen un grupo heterogéneo de anticuerpos.

En los ensayos en fase sólida convencionales en placas de poliestireno, los $\alpha\beta_2\text{GP-I}$, no reconocen a la $\beta_2\text{GP-I}$ sola. Los $\alpha\beta_2\text{GP-I}$ de pacientes con SAAF, reconocen a la $\beta_2\text{GP-I}$ solo cuando ésta se encuentra en placas pre-cubiertas con cardiolipina en placas irradiadas u oxidadas.

Dos teorías, no necesariamente excluyentes, explican el fenómeno (la teoría de la “densidad antigénica” y la teoría del “cambio conformacional”)(17):

Los $\alpha\beta_2\text{GP-I}$ son de baja afinidad y requieren altas densidades de antígeno (sólo obtenidas en placas irradiadas con luz UV).

La exposición de *epítomos crípticos* (normalmente no expuestos) de la $\beta_2\text{GP-I}$ inducida por placas irradiadas u oxidadas induce un cambio conformacional similar al generado por la unión de la $\beta_2\text{GP-I}$ al fosfolípido de carga negativa.

Como anteriormente se había mencionado, el reconocimiento antigénico de algunos anticuerpos detectados en los ELISAs convencionales α CL, se dirige contra epítomos propios de la β_2 GP-I *en presencia de fosfolípidos aniónicos*. Estos epítomos de la β_2 GP-I, *crípticos* (o normalmente escondidos), debido a que probablemente son producto de cambios conformacionales de la proteína tras su unión al fosfolípido aniónico. Uno de los epítomos crípticos mejor estudiado es el que se localiza en el dominio IV de la β_2 GP-I, normalmente cubierto por el dominio III (17).

Sin embargo, se considera actualmente que el blanco antigénico principal para los anticuerpos α CL patogénicos reside en la β_2 GP-I. Pero, el sitio antigénico principal contra el cual van dirigidos los $\alpha\beta_2$ GP-I libre de fosfolípidos aun no se ha definido, debido a que se trata de un grupo heterogéneo de anticuerpos. Diversos estudios muestran que existen epítomos reconocidos en los dominios I y II de la β_2 GP-I (20-25).

Otros estudios, muestran que los $\alpha\beta_2$ GP-I reconocen directamente a la β_2 GP-I, aun en ausencia de fosfolípidos de carga negativa (26). Algunos $\alpha\beta_2$ GP-I reconocen solo

epítomos en la de la β_2 GP-I humana, cuando el sustrato antigénico de los ensayos inmunoenzimáticos, es la β_2 GP-I bovina (una causa teórica de pacientes con SAAF $\alpha\beta_2$ GP-I seronegativos) (27).

Además, se ha identificado la presencia de anticuerpos dirigidos contra otros cofactores proteicos (algunos reactivos contra fosfolípidos de carga negativa distintos a cardiolipina) y diversos blancos antigénicos [28]).

Esta gran gama de auto anticuerpos, probablemente, obedece a fenómenos de expansión del epítomo; y a la respuesta que se ha propuesto que es de tipo hapteno-acarreador (29). En algunos pacientes se podría explicar la respuesta como de tipo expansión del epítomo con presencia de de células B que reconocen epítomos conformacionales del *complejo fosfolípido/cofactor*, de la proteína e inclusive del mismo fosfolípido de carga negativa.

3. Nefropatía terminal y SAAF.

Las trombosis recurrentes del acceso vascular (fistulas arterio-venosas) son un evento frecuente que conduce a la

falla del mantenimiento continuo de una adecuada terapia de sustitución de la función renal, siendo una causa mayor de morbilidad y hospitalización en estos pacientes (30).

Las causas de los eventos recurrentes de trombosis del acceso vascular, no son claras. El tipo de acceso vascular, las alteraciones hemodinámicas en las fistulas arterio-venosas peri y postdialíticas, el estado inflamatorio persistente de la hemodiálisis, alteraciones en la agregación plaquetaria (31) y un estado hipercoagulable asociado pueden explicar este fenómeno, pero las relaciones entre sí no se comprenden del todo.

Se han descrito en pacientes con enfermedad renal terminal (FRT), bajo tratamiento de sustitución de la función renal con hemodiálisis, diversas alteraciones que favorecen un estado hipercoagulable (32). Así, la deficiencia de antitrombina III, resistencia a la proteína C activada, deficiencia de proteína C, deficiencia de proteína S e hiperhomocisteinemia (33) son algunas de las alteraciones frecuentemente encontradas en estos pacientes. También se ha descrito la presencia de anticoagulante lúpico y anticardiolipina (34, 35).

El significado clínico de la presencia de autoanticuerpos en estos pacientes, no es clara. Los reportes iniciales de pérdida del acceso vascular por trombosis asociada a

anticuerpos α CL (36-52), no ha sido confirmada en series mas grandes (53-60). Se ha llegado a atribuir la presencia de éstos autoanticuerpos, a bioincompatibilidad de las membranas de diálisis (54).

En una de las series mencionadas, la seropositividad a antifosfolípidos (16.5% con anticoagulante lúpico y 15.5% con α CL) fue independiente a la edad, el género, el tiempo en diálisis, el tipo de membrana utilizada, fármacos utilizados y a la presencia de hepatitis viral B o C (40). También hubo mayor prevalencia en aquellos individuos donde la causa de FRT no se pudo determinar. En dicha serie, solo se asoció el AL con las pérdidas trombóticas de accesos vasculares, mas no con la presencia α CL (62% vs. 26%, $P=0.01$).

Los reportes de casos aislados y las diferentes series, discrepan en sus interpretaciones, probablemente debido a la heterogeneidad de los pacientes estudiados.

También se ha explorado la presencia de anticuerpos $\alpha\beta_2$ GP-I en estos pacientes (53, 61-63). La opinión general de muchos expertos es que los α CL encontrados son generalmente no dependientes de β_2 GP-I (53, 58, 62, 63), y que solo aparecen como un epifenómeno de poca relevancia clínica.

La producción de α FL (y de otros autoanticuerpos asociados) por los pacientes que reciben tratamiento con HD, es un fenómeno poco estudiado. La producción de estos

autoanticuerpos parece ocurrir en algunos casos, previo al trasplante, durante el periodo en que reciben la HD (60).

La presencia de autoanticuerpos es relevante, debido a que aún cuando no se ha determinado su importancia clínica, es posible que tenga implicaciones en la sobrevida de los injertos renales en los candidatos a trasplante alogénico (64-69). Aunque aparentemente, la pobre sobrevida de los injertos renales se asocia a la presencia de anticuerpos principalmente en pacientes *sin historia de hemodiálisis pretrasplante* (70).

HIPOTESIS Y OBJETIVO

Por ser un estudio descriptivo/observacional y exploratorio, no cuenta propiamente con una hipótesis.

El objetivo principal de nuestro estudio, es determinar la prevalencia e impacto clínico de los diferentes isotipos de α CL, $\alpha\beta_2$ GP-I y α CL libre de cofactores proteicos, en pacientes con FRT en tratamiento de sustitución de la función renal: hemodiálisis (HD) o diálisis peritoneal crónica ambulatoria (DPCA).

MATERIALES Y METODOS

Estudiamos 95 pacientes con FRT de 2 centros: un hospital público y un centro privado de HD.

Medimos isotipos A, M y G de los anticuerpos α CL en presencia de β_2 GP-I y libre de ésta y $\alpha\beta_2$ GP-I de acuerdo a la siguiente metodología:

ELISA para la detección de anticuerpos α CL y $\alpha\beta_2$ GP-I. La detección de la actividad α CL (isotipos G, A y M) y $\alpha\beta_2$ GP-I (isotipos G, A y M) la hicimos mediante ensayos inmunoenzimáticos (ELISA) con equipos comerciales de The Binding Site (Birmingham, UK) de acuerdo a las

recomendaciones del fabricante:

ELISA estándar y modificado para la detección de antifosfolípidos (aFL). Sensibilizamos placas de poliestireno de 96 pozos (Nunc Inc, Danemark 97F 4-39454) con 50 µl de CL (SIGMA Chemicals Co, St Louis MO.) a una concentración de 50 mg/ml, disueltos en alcohol etílico (J. T. Baker). El etanol se evaporó con nitrógeno gas durante 30 minutos aproximadamente, cambiando de posición las placas para que el nitrógeno cayera directamente sobre los pozos. Una vez que se evaporó el etanol, se bloquearon los sitios inespecíficos con 350 µl de una solución al 10% de suero bovino fetal (SBF, SIGMA **ensayo estándar**) o con 350 µl de una solución al 1.5 % de albúmina sérica bovina (ASB, SIGMA **ensayo modificado**) en PBS (NaCl 0.15M, Na₂HPO₄ 0.01M, KH₂PO₄ 0.01M pH 7.4) por 2 horas a temperatura ambiente (TA). Posteriormente, se lavaron las placas 3 veces por tres minutos cada lavado, se secaron invirtiéndolas y golpeándolas contra una superficie absorbente y se guardaron toda la noche a 4 °C. Las diluciones de los sueros (1:100) se hicieron en SBF al 10% (**ensayo estándar**) o en ASB al 1.5 % (**ensayo modificado**) y se congelaron toda la noche. A la mañana siguiente las diluciones de las muestras se descongelaron a TA y las placas se pusieron a TA 15 minutos antes de empezar el ensayo. Se aplicaron 200 µl de cada muestra por duplicado en los pozos de las placas sensibilizadas. La aplicación de las muestras se hizo en el menor tiempo posible ya que la incubación empieza al aplicar la

primera muestra. Las placas con las muestras se incubaron por una hora a TA y posteriormente se lavaron 3 veces como se mencionó anteriormente. El anticuerpo anti-humano conjugado con la enzima fosfatasa alcalina específico contra IgG, IgA o IgM (anticuerpo anti-cadenas γ , α o μ humanas de SIGMA) se diluyó 1:10 000 en SBF al 10% (**ensayo estándar**) o en ASB 1.5% (**ensayo modificado**). Las placas con el conjugado se incubaron por una hora a TA, en la oscuridad. Transcurrida la incubación se hicieron 3 lavados como se mencionó y se agregaron 200 μ l por pozo del sustrato de la enzima (p-nitrofenilfosfato, SIGMA) a una concentración de 1 mg/ml disuelto en solución amortiguadora de dietanolamina (J. T. Baker) al 10% y 0.0005 M de $MgCl_2$ (J.T. Baker) pH 9.8. Las placas con el sustrato se incubaron a 37 °C una hora en la oscuridad y posteriormente se midió la absorbancia a 405 nm en un lector de microELISA (TECAN, SUNRISE).

Se registró la causa de FRT, tiempo en HD o DPCA, y la presencia de eventos vasculares trombóticos (EVT): trombosis arteriales o venosas, antecedentes de pérdida fetal y trombosis recurrentes del acceso vascular (fistulas arterio-venosas).

El análisis estadístico lo hicimos con la prueba de chi cuadrada.

RESULTADOS

Reclutamos 95 pacientes, todos ellos en FRT, bajo tratamiento de sustitución de la función renal, ya sea bajo la modalidad de hemodiálisis (HD) o diálisis peritoneal crónica ambulatoria (DPCA).

Las características clínicas de los pacientes se presentan a continuación:

-No. Total de pacientes: 95 (39 mujeres y 56 hombres, edad promedio 52.21 ± 14 años).

-Setenta y dos pacientes en HD y 23 pacientes en DPCA.

-Dos centros:

a) Hospital público: 47 pacientes: 24 en HD y 23 en DPCA

b) Centro privado de HD: 48 pacientes en HD.

-Las causas de FRT:

a) Hospital público:	No.de Pacientes:
-Causa desconocida:	35
-Glomérulo nefritis primaria:	3
-Nefrosclerosis hipertensiva (HAS):	2
-Nefropatía lúpica IV:	1
-Pbe. SAAF:	1
-Litiasis renal:	1
-Nefropatía IgA:	1
-Enfermedad poliquística:	1
-Nefropatía diabética (DM):	1
-Nefropatía isquémica por	

	aterosclerosis:	1
pacientes	b) Centro privado de HD:	
	-DM:	18
	-HAS:	7
	-HAS+DM:	7
	-Glomérulo nefritis primaria:	4
	-Causa desconocida:	6
	-Enfermedad poliquística:	2
	-Urolitiasis:	1
-Otros:	3	

En la tabla 1, se muestran las prevalencias relativas de los isotipos de anticuerpos α CL, en presencia de β_2 GP-I.

Tabla 1. Anticuerpos Anti-Cardiolipina (α CL)

Pacientes (No.)	α CL+	IgG α CL+	IgM α CL+	IgA α CL+
FRT (95)	43 (45%)	5 (5%)	31 (33%)	39 (41%)
HD (72)	29 (40%)	3 (4%)	20 (28%)	26 (36%)
DPCA (23)	14 (60%)	2 (9%)	11 (48%)	13 (56%)

En la tabla 2, se muestran las prevalencias relativas de los isotipos de anticuerpos dirigidos contra β_2 GP-I.

Tabla 2. Anticuerpos Anti- β_2 glicoproteína-I ($\alpha\beta_2$ GP-I)

Pacientes (No.)	$\alpha\beta_2$ GP-I +	IgG	IgM	IgA
		$\alpha\beta_2$ GP-I +	$\alpha\beta_2$ GP-I +	$\alpha\beta_2$ GP-I +
FRT (95)	10 (10%)	1 (1%)	4 (4%)	8 (8%)
HD (72)	6 (8%)	Ninguno	2 (3%)	5 (7%)
DPCA (23)	4 (17%)	1 (4%)	2 (9%)	3 (13%)

Treinta y siete de 44 pacientes con α CL fueron β_2 GP-I negativos. No hubo diferencias significativas entre los pacientes en HD o en DPCA, en cuanto a seropositividad contra alguno de los autoanticuerpos.

El isotipo más frecuentemente encontrado fue el IgA: 39 de 43 seropositivos contra CL, y 8 de 10 pacientes seropositivos contra β_2 GP-I.

Hubo mayor prevalencia de α CL en pacientes del hospital público (77%) comparados con aquellos del centro privado (14%), $p < 0.0001$ (RM = 0.05, IC 95% 0.019-0.15).

En ésta serie, no hubo asociación entre la presencia de títulos altos de α CL y/o $\alpha\beta_2$ GP-I y la presencia de EVT. Las frecuencias de EVT se muestran en la tabla 3:

Tabla 3. Eventos vasculares trombóticos (EVT)

	α CL+	α CL-	$\alpha\beta_2$ GP-I +	$\alpha\beta_2$ GP-I -
EVT	16 (37%)	21 (40%)	4 (40%)	35 (41%)

En la tabla 4, se muestran las prevalencias relativas de los diferentes isotipos de anticuerpos dirigidos contra la cardiolipina, libre de β_2 GP-I.

Tabla 4. Anticuerpos Anti-Cardiolipina libre de β_2 GP-I.

Pacientes (No.)	α CL libre+	IgG α CL libre+	IgM α CL libre+	IgA α CL libre +
FRT (95)	30 (31%)	27 (28%)	4 (4%)	1 (1%)
HD (72)	20 (27%)	17 (23%)	3 (4%)	1 (1.3%)
DPCA (23)	10 (43.5%)	10 (43.5%)	1 (4%)	Ninguno

En la tabla 5, mostramos a los pacientes divididos en subgrupos, según la combinación de autoanticuerpos que presentan, independiente de su isotipo.

Tabla 5. Autoanticuerpos presentes en los sueros de los pacientes con EVT

Anticuerpos	α CL+ /	α CL+ /	α CL- /	α CL-
	$\alpha\beta_2$ GP-I -	$\alpha\beta_2$ GP-I +	$\alpha\beta_2$ GP-I -	/ $\alpha\beta_2$ GP-I +
α CL +	13	5	22	2
α CL -	12	0	38	3

DISCUSION

Los α FL, específicamente los α CL, y los $\alpha\beta_2$ GP-I, son un grupo heterogéneo de autoanticuerpos, dirigidos contra diferentes epítomos conformacionales presentes ya sea en el fosfolípido, en el complejo fosfolípido/cofactor, o en el cofactor.

En este estudio encontramos una alta prevalencia de anticuerpos anti-fosfolípidos en pacientes bajo tratamiento de la función renal, en comparación a la población general, lo cual confirma reportes previos.

Es importante enfatizar que también observamos una

menor prevalencia de anticuerpos $\alpha\beta_2\text{GP-I}$. Los reportes en la literatura muestran que los αCL presentes en los pacientes con FRT en HD, son *anticuerpos no dependientes* $\beta_2\text{GP-I}$ (es decir son de tipo infeccioso).

Sin embargo, en el presente estudio en un subgrupo de pacientes ($\alpha\text{CL+}/\alpha\beta_2\text{GP-I -}/\alpha\text{CL libre de } \beta_2\text{GP-I}$: 22 pacientes) encontramos la presencia de anticuerpos que reaccionan exclusivamente contra determinantes conformacionales, propios del *complejo fosfolípido*/ $\beta_2\text{GP-I}$. Y por lo menos, *en cuanto a su reactividad por ELISA*, son similares a los descritos por Takao Koike (αCL dependientes de $\beta_2\text{GP-I}$), los cuales se asocian con el estado protrombótico del SAAF.

El hecho de que en los pacientes con EVT no se presente manifestaciones trombóticas, no obstante la presencia de αFL patogénicos puede tener varias explicaciones.

Es posible que los “anticuerpos anti-complejo”, sean de diferente subclase a la asociada con eventos trombóticos (la cual es IgG2), es posible también que estén dirigidos contra otros determinantes conformacionales diferentes (diferencia idiotípicas de los anticuerpos), o un microambiente diferente propio del estado urémico persistente en estos pacientes.

Una de las principales desventajas de esta serie, es que no se determinó la presencia del anticoagulante lúpico.

Otra posibilidad es que, los anticuerpos anti-complejo reconozcan un complejo fosfolípido/cofactor proteico distinto al formado entre la CL y la β_2 GP-I (*v.g* annexina V, protrombina, etc). De ahí, su falta de reactividad contra cardiolipina libre de β_2 GP-I o contra la β_2 GP-I pura; pero que por reactividad cruzada, si reaccionen contra el complejo fosfolípido/ β_2 GP-I.

La annexina V, es una glicoproteína, cuya estructura cristalográfica tiene similitud con un disco bicóncavo con alta afinidad por fosfolípidos aniónicos, es capaz de desplazar factores de la coagulación de superficies fosfolipídicas, interviniendo en fenómenos de trombo modulación. Algunos datos muestran que tiene la capacidad de unirse al fosfolípido fosfatidilserina, que es un fosfolípido de carga negativa normalmente encontrado en la capa interna de la bicapa de fosfolípidos de la membrana celular. Durante fenómenos de apoptosis celular, este fosfolípido se transloca hacia la capa externa de la membrana celular . De ésta manera, la annexina V, funciona como un “sistema de marcaje” de células apoptóticas (16). Estudios recientes muestran la presencia de anticuerpos anti-annexina V en los sueros de pacientes con SAAF.

Una posible explicación a la alta frecuencia de anticuerpos anti-fosfolípidos en pacientes en diálisis, es que estos pacientes se encuentren en un estado de recambio celular aumentado (con liberación de membranas celulares) debido a un estado proapoptótico aumentado (71-74), secundario a la uremia crónica, al estrés oxidativo o al estado inflamatorio crónico del proceso de hemodiálisis.

Otra posibilidad, es que algunos de estos pacientes hayan sido seropositivos a anticuerpos antifosfolípidos desde antes de haber iniciado la HD o DPCA. Es posible que un *subgrupo de los pacientes con FRT de causa desconocida, sean efectivamente secundarios a SAAF.*

La única diferencia significativa observada fue la comparación entre los diferentes centros: en la que la mayor frecuencia de seropositividad contra α CL se detectó en los pacientes del hospital público en comparación a los del centro privado de hemodiálisis.

Ignoramos a ciencia cierta la razón de la diferencia. Los datos muestran que efectivamente son dos poblaciones distintas de pacientes, con: diferentes causas de FRT, diferente nivel socioeconómico, y una tendencia no significativa a una mayor edad promedio en pacientes del centro privado.

Debido a que todos los pacientes en DPCA eran del

hospital público, se compararon las prevalencias entre los pacientes en HD vs. DPCA, sin encontrarse diferencias significativas. Se ha postulado, al fenómeno de bioincompatibilidad de las membranas de hemodiálisis, como parte de la génesis de los anticuerpos anti-fosfolípidos. Esto no puede ser descartado del todo, debido a que probablemente, los pacientes en DPCA tienen una mayor frecuencia de infecciones p. ej. peritonitis bacterianas.

Es posible que factores dietéticos, socioeconómicos, modalidades de diálisis y su adecuada dosis, y sobre todo la frecuencia de infecciones bacterianas contribuyan a la diferencia observada entre los dos centros. Sin embargo, la búsqueda de estas diferencias, va más allá de los objetivos iniciales de del presente estudio.

CONCLUSIONES

- 1) El nuestro es el primer reporte de pacientes en México, con insuficiencia renal terminal en tratamiento de sustitución de la función renal (diálisis peritoneal o hemodiálisis), con alta prevalencia de anticuerpos anti-fosfolípidos. El isotipo mas frecuentemente encontrado fue el IgA (hasta hace poco, relativamente ignorado como protrombogénico en SAAF).

- 2) Los α FL detectados reconocen solo al complejo fosfolípido/cofactor, lo que sugiere que son de tipo patogénicos. Sin embargo, no encontramos asociación con eventos vasculares trombóticos.
- 3) Los anticuerpos α CL y los $\alpha\beta_2$ GP-I son un grupo heterogéneo de autoanticuerpos, por ello, no sorprende encontrarlos los pacientes motivo de nuestro estudio. Algunos de los anticuerpos detectados en estos pacientes, reconocen solo al complejo fosfolípido/cofactor. Es posible que también se encuentren presentes anticuerpos dirigidos contra otros cofactores proteicos en estos pacientes.
- 4) No observamos diferencias entre los pacientes en hemodiálisis o en diálisis peritoneal crónica. La bioincompatibilidad de las membranas usadas en hemodiálisis, así como la probable mayor incidencia de infecciones en los pacientes en diálisis peritoneal crónica, como parte del origen de los anticuerpos anti-cardiolipina no puede ser descartadas.
- 5) Los factores socioeconómicos, la dieta, las modalidades de diálisis y su adecuada dosis dialítica, así como la ocurrencia de infecciones pueden explicar las diferencias entre los dos centros.

CO-AUTORES

Dra. Ma. del Carmen Amigo Castañeda,
Medico Adscrito del Departamento de Reumatología
Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez".

Dr. Javier Cabiedes-Contreras,
Investigador en Ciencias Médicas.
Coordinador del Laboratorio de Inmunología.
Departamento de Inmunológica y Reumatología
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición
Salvador Zubirán.

Dr. Héctor Pérez-Grovas,
Jefe del Departamento de Nefrología
Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez"

Dr. Arnulfo Nava Zavala,
Jefe de Laboratorio Clínico
Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez"

Dr. Francisco Ruiz-Maza,
Jefe de la Unidad de hemodiálisis
Hospital Español de México, I.A.P.

Dra. Pilar Escamilla-Llano,
Medicina Interna,
Hospital Español de México, I.A.P.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

BIBLIOGRAFIA

- 1) Hughes GRV. The anticardiolipin syndrome. *Clin Exp Rheumatol* 1985;3:285.
- 2) Harris EN, Gharavi AE, Boey ML, Patel BM, Mackworth Young CG, Loizou S, Hughes GR. Anticardiolipin antibodies: detection by radioimmunoassay and association with thrombosis in systemic lupus erythematosus. *Lancet*. 1983;2:1211-14.
- 3) Harris EN, Baguley E, Asherson RA, Hughes GRV. Clinical and serological features of the antiphospholipid syndrome. *Br J Rheumatol* 1987;26:19 (abstract).
- 4) Mackworth-Young CG, David J, Loizou S, Walport MJ. Primary antiphospholipid syndrome: features in patients with raised anticardiolipin antibodies and no other disorders. *Br J Rheumatol* 1987;26:94.
- 5) Asherson RA, Khamashta MA, Ordi-Ros J et al. The "primary" antiphospholipid syndrome: major clinical and serological features. *Medicine (Baltimore)* 1989;68:366-74.
- 6) Alarcon-Segovia D, Sanchez-Guerrero J. Primary antiphospholipid syndrome. *J Rheumatol* 1989;16:482-88.
- 7) 8th International Symposium on Antiphospholipid Antibodies, Sapporo, Japan (1998). *Lupus* 7 (Suppl 2):1-234.
- 8) Wilson WA, Gharavi AE, Koike T et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome. Report of an international workshop. *Arthritis Rheum* 1999;42:1309-11.
- 9) Khamashta MA, Mackworth Young C. Antiphospholipid (Hughes) syndrome – a treatable cause of recurrent pregnancy loss. *Br Med J* 1997;314:244.
- 10) Khamashta MA (Ed). *The Hughes Syndrome. Antiphospholipid Syndrome*. 1st Edition, 2000. Springer-Verlag London. Pag. 3.
- 11) Moore JE, Mohr CF. Biologically false positive serological test for syphilis: type, incidence and cause. *J Am Med Assoc* 1952;150:467-73.
- 12) Moore JE, Lutz WB. Natural history of systemic lupus erythematosus: approach to its study through chronic biologic false positive reactors. *J Chronic Dis* 1955;1:297-316.
- 13) Shapiro SS, Thiagarajan P. Lupus anticoagulants. *Prog Hemost Thromb*. 1982;6:263-85.
- 14) Bowie WEJ, Thompson JH, Pascuzzi CA, Owen GA. Thrombosis in systemic lupus erythematosus despite circulating anticoagulants. *J Clin Invest*

- 1963;62:416-30.
- 15) Brandt JT, Triplett DA, Alving B et al. Criteria for the diagnosis of lupus anticoagulantes: an update. On behalf of the Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibody of the Scientific and Standardization Committee of the ISTH. *Thromb Haemost* 1995;74:1185-90.
 - 16) Rand JH. Molecular Pathogenesis of the Antiphospholipid Syndrome. *Circ Res*. 2002;90:29-37.
 - 17) Tsutsumi A, Koike T. Measurement of Anti- β 2-glycoprotein I Antibodies. In: Khamashta M.A.(Ed.). *The Hughes Syndrome*. Springer-Verlag London 2000, pag.238-40.
 - 18) Manfredi AA, Rovere P, Galati G, Heltai S, Bozzolo E, Soldini L, Davoust J, Balestrieri G, tincani A, Sabbadini MG. Apoptotic cell clearance in systemic lupus erythematosus, I: opsonization by antiphospholipid antibodies. *Arthritis Rheum*. 1998;41:205-14.
 - 19) Chonn A, Semple SC, Cullis PR. β 2 Glycoprotein I is a major protein associated with very rapidly cleared liposomes in vivo, suggesting a significant role in the immune clearance of "non-self" particles. *J Biol Chem*. 1995;270:25845-9.
 - 20) Iverson GM, Victoria EJ, Marquis DM. Anti- β 2 glycoprotein I (β 2GPI) autoantibodies recognize an epitope on the first domain of β 2 GPI. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:15542-6.
 - 21) Bouma B, de Groot PG, van den Elsen JM, Ravelli RB, Schouten A, Simmelink MJ, Derksen RH, Kroon J, Gros P. Adhesion mechanism of human β 2 glycoprotein I to phospholipids based on its crystal structure. *EMBO J*. 1999;18:5166-5174.
 - 22) Schwarzenbacher R, Zeth K, Diederichs K, Gries A, Kostner GM, Laggner P, Prassl R. Crystal structure of human β 2-glycoprotein I: implications for phospholipids binding and the antiphospholipid syndrome. *EMBO J*. 1999;18:6228-6239.
 - 23) Willems GM, Janssen MP, Pelsers MM, Comfurius P, Galli M, Zwaal RF, Bevers EM. Role of divalency in the high-affinity binding of anticardiolipina antibody- β 2 glycoprotein I complexes to lipid membranes. *Biochemistry*. 1996;35:13833-13842.
 - 24) Reddel SW, Wang YX, Sheng YH, Krilis SA. Epitope studies with anti- β 2-glycoprotein I antibodies from autoantibody and immunized sources. *J Autoimmun*. 2000;15:91-96.

- 25) McNeeley PA, DiIott JS, Furie RA, Jack RM, Ortel TL, Triplett DA, Victoria EJ, Linnik MD. β 2-Glycoprotein I-dependent anticardiolipin antibodies preferentially bind the amino-terminal domain of β 2-glycoprotein I. *Thromb Haemost.* 2001;86:590-5.
- 26) Cabral AR, Cabiedes J, Alarcon-Segovia D. Antibodies to phospholipid-free β 2 glycoprotein I in patients with primary antiphospholipid syndrome. *J Rheumatol.* 1995;22:1894-1898.
- 27) Roubey RAS. Antiphospholipid Antibody-negative Syndrome-Other Phospholipids. In: Khamashta M.A.(Ed.). *The Hughes Syndrome.* Springer-Verlag London 2000, pag.256-7.
- 28) de Groot PG, Horbach DA, Derksen RH. Protein C and other cofactors involved in the binding of antiphospholipid antibodies. Relation to the pathogenesis of thromboiss. *Lupus.* 1996;5:488-493.
- 29) Abbas AK, Lichtman AH. B Cell Activation and Antibody Production. In: *Cellular and Molecular Immunology* 5th edition. Saunders 2003 USA, Philadelphia, PA. Pags. 200-1.
- 30) O'shea SI, Lawson JH, Reddan D, Murphy M, Ortel TL Hypercoagulable states and antithrombotic strategies in recurrent vascular access site thrombosis *J Vasc Surg.* 2003 Sep;38(3):541-8.
- 31) Chuan YC, Chen JB, Yang LC, Kuo CY. Significance of platelet activation in vascular access survival of haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2003;18(5):947-54.
- 32) Nampoory MR, Das KC, Hohny KV, Al-Hilali N, Abraham M, Easow S, Saed T, Al-Muzeirei IA, Sugathan TN, Al Mousawi M. Hypercoagulability, a serious problem in patients with ESRD on maintenance hemodialysis, and its correction after kidney transplantation. *Am J Kidney Dis.* 2003;42(4):797-805.
- 33) Manns BJ, Burgess ED, Parsons HG, Schaefer JP, Hyndman ME, Scott-Douglas NW. Hyperhomocysteinemia, anticardiolipin antibody status, and risk for vascular access thrombosis in hemodialysis patients. *Kidney Int.* 1999;55(1):315-20.
- 34) Garcia-Martin F, De Arriba G, Carrascosa T, et al. Anticardiolipin antibodies and lupus anticoagulant in end stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant.* 1991;6:543-7.
- 35) Phillips A O, Jones HW, Hambley H, Hillis AN, Hendry BM. Prevalence of lupus anticoagulant and anticardiolipin antibodies in haemodialysis patients. *Nephron.* 1993;65(3):350-3.

- 36) Quereda C, Pardo A, Lamas S., Marcen R, Garcia -Avello A, Orofino L, Navarrol JL, Ortuno J. High prevalence of lupus anticoagulant in hemodialysis patients. *Life Support Syst.* 1985;3 Suppl 1; 58-62.
- 37) Quereda C, Pardo A, Lamas S, Orofino L, Garcia-Avello A, Marcen R, Teruel JL, Ortuno J. Lupus-like in vitro anticoagulant activity in end-stage renal disease. *Nephron.* 1988;49(1):39-44.
- 38) Gronhagen-riska C. Raised concentration of anticardiolipin antibodies and lupus anticoagulant in patients receiving dialysis. *Br Med J.* 1990;300:1696-97.
- 39) Prieto LN, Suki WN. Frequent hemodialysis graft thrombosis: association with antiphospholipid antibodies. *Am J Kidney Dis.* 1994;23(4):587-90.
- 40) Brunet P, Aillaud MF, San Marco M, Philip-Joet C, Dussol B, Bernard D, Juhan-Vague I, Berland Y. Antiphospholipid in hemodialysis patients: relationship between lupus anticoagulant and thrombosis. *Kidney Int.* 1995;48(3):794-800.
- 41) Prakash R, Miller CC 3rd, Suki WN. Anticardiolipin antibodies in patients on maintenance hemodialysis and its association with recurrent arteriovenous graft thrombosis. *Am J Kidney Dis.* 1995;26(2):347-52.
- 42) Macedo CS, Martinez RS, Riyuzo MC, Bastos HD. [Renal arterial thrombosis and the antiphospholipid antibody syndrome: a case report]. *J Pediatr (RioJ).* 2001;77(6):517-21.
- 43) Sallam S, Wafa E, el-Gayar A, Sobh M, Salama O. Anticardiolipin antibodies in children on chronic haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant.* 1994;9(9):1292-4.
- 44) Naito T, Yorioka N, Kyuden Y, Yamashita K, Ueda C, Usul K, Shigemoto K, Harada S, Yamakido M. A case of antiphospholipid antibody syndrome diagnosed after thrombosis of an arteriovenous shunt. *Intr J Artif Organs.* 1999; 22(8):543-6.
- 45) Ozdemir N, Guz G, Sezer S, Haberal A, Ayaz H, Haberal M. Anticardiolipin antibodies in hemodialysis patients. *Transplant Proc.* 1999;31(8):3388-9.
- 46) LeSar CJ, Merrick HW, Smith MR. Thrombotic complications resulting from hypercoagulable states in chronic hemodialysis patients vascular access. *J Am Coll Surg.* 1999;189(1):73-9; discussion on 79-81.
- 47) Sands JJ, Nudo SA, Ashford RG, Moore KD, Ortel TL. Antibodies to topical bovine thrombin correlate with access thrombosis. *Am J Kidney Dis.* 2000;35(5):796-801. Commentary on: *Am J Kidney Dis.* 2000;35(5):973-5.
- 48) Martinez Rubio MP, Moreno Lopez R, Lama M, Sanchez Bielsa F. [Primary antiphospholipid syndrome diagnosed in hemodialysis]. *Nefrologia.*

2002;22(1):71-4.

- 49) Harwood L, Wilson B. Antiphospholipid antibodies and hemodialysis vascular access thrombosis. *Nephrol Nurs J*. 2001;28(3):346-7.
- 50) Adler S, Szczech L, Qureshi A, Bollu R, Thomas-John R. IgM anticardiolipin antibodies are associated with stenosis of vascular access in hemodialysis patients but do not predict thrombosis. *Clin Nephrol*. 2001;56(6):428-34.
- 51) Joseph RE, Radhakrishnan J, Appel GB. Antiphospholipid antibody syndrome and renal disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2001;10(2):175-81.
- 52) Haviv YS. Association of anticardiolipin antibodies with vascular access occlusion in hemodialysis patients: cause or effect. *Nephron* 2000;86(4):447-54.
- 53) Ducloux D, Florea A, Rebibou JM, Jamali M, Chalopin JM. Anti-beta 2-glycoprotein I and anti-prothrombin antibodies in hemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*. 1997;12(11):2466-7.
- 54) Fabrizi F, Sangiorgio R, Pontoriero G, Corti M, Tentori F, Trona E, Locatelli F. Antiphospholipid (aPL) antibodies in end-stage renal disease. *J Nephrol*. 1999;12(2):89-94.
- 55) Valeri A, Joseph R, Radhakirshnan J. A large prospective survey of anticardiolipin antibodies in chronic hemodialysis patients. *Clin Nephrol*. 1999;51(2):116-21.
- 56) Chew SL, Lins RL, Daelemans R, Zachee P, De Clerck LS, Vermylen J. Are antiphospholipid antibodies clinically relevant in dialysis patients? *Nephrol Dial Transplant*. 1992;7(12):1194-8.
- 57) Sitter T, Spannagi M, Schiffli H. Anticardiolipin antibodies and lupus in patients treated with different methods of renal replacement therapy in comparison to patients with systemic lupus erythematosus. *Ann Hematol*. 1992;65(2):79-82.
- 58) Sitter T, Schiffli H. Anticardiolipin antibodies in patients on regular hemodialysis: an epiphenomenon? *Nephron* 1993;64(4):655-6.
- 59) Palomo I, Pereira J, Alarcon M, Vasquez M, Pierangeli S. Vascular access thrombosis is not related to presence of antiphospholipid antibodies in patients on chronic hemodialysis. *Nephron*. 2002;92(4):957-8.
- 60) Ducloux D, Pellet E, Fournier V, Rebibou JM, Bresson-Vautrin C, Racadot E, Fellmann D, Chalopin JM. Prevalence and clinical significance of antiphospholipid antibodies in renal transplant recipients. *Transplantation*. 1999;67(1):90-3.
- 61) George J, Aron A, Levy Y, Gilburd B, Ben-David A, Renaudineau Y, Zonana-Nachach A, Youinou P, Harats D, Shoenfeld Y. Anti-cardiolipin, anti-

- endothelial-cell and anti-malondialdehyde-LDL antibodies in uremic patients undergoing hemodialysis: relationship with vascular access thrombosis and thromboembolic events. *Hum Antibodies*. 1999;9(2):125-31.
- 62) Matsuda J, Saitoh N, Gohchi K, Tsukamoto M, Nakamura K, Kinoshita T. Beta 2-Glycoprotein I-dependent and independent anticardiolipin antibodies in patients with end-stage renal disease. *Thromb Res*. 1993;72(2):109-17.
- 63) Vaidya S, Daller J, Gugliuzza K. Role of anti-beta 2 glycoprotein I antibodies in ESRD patients with antiphospholipid antibody syndrome. *Clin Transplant*. 2002;16(5):362-7.
- 64) Radhakrishnan J, Williams GS, Appel GB, Cohen DJ. Renal transplantation in anticardiolipin antibody-positive lupus erythematosus patients. *Am J Kidney Dis*. 1994;23:286-9.
- 65) Mondragon-Ramirez G, Bochicchio T, Garcia-Torres R, et al. Recurrent renal thrombotic angiopathy after kidney transplantation in two patients with primary antiphospholipid syndrome (PAPS). *Clin Transplant*. 1994;8:93-6.
- 66) Knight RJ, Schanzer H, Rand JH, Burrows L. Renal allograft thrombosis associated with the antiphospholipid antibody syndrome. *Transplantation*. 1995;60:614-5.
- 67) Vaidya S, Wang CC, Gugliuzza C, Fish JC. Relative risk of post-transplant renal thrombosis in patients with antiphospholipid antibodies. *Clin Transplant*. 1998;12:439-44.
- 68) Vaidya S, Sellers R, Kimball P, Shanahan T, Gitomer J, Gugliuzza K, Fish JC. Frequency, potential risk and therapeutic interventions in end stage renal disease patients with antiphospholipid antibody syndrome: a multicenter study. *Transplantation*. 2000;69(7):1348-52.
- 69) Wagenknecht DR, Fastenau DR, Torry RJ, Carter CB, Haag BW, McIntyre JA. Antiphospholipid antibodies are a risk factor for early renal allograft failure: isolation of antiphospholipid antibodies from thrombosed renal allograft. *Transplant Proc*. 1999;31(1-2):285-8.
- 70) Isom R, Nickolas TL, Radhakrishnan J. Nephrological and obstetric complications of the antiphospholipid syndrome. *Expert Opin Investig Drugs*. 2002 Jun;11(6):819-29.
- 71) Andrikos E, Buonecristiani E, et al. Effect of daily hemodialysis on monocytes apoptosis. *Blood Purif*. 2005;23(1):79-82 (Abstract)
- 72) Koller H, Hochegger K, et al. Apoptosis of human polymorphonuclear neutrophils accelerated by dialysis membranes via the activation of the

- complement system. *Nephrol Dial Transplant*. 2004;19(12):3104-11.
- 73) Modlinger PS, Wilcox CS, Aslam S. Nitric oxide, oxidative stress and progression of chronic renal failure. *Semin Nephrol*. 2004;24(4):354-65.
- 74) Raj DS, Shah H, Shah VO, Ferrando A, Bankhurst A, Wolfe R, Zager PG.. Markers of inflammation, proteolysis, and apoptosis in end stage renal disease. *Am J Kidney Dis*. 2003;42(6):1212-20.