

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS**

**TESIS DOCTORAL EN MEDICINA Y**  
**CIRUGÍA**

**“NEFRITIS LÚPICA. FACTORES ASOCIADOS Y  
PRONÓSTICOS EN UNA POBLACIÓN  
MULTIÉTNICA”**

**AUTOR: PAULA BEATRIZ ALBA MOREYRA**  
**AÑO 2008**

**DIRECTORES:**

- ✓ DR. MUNTHER A. KHAMASHTA
- ✓ DR. MARCELO A. YORIO

**COMISIÓN DE TESIS DOCTORAL**

- ✓ DRA. ANA MARIA SESIN
- ✓ DR. LUIS S. SPITALE

AÑO 2008

**ARTÍCULO 25: REGLAMENTO PARA CARRERA  
DEL DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA SALUD.  
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS.  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA**

**"LA FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS NO  
SE HACE SOLIDARIA CON LAS OPINIONES  
DE ESTA TESIS".**

## AGRADECIMIENTOS

Esta tesis no hubiera sido posible sin la generosidad, la guía y el apoyo de muchos familiares, colegas y amigos.

En primer lugar, mi más profundo agradecimiento e infinita deuda intelectual a los Dr. Munther Khamashta y Dr. Marcelo Yorio, no sólo por su motivación incesante en la realización de este proyecto, su apoyo científico y lealtad a través de los años, sino también por su amistad sincera y su comprensión. Junto a ellos mi más profundo reconocimiento a toda la comisión de tesis doctoral, a la Dra. Ana María Sesin y el Dr. Luis Spitale por su constante apoyo científico y humano.

Un especial agradecimiento a mis colegas y amigas María José Cuadrado, María Laura Bertolaccini, Ida Exeni, María Marta Santillán y a mi hermana Ana por su ayuda invaluable y su compañía sin límites en este tiempo.

Deseo también expresar mi más sincera gratitud al Dr. Graham Hughes, por haberme dado la oportunidad de estar y considerarme parte de la Unidad de Lupus del Hospital St. Thomas's en Londres y al Dr. David D'Cruz.

Mi gratitud también al Dr. Eduardo Albiero, a la Dra. Alejandra Babini y a todos los integrantes y amigos del Hospital Córdoba, Italiano y Materno Neonatal por ser parte de su equipo y por su apoyo para la realización de este trabajo.

Un reconocimiento especial al Dr. Francisco Crespo Roca por su constante apoyo a mi carrera profesional y al Dr. Rafael Gallerano, titular de la Cátedra de Medicina I del Hospital Córdoba.

Quiero dedicarles este trabajo a mis padres, Beatriz y Fernando, por su constante amor, fuerza e incentivo y a toda mi familia, que son mi motivación para seguir adelante.

Una dedicatoria especial merecen las Familias Santamarina, Brintzenhoff, Storey, Bertolaccini, el Dr. Joseph Font y el Dr. Jack Davis, Sandra Bruera y todos mis amigos, especialmente los de la Unidad de Lupus: Giovanni Sanna, Francesca Leone, Luis Bento, Yousuf Karim, Cecilia Pisone y Mary Carmen Amigo.

Por último, una mención especial merecen mis pacientes, a los que participaron y a los que no en este estudio, a quienes está dedicado este trabajo.

## ABREVIATURAS

AAF	Anticuerpos antifosfolípidos
ABGPI	Anticuerpos anti- $\beta$ -glicoproteína I
ACA Ig G	Anticuerpos anticardiolipinas Ig G
ACA Ig M	Anticuerpos anticardiolipinas Ig M
ACR	Colegio Americano de Reumatología
ACV	Accidente Cerebrovascular
AL	Anticoagulante lúpico
ANA	Anticuerpos Antinucleares
APTT	Tiempo de tromboplastina parcial activado
AZA	Azatioprina
CF EV	Ciclofosfamida endovenosa
CF VO	Ciclofosfamida vía oral
DRVVT	Tiempo de veneno de víbora de Russell
DS-DNA	Anticuerpos anti DNA doble cadena
EDTA-GFR	Filtrado glomerular ácido tetraacético etilenediamina Cromo 51
ENA	Antígenos Extraíbles del núcleo
ERT	Enfermedad renal terminal
GC	Glucocorticoides
HCQ	Hidroxicloroquina
Hep-2	Células epiteliales derivadas del carcinoma laríngeo humano
HLA	Antígeno Leucocitario Humano
HTA	Hipertensión Arterial
IA	Índice de actividad
IC	Índice de cronicidad
IECA	Inhibidores de enzima convertidora
IF	Inmunofluorescencia
Ig	Inmunoglobulina
ISN/RPS	Sociedad Internacional de Nefrología y de Patología Renal
LECS	Lupus eritematoso cutáneo subagudo
LES	Lupus eritematoso sistémico
LNPS	Lupus neuropsiquiátrico
MAT	Microangiopatía Trombótica

MMF	Micofenolato Mofetil
NL	Nefritis Lúpica
NSAF	Nefropatía por Síndrome antifosfolípido
SAF	Síndrome antifosfolípido
SS	Síndrome Sjogren
TLR	Toll Like receptor
WHO	Organización Mundial de la Salud

## RESUMEN

El compromiso renal es reconocido como una de las complicaciones más serias en el LES y es uno de los factores más importantes de mal pronóstico. Numerosos estudios epidemiológicos en pacientes con NL han sido publicados y más de trece factores de riesgos independientes predictores de progresión han sido identificados.

En este trabajo estudiamos los factores demográficos e inmunológicos asociados con el desarrollo de NL en una población multiétnica y analizamos los diferentes factores que afectan el pronóstico de la NL con énfasis en el rol de los AAF y las diferentes clases histopatológicas de NL.

Se evaluaron retrospectivamente 156 pacientes que cumplían con los criterios de LES acorde al ACR <sup>(182)</sup>, con biopsia renal compatible con el diagnóstico de NL atendidos en la unidad de Lupus del hospital St. Thomas 's de la ciudad de Londres y en la unidad de reumatología del hospital Córdoba de la ciudad de Córdoba en los últimos 12 años. 110 pacientes fueron estudiados en la unidad de lupus del hospital St. Thomas 's y 47 pacientes fueron incluidos en la unidad de reumatología del hospital Córdoba. Los datos demográficos, presentación clínica, laboratorio y tratamiento fueron recolectados de las historias clínicas al momento de la biopsia renal. Las biopsias renales fueron clasificadas acuerdo a los criterios de clasificación de la glomerulonefritis lúpica *ISN/RPS* 2004 <sup>(433)</sup>. Los índices de actividad y cronicidad fueron estimados acorde al sistema modificado por Austin <sup>(19)</sup>. Las lesiones histopatológicas sugestivas de NSAF fueron evaluadas por los patólogos ciegos de los datos clínicos. El pronóstico renal fue evaluado por el desarrollo de insuficiencia renal crónica definida por la duplicación del nivel de creatinina sobre el valor basal, el desarrollo de enfermedad renal terminal definida por la necesidad de diálisis o trasplante renal, y muerte. El filtrado glomerular fue medido por EDTA-GFR.

El grupo de pacientes con NL fue significativamente más joven que el grupo control al momento del diagnóstico de LES (37.13 (10.6) años vs. 43.04 (13.603)  $p < 0.000$ ) - Los parámetros que se correlacionaron con la NL posterior al análisis multivariado fueron: la edad más temprana al diagnóstico de la enfermedad ( $p = 0.009$ ), la etnia negra ( $p = 0.000$ ), la asiática ( $p = 0.02$ ) la presencia de anti-ds-DNA ( $p = 0.000$ ) y anti-Sm ( $p = 0.001$ ) Una frecuencia mayor y significativa de ds-DNA se presentó en los caucásicos (72.3%) y mestizos (92%). La presencia de anti-RNP fue estadísticamente asociada a los negros (74%), y de anti-el Sm a los mestizos (76%) y los negros (55%) respectivamente. Los anticuerpos anti-Ro estuvieron significativamente asociados a la etnia negra (63%) seguida por los asiáticos (37.5%). Los ACA Ig G estuvieron presentes en mayor proporción

en los mestizos (64%). La presencia de AAF estuvo asociada con hematuria en la presentación de la enfermedad renal a la biopsia ( $p=0.004$ ). La presencia y la cantidad de proteinuria, el nivel de creatinina basal y la alteración de la función renal no se asociaron con los AAF. La presencia de AAF fue asociada a la presencia de HTA. ( $p=0.02$ ). No encontramos asociación entre los diferentes tipos de NL así como en los IA e IC y la presencia de AAF. Las lesiones histopatológicas de NSAF que se hallaron con más frecuencia en los pacientes con SAF fueron la hiperplasia miointimal y la atrófica cortical focal ( $p=0.01$ ,  $p=0.001$ ). El EDTA-GFR fue significativamente menor en los pacientes con ACA Ig G y AL comparados con los pacientes negativos. ( $p=0.029$ ;  $p=0.05$ ). No encontramos asociación entre los AAF y los pacientes que duplicaron la creatinina, desarrollaron ERT, y muerte. La creatinina basal, el deterioro de la función renal, la HTA, la proteinuria y la hematuria fueron más frecuentes en las clases proliferativas aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa. ( $p=NS$ ). No encontramos diferencias significativas en la duplicación de la creatinina, ERT y la muerte entre ambos grupos. En el análisis de los factores predictivos al tiempo de la duplicación de la creatinina, la ERT y la muerte por modelo de cox en el análisis univariado la raza mestiza fue estadísticamente significativa para los dos primeros ( $p=0.001$ ,  $p=0.03$ ) respectivamente, así como el nivel de creatinina inicial ( $p=0.05$ ). El IA en la biopsia inicial fue un factor estadísticamente significativo en el modelo cox en el análisis univariado para la mortalidad. ( $p=0.000$ ).

Los factores asociados con el desarrollo NL en nuestra serie multiétnica fueron la menor edad al diagnóstico del LES, la presencia de anti-ds-DNA y anti-Sm y los grupos étnicos no caucásicos constituidos por población negra y asiática. La presencia de AAF estuvo asociada a la HTA y la hematuria como manifestaciones clínicas de la enfermedad renal en nuestros pacientes. Las lesiones histopatológicas de NSAF más frecuentes fueron la hiperplasia miointimal y atrofia cortical focal. En este trabajo también pudimos demostrar el impacto negativo de los AAF sobre la función renal medida por el filtrado glomerular mediante EDTAGFR. No pudimos demostrar diferencias en la presentación ni en el pronóstico de las formas proliferativas y no proliferativas de NL aplicando la clasificación del ISN/RPS del 2004. La supervivencia renal alcanzada por nuestros pacientes fue del 92% con una mortalidad del 6.41% a los 15 años.



## SUMMARY

Renal disease is a common manifestation in patients with SLE and one of the strongest predictors of poor outcome. Many prognostic factors have been recognized over the years. We have studied the immunological and demographic factors associated with the development of lupus nephritis in a multiethnic population and we have analyzed the prognostic factors particularly the role of AAF and the different histopathological classes of nephritis.

We retrospectively studied 156 patients with biopsy-proven NL, 110 from the lupus Unit at St. Thomas's Hospital in London and 47 from the Rheumatology Unit at Córdoba Hospital in Córdoba. We studied clinical features, laboratory parameters and treatment at disease presentation. Renal biopsies were classified according to ISN/RPS 2004. IA and IC were evaluated according to Austin system. NSAF were analyzed according to Sydney criteria. Renal outcome was assessed by measurement of EDTA-GFR, doubling of serum creatinine, development of ERT and death.

The group of patients with nephritis was significantly younger than the control group at the time of SLE diagnosis ( 37.13(10.6) years vs 43.04(13.603)  $p<0.000$ ). In multivariate analysis, the following parameters were correlated with the presence of nephritis: younger age at SLE diagnosis (  $p<0.000$ ), black and asian ethnicity ( $p<0.000$ ,  $p<0.02$ ); presence of anti-ds-DNA and anti-Sm (  $p=0.000$ ,  $p=0.001$ ). The prevalence of AAF was 53%. The presence of AAF was associated with hypertension and haematuria at first presentation (  $p=0.02$ ,  $p=0.004$  respectively). There was not association between the AAF and different histopathological classes of NL. The main histopathological lesions of NSAF were myointimal hyperplasia and focal cortical atrophy ( $p=0.01$ ,  $p=0.001$  respectively). The results of EDTA-GFR estimation were available in 70 patients. The EDTA-GFR was significantly lower in patients with ACA Ig G and AL compared with patients who were negative respectively (  $p=0.029$ ;  $p=0.05$ ). There was not association between AAF and doubling of serum creatinine, ERT and death. There was not difference in clinical presentation between proliferative and non proliferative class of NL. No difference was detected in any of the outcome measures when comparing these classes. Mestizo ethnicity and creatinine baseline level were the only prognostic factors associated to doubling of serum creatinine and ERT. The IA and the creatinine baseline level were associated to death.

The factors associated with NL in our study were black and asian ethnicity, younger age at SLE diagnosis, and the presence of anti-ds-DNA and anti-Sm antibodies. The

presence of AAF was associated to haematuria and hypertension at clinical presentation of NL. The main histopathological lesions of NSAF were myointimal hyperplasia and focal cortical atrophy. The presence of AAF was associated with a worse prognosis in NL. The presence of proliferative change on biopsy was not associated with a different clinical presentation or worse long-term outcome. The renal survival was 92% and the mortality was 6.41% in our patients with 15 years of follow up.

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1. ASPECTOS HISTÓRICOS DEL LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO

Lupus que en latín significa lobo, era el nombre de una familia romana <sup>(95)</sup>. El origen de la asociación del nombre de este animal con la enfermedad es desconocida. El primer uso médico descrito apareció en el siglo X en la biografía de St. Martin quien había vivido en el siglo IV, donde describe a un paciente seriamente afectado de una enfermedad que lo condujo a la muerte llamada lupus <sup>(388)</sup>.

Al final del siglo XII Rogerius Frugardi estableció que el lupus algunas veces afecta los muslos y los miembros inferiores y se distinguía del cáncer <sup>(307)</sup>. Posteriormente esta distinción fue clarificada por su estudiante Roland de Parma <sup>(280)</sup> y el lupus permaneció asociado con lesiones ulceradas de miembros inferiores hasta el siglo XVI, cuando fue considerada una lesión facial. La mayoría de los autores ya consideraron a ésta una enfermedad distintiva y no una fase de otra, pero ninguno la describió en suficiente detalle para que un diagnóstico en el concepto actual sea inferido.

La discusión de si esta enfermedad de la piel era una manifestación de la tuberculosis, la cual por sí sola estaba siendo definida, comenzó en el siglo XIX. Acorde a los dermatólogos Thomas Bateria y Robert William, se habría definido al lupus como otra lenta afección tuberculosa que afectaba la cara y otras partes del cuerpo <sup>(319)</sup>. En 1845, Ferdinand Von Hebra propuso una clasificación de las enfermedades de la piel basadas en los componentes específicos de la misma. Bajo la denominación de “Hiperactividad de glándulas sebáceas, el describió “seborrea congestiva” que pocos años más tarde fue llamada lupus eritematoso <sup>(417)</sup>.

En 1851, Cozenare describió una variedad de lupus como “eritema centrífugo” e introdujo el término “lupus eritematoso” <sup>(420)</sup>. En 1856, Cozenare escribió más extensamente acerca del lupus eritematoso y mencionó la ocurrencia de fiebre y dolor, pero la definición fue meramente dermatológica <sup>(62)</sup>.

La distinción con la escrófula (Tuberculosis) fue importante porque el lupus fue considerado una enfermedad tuberculosa teniendo en cuenta que el significado de la tuberculosis era diferente en la era pre-bacteriológica. En 1862, en la ciudad de Londres Erasus Wilson distinguió el lupus del tuberculoma y realizó la descripción de la enfermedad cutánea que Cozenare había denominado lupus <sup>(435)</sup>. Posteriormente, Kaposi confirma la observación de Wilson e introduce el término de “discoide” y, en 1921,

Goeckerman analizó los datos de la Clínica Mayo y encontró que el lupus eritematoso discoide era tan prevalente como la tuberculosis <sup>(216,147)</sup>.

El reconocimiento del Lupus eritematoso sistémico (LES) data del 1872 cuando William Osler publicó 3 artículos describiendo una enfermedad que inicialmente llamó eritema exudativo multiforme. En 1900, Osler abandonó el término eritema exudativo multiforme por uno menos específico “grupo eritema” y no usó el término lupus eritematoso. En su última publicación en 1904, él resumió 29 casos que diferían del lupus eritematoso y que tenían hallazgos cutáneos, artralgias y nefritis. Los artículos de Osler llamaron la atención de la asociación entre síntomas cutáneos y viscerales <sup>(315, 316,317)</sup>.

En 1911, Emanuel Libman hospitalizó una niña con un rash eritematoso que parecía lupus eritematoso diseminado y con cultivos estériles, cuya autopsia reveló una endocarditis inusual y estéril y la presencia de glomerulonefritis.

En 1924, se habían reportado 4 casos que fueron tratados por Libman y autopsiados por Sacks, puntualizando la similitud de ellos con el grupo de eritema de Osler pero no realizando diagnóstico de LES en ningún caso <sup>(248,249)</sup>.

En 1922, Keih y Rountree en Rochester destacaron que la nefritis era una complicación común del LES y en 1935, en New York, en un estudio patológico diferenciaron un tipo particular de nefritis en el 56% de los pacientes con LES <sup>(24,224)</sup>. La importancia del compromiso renal fue reconocido por Harvey et al. quienes encontraron que dos tercios de las autopsias de pacientes con LES presentaban varios grados de daño renal. Ellos resaltaron la incapacidad de correlacionar el grado de daño renal clínicamente con la extensión del mismo postmortem <sup>(166)</sup>.

En 1942 Kaiser en Baltimore estudió “fibrosis esplénica arterial en piel de cebolla” y la encontró en el 83% de los casos de LES y sólo en un 3% de otras enfermedades <sup>(214)</sup>.

En cuanto a la descripción del compromiso cerebral Osler consideró llamativamente y de origen no claro la aparición de delirio en un caso y, en otro, describió episodios de hemiplejía y afasia recurrentes <sup>(315)</sup>. En 1940, las anomalías de la función cerebral eran atribuidas a la fiebre o a la uremia y fue posteriormente Harvey quien atribuyó las convulsiones al LES <sup>(166)</sup>.

Los primeros reportes de los aspectos serológicos fueron en 1909 y 1910 donde se describieron casos de LES que tenían un test falso positivo para sífilis, mostrando la evidencia de que el LES no era una manifestación de la tuberculosis <sup>(340,341)</sup>.

En 1943, Malcom M. Hargraves de la Clínica Mayo describió cuerpos globulares con tinción purpúrica en el aspirado de médula ósea de un niño con una enfermedad no

diagnosticada. Estos hallazgos fueron reportados por primera vez en 1948 y Haserick en la Cleveland Clinic sugirió el gran valor de la célula LE y su posible presencia en los casos de lupus eritematoso diseminado <sup>(159,167)</sup>. La importancia de la célula LE en el diagnóstico de LES comenzó a disminuir después de unos años, ya que algunos autores demostraron su presencia en el 16% de pacientes con artritis reumatoidea poniendo en duda su especificidad <sup>(227)</sup>. Por otro lado en 1961, Rothfield y colaboradores mostraron que la célula LE no se detectaba en un cuarto de los pacientes con LES, probando una pobre sensibilidad <sup>(354)</sup>.

En 1957, tres laboratorios casi simultáneamente demostraron la presencia de un factor en el suero que reaccionaba específicamente con el DNA en algunos casos de LES <sup>(58,349)</sup>. En 1966, Tan y col. detectaron los anticuerpos anti-DNA en el LES <sup>(399)</sup>. En 1969, Koffler encontró que la detección de los anticuerpos anti DNA doble cadena (ds-DNA) era más específico para LES <sup>(230)</sup>. En 1966, Tan y Kunkel detectó un antígeno citoplasmático en el suero de pacientes con LES que fue denominado Sm. Este fue el primer anticuerpo de antígeno nuclear no histona detectado y altamente específico para LES pero detectado sólo en un tercio de los casos <sup>(398)</sup>. Posteriormente los siguientes descubrimientos de los anticuerpos relacionados al LES permitieron el desarrollo de nuevas técnicas para la detección de los mismos.

## **1.2. CRITERIOS DE CLASIFICACIÓN**

En 1971, la Asociación Americana de Reumatología publicó los criterios preliminares de clasificación para LES. Estos criterios fueron desarrollados para estudios clínicos y poblaciones y no para propósitos diagnósticos <sup>(78)</sup>. Estos criterios fueron basados en la información de 52 reumatólogos de hospitales de Estados Unidos y Canadá. Basados en 57 ítems analizados, éstos fueron reducidos a 14 manifestaciones que incluyeron 21 ítems. Estos criterios fueron elegidos por su alta sensibilidad y especificidad, encontrando una sensibilidad del 90% y una especificidad del 99% comparado con la artritis reumatoidea y del 98% comparado con otras enfermedades no reumáticas <sup>(77)</sup>.

Posteriormente estos criterios fueron estudiados en otros centros encontrando sensibilidades que variaron entre un 57.2% al 98% <sup>(77, 94, 137,142)</sup>. Los estudios con menor sensibilidad evaluaron pacientes en el inicio de la enfermedad o en un momento de la misma en el tiempo <sup>(137,250)</sup>.

Numerosas sugerencias fueron realizadas para mejorar los criterios de clasificación que incluyeron la incorporación de los anticuerpos antinucleares (ANA) y otros

autoanticuerpos <sup>(57,247,434)</sup>. El resultado de ellas fue la actualización de la versión de 1971 con los criterios de 1982 que incorporaron nuevos criterios inmunológicos y agregaron algunas manifestaciones de órganos y sistemas como un simple criterio <sup>(397)</sup>. Como en los criterios iniciales los pacientes debían reunir cuatro criterios o más y la presencia de un criterio no era absolutamente esencial. Los anticuerpos antinucleares (ANA), ds-DNA, y Sm fueron incluidos en 1982. EL fenómeno de Raynaud y la alopecia fueron eliminados y los criterios renales consolidados.

El reconocimiento de la presencia de los anticuerpos antifosfolípidos (AAF) y el síndrome antifosfolípido en el LES, descrito por Hughes, condujo a la actualización de los criterios de LES de 1982 en 1997 (Cuadro 1) <sup>(182)</sup>. Los criterios inmunológicos fueron modificados, eliminando la célula LE y el test de falsa positividad para la sífilis, e incorporando los anticuerpos anticardiolipinas IgG (ACA IgG), IgM (ACA IgM) y el anticoagulante lúpico (AL). Las modificaciones de estos criterios no han sido formalmente validadas.

**CUADRO 1 .CRITERIOS REVISADOS PARA LA CLASIFICACION DE LES ACR  
(1997)**

1. Eritema Malar
2. Lupus Discoide
3. Fotosensibilidad
4. Ulceras Orales
5. Artritis No erosiva
6. Serositis
7. Enfermedad Renal (proteinuria >0,5 grs. o presencia de cilindros)
8. Trastornos neurológicos (Psicosis o convulsiones)
9. Trastornos hematológicos (Anemia hemolítica, leucopenia, linfopenia, trombocitopenia)
10. Trastornos Inmunológicos (Anticuerpos anti ds-DNA, Anti Sm, ACL, AL)
11. Anticuerpos Antinucleares

### **1.3. EPIDEMIOLOGÍA**

El LES es una enfermedad autoinmune multisistémica con manifestaciones variables y con una etiopatogenia no completamente descrita y multifactorial. La mayoría de los estudios epidemiológicos en LES muestran marcadas variaciones en edad, sexo, etnicidad, regionales y temporales, indicando influencia de factores genéticos, hormonales y ambientales.

#### **1.3. A .INCIDENCIA**

El promedio de la incidencia anual del LES en los Estados Unidos ha sido estimada en algunos estudios y varía de 1.8 a 7.6 casos por 100.000 personas por año <sup>(281, 122, 238, 384, 411, 181,273)</sup>. Distintos estudios de Islandia, Suecia, Inglaterra y Japón han encontrado un promedio de incidencia similar <sup>(155, 308, 186, 210,201)</sup>. Recientemente un estudio de la ciudad de Natal en el norte de Brasil ha estimado una incidencia de de 8.7 mientras que en el Noroeste de Grecia fue de de 1.9 <sup>(416)</sup>.

Es interesante destacar las diferencias encontradas en la incidencia en los estudios de Kurland, Michet y Uramoto usando la misma población en los distintos períodos analizados. Esta fue de 1.5 en la cohorte entre 1050 a 1979 y se incrementó de 5.56 de 1980 a 1992 <sup>(281, 238,411)</sup>. Michet et al. explicaron estas diferencias encontradas debidas al cambio en los criterios de clasificación. Sin embargo, este incremento de la incidencia podría ser explicado por varios factores: el reconocimiento de formas leves de la enfermedad, la exposición a hormonas y la mayor exposición a los rayos ultravioletas por los efectos de la capa de ozono <sup>(419)</sup>. Por otro lado otros estudios como el sueco no han encontrado variación de la incidencia en un período de 11 años <sup>(391)</sup>.

#### **1.3. B.PREVALENCIA**

La prevalencia del LES ha sido estimada entre 14.6 y 122 casos por 100.000 personas en Estados Unidos y Hawai <sup>(281, 122,384)</sup>. La mayoría de los estudios han variado por el uso de diferentes metodologías. Los estudios de San Francisco y Rochester usaron información de los pacientes ambulatorios e internados y publicaron criterios para validación de caso. En un reciente meta-análisis basado en el estudio de prevalencia de 16 poblaciones en Estados Unidos y Europa, Jacobson et al. estimó una prevalencia media de 23.8 por 100.000. Aplicando estos datos al Censo de Estados Unidos de 1996 estos autores estimaron que 63.052 personas estaban afectadas con la enfermedad <sup>(207)</sup>.

Otros estudios basados en auto reportes y screening telefónicos diagnosticados por médicos en Estados Unidos sugirieron una prevalencia más alta <sup>(179, 239,429)</sup>. Hochberg et al. reportan una prevalencia de 124 por 100.000 después de validar el diagnóstico por revisión de historia clínica y esto fue confirmado por el estudio de Rochester y el de Ward et al. <sup>(411,429)</sup>.

### **1.3 .C.EPIDEMIOLOGÍA EN DIFERENTES GRUPOS ÉTNICOS**

Algunos estudios realizados en Estados Unidos han mostrado que los pacientes con LES hispanos y los negros americanos tienen una mayor mortalidad y una presentación de la enfermedad a edad más temprana que los blancos caucásicos <sup>(281, 384, 273,82)</sup>. En estos mismos estudios el desarrollo de la enfermedad fue 4 veces mayor en afro-americanos que en blancos caucásicos. Por otra parte, en poblaciones indias la incidencia y prevalencia también ha sido mayor comparada con el resto de la población estadounidense <sup>(325,299)</sup>. En España, el registro nacional EPISER realizado por los reumatólogos mostró una prevalencia total de 91 por 100000 personas, mientras que en otro estudio de población sólo caucásica del norte, ésta fue de 34.1 por 100.000 personas <sup>(112,253)</sup>.

Estudios similares han demostrado que la prevalencia es mayor en grupos orientales que en caucásicos en diferentes países y que los afro-africanos tienen una incidencia y prevalencia menor que los afro americanos <sup>(210, 240, 377,191)</sup>.

De todos estos estudios se desprende que los individuos no caucásicos son más susceptibles de desarrollar lupus que los blancos caucásicos. Sin embargo es importante destacar que los no caucásicos incluidos en estos estudios corresponden a minorías étnicas en un país más que a grupos raciales distintivos y que tienen una gran heterogenicidad genética y biológica, jugando los factores ambientales un rol muy importante en la manifestación de la enfermedad <sup>(241,89)</sup>.

Otros estudios de población realizados en países no caucásicos ofrecen mayor evidencia de las diferencias étnicas en el LES y de que ciertos grupos no caucásicos son más susceptibles de desarrollar esta condición que los blancos caucásicos <sup>(287, 107,243)</sup>.

### **1.4. ETIOPATOGENIA**

Los individuos que desarrollan LES lo hacen en diferentes etapas (Cuadro 2) <sup>(419)</sup>. Existe un largo período de predisposición a la autoinmunidad y luego una pequeña proporción que desarrolla auto anticuerpos que preceden los síntomas clínicos por meses a años <sup>(75)</sup>. Algunos de estos individuos, con auto anticuerpos, desarrollan síntomas



inespecíficos y luego desarrollan síntomas y signos junto con anomalías del laboratorio que claramente conducen al diagnóstico de LES.

Los pacientes con LES cursan con períodos de exacerbación de la enfermedad, de intermitencia, de remisión y por otra parte acumulan daño orgánico y comorbilidades relacionadas a la inflamación crónica, la terapia de la enfermedad y a la edad.

## CUADRO 2. ETAPAS DEL DESARROLLO DE LA ENFERMEDAD

FASE 1	FASE 2	FASE 3	FASE 4	FASE 5
<b>PREDISPOSICION</b>	<b>AUTOINMUNIDAD BENIGNA</b>	<b>PRODROMO</b>	<b>MANIFESTACIÓN CLÍNICA</b>	<b>LES TRATADO INFLAMACIÓN CRÓNICA DAÑO</b>
Susceptibilidad de genes positivos	Auto anticuerpos (ANA)	Auto anticuerpos	Auto anticuerpos	Autoanticuerpos
Genes protectores negativos	Asintomático	Fatiga	Síntomas y signos de LES	Enfermedad activa
Estímulos ambientales		Decaimiento		Efectos del tratamiento
				Secuelas de inflamación y daño orgánico

### 1.4 .A .PREDISPOSICIÓN GENÉTICA

La predisposición genética es probablemente el factor más importante para desarrollar autoinmunidad <sup>(87)</sup>. El riesgo de LES está aumentado de 10 a 20 veces en gemelos monocigotos comparado con dicigotos y de pacientes con LES comparado con población normal. Sin embargo, la concordancia no es del 100%, sugiriendo que factores no genéticos pueden jugar un rol importante en la susceptibilidad de la enfermedad. Con excepción de la deficiencia de C1q, en la que el 90% de los individuos desarrollan LES, no hay un simple polimorfismo o anomalía para LES en todos los individuos <sup>(419,264)</sup>.

En todos los grupos étnicos alrededor del 75% de los pacientes tienen un gen del antígeno leucocitario humano (HLA) que aumenta el riesgo. Los HLA DR2, DR3, DR4 y DR8 son particularmente reconocidos especialmente en poblaciones caucásicas.

Sin embargo cada uno de estos alelos aumenta el riesgo solamente entre 1.7 y 2.5. Este hecho sugiere que otros factores ambientales son requeridos para el desarrollo de la enfermedad.

Genes individuales también han sido asociados al riesgo de LES en algunas cohortes y estos incluyen receptores Fc.γ IIA, III A, y RIIB, los cuales en algunos grupos raciales como los afroamericanos predisponen al desarrollo de nefritis lúpica. Otros grupos también han identificado alelos de interleukina 10 (IL 10), proteína quimiotáctica del monocito 1 ( MCP-1), ligando unido a manosa ( MBL), proteína tirosina fosfatasa no receptor tipo 22 ( PTPN22) y factor 5 de respuesta al interferón ( IRF5) <sup>(121)</sup>. Otros genes también han sido asociados con alto riesgo de daño y enfermedad renal terminal (Fc RIIB) <sup>(419)</sup>.

#### **1.4 .B. INFLUENCIA DEL SEXO: FACTORES HORMONALES.**

La influencia del sexo es de gran importancia en la susceptibilidad individual ya que el LES afecta fundamentalmente a mujeres en una relación mujer /varón de 9/1. La diferencia más importante entre los sexos esta relacionada con factores hormonales ya que esta susceptibilidad es mayor en los años reproductivos de la mujer, pero los resultados de los diferentes estudios han sido ambiguos y conflictivos.

Algunos estudios han encontrado que el estradiol prolonga probablemente la vida de los linfocitos B y T auto reactivos, y por otra parte mujeres expuestas a anticonceptivos orales o regímenes con contenidos estrogénicos tienen un aumento del riesgo de desarrollar LES <sup>(153, 359, 360,86)</sup>. En los pacientes con LES establecido el uso de anticonceptivos orales o terapia de reemplazo hormonal y su influencia sobre la actividad de la enfermedad ha sido estudiada en estudios prospectivos, controlados, randomizados y doble ciego con resultados contradictorios <sup>(52, 326, 361,358)</sup>.

Sin embargo hay otros mecanismos relacionados con la mujer que podrían ser importantes en la predisposición al LES. Algunas mujeres durante el puerperio tienen células Stem de sus fetos circulantes (microquimerismo) que podrían generar una reacción inmune tipo injerto versus huésped <sup>(392)</sup>.

A pesar de estos estudios numerosas preguntas permanecen sin respuesta y la posible alteración endocrina previa a la presentación clínica de la enfermedad es uno de los puntos no resueltos.

#### **1.4. C. INFLUENCIAS AMBIENTALES**

Los factores ambientales, muchos de los cuales son desconocidos, son muy importantes en el desarrollo del LES. Los rayos ultravioletas exacerbaban claramente la enfermedad en la mayoría de los pacientes con LES y en algunos la instalación clínica es precedida por la exposición a la luz solar <sup>(419)</sup>.

Las infecciones han sido descritas como factores inductores y exacerbantes de la enfermedad. Recientes trabajos han relacionado la infección del virus de Epstein Barr (EBV) con el desarrollo de LES. El EBV activa los linfocitos B, los cuales pueden causar en un individuo genéticamente predispuesto la producción de una gran cantidad de autoanticuerpos escapando así de los mecanismos regulatorios. El EBV tiene mimetismo molecular con una secuencia de la partícula Ro, y la inmunización con esta secuencia puede inducir múltiples autoanticuerpos y enfermedad similar al lupus en modelos animales <sup>(154, 320, 271)</sup>.

Numerosos tóxicos en el ambiente han sido estudiados como factores iniciadores o influyentes en el LES tales como sílice, pesticidas, solventes, pero su definitiva asociación no ha sido todavía probada <sup>(81, 83, 352)</sup>.

#### **1.4. D. ANORMALIDADES DEL SISTEMA INMUNE EN LES**

Los dos sistemas de la inmunidad que contribuyen a la generación de auto anticuerpos y de células T reactivas en pacientes con LES son el de la inmunidad innata y adaptativa.

##### **1.4. D. 1. INMUNIDAD INNATA**

Las señales internas y externas que incluyen infecciones y auto antígenos activan principalmente la inmunidad innata a través de las células dendríticas que están localizadas en los diferentes tejidos. Los diferentes patrones moleculares asociados a patógenos (compartidos por bacterias y virus) son reconocidos por los receptores Toll-like de las células dendríticas (TLR). El receptor TLR9 en la célula dendrítica y en el linfocito B puede unirse a secuencias del DNA, que son bastante comunes al DNA bacteriano y que están aumentadas en pacientes con LES <sup>(268, 72, 278)</sup>. Las células dendríticas pueden ser activadas por nucleótidos tanto en la circulación como en los tejidos y el DNA en

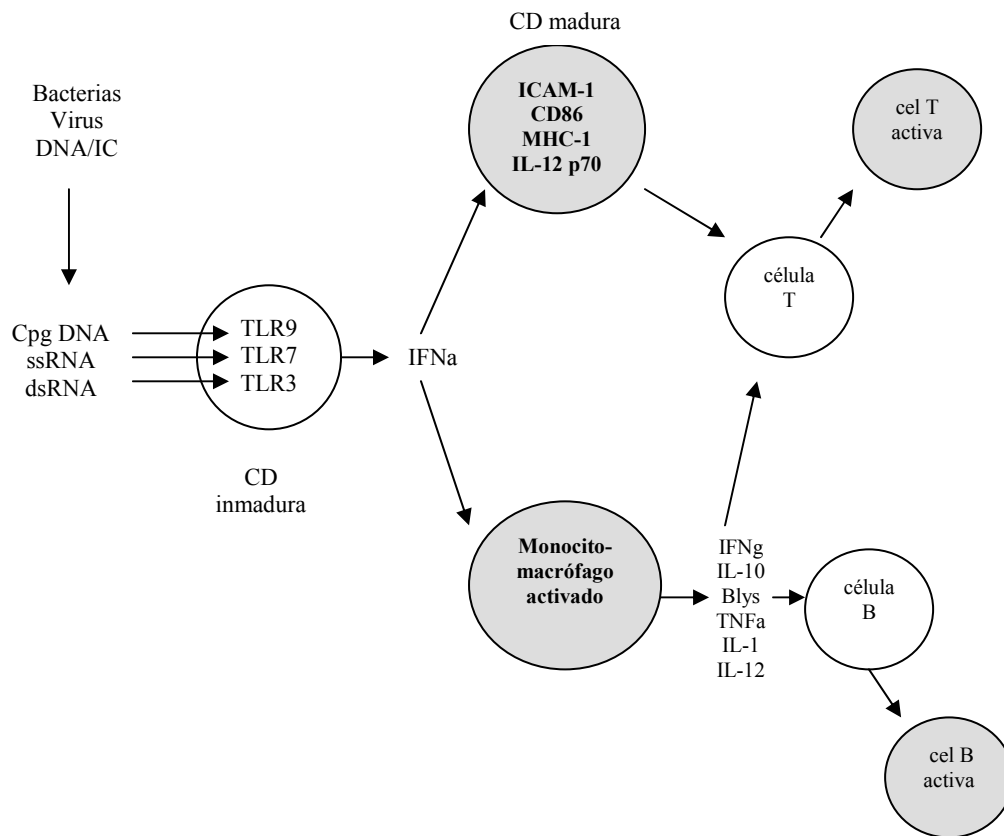
complejos inmunes DNA/anti-DNA que se unen al TLR9 y el anti-DNA unirse a receptores Fc $\gamma$ RIIA en la célula dendrítica activando la inmunidad innata. Otros receptores TLR (TLR 3,7, 8) reconocen DNA viral simple cadena o DNA doble cadena, y los complejos RNA/proteínas característicos del LES también pueden unirse a TLR7<sup>(419,366)</sup>. La unión de alguno de estos receptores en la célula dendrítica plasmocitaria, produce un aumento del interferón  $\alpha$  (IFN $\alpha$ ) y otras citoquinas que promueven la maduración de la célula dendrítica a monocitos/macrófagos. Ambos tipos celulares expresan péptido en el complejo de histocompatibilidad mayor (MHC) transformándose en células presentadoras de antígenos para la activación de las células T. Por otro lado, los macrófagos activados aumentan múltiples citoquinas que promueven la maduración y activación de las células T y de las células B con un aumento de la producción de inmunoglobulina. En este momento las células B y T activadas, algunas de las cuales son autoreactivas, se encuentran preparadas para las respuestas inmunes adaptativas (Figura 1)<sup>(419)</sup>.

Los pacientes con LES presentan mayor cantidad de secuencias de DNA, complejos inmunes DNA/anti-DNA y en la presencia de ciertos polimorfismos de TLR y Fc $\gamma$ R pueden predisponer a respuestas innatas anormales. Además, las respuestas inmunes innatas están aumentadas en pacientes con LES, promoviendo el proceso de presentación antigénica y el estado de activación de los linfocitos B y T, conduciendo a una respuesta de la inmunidad innata contra el propio organismo.

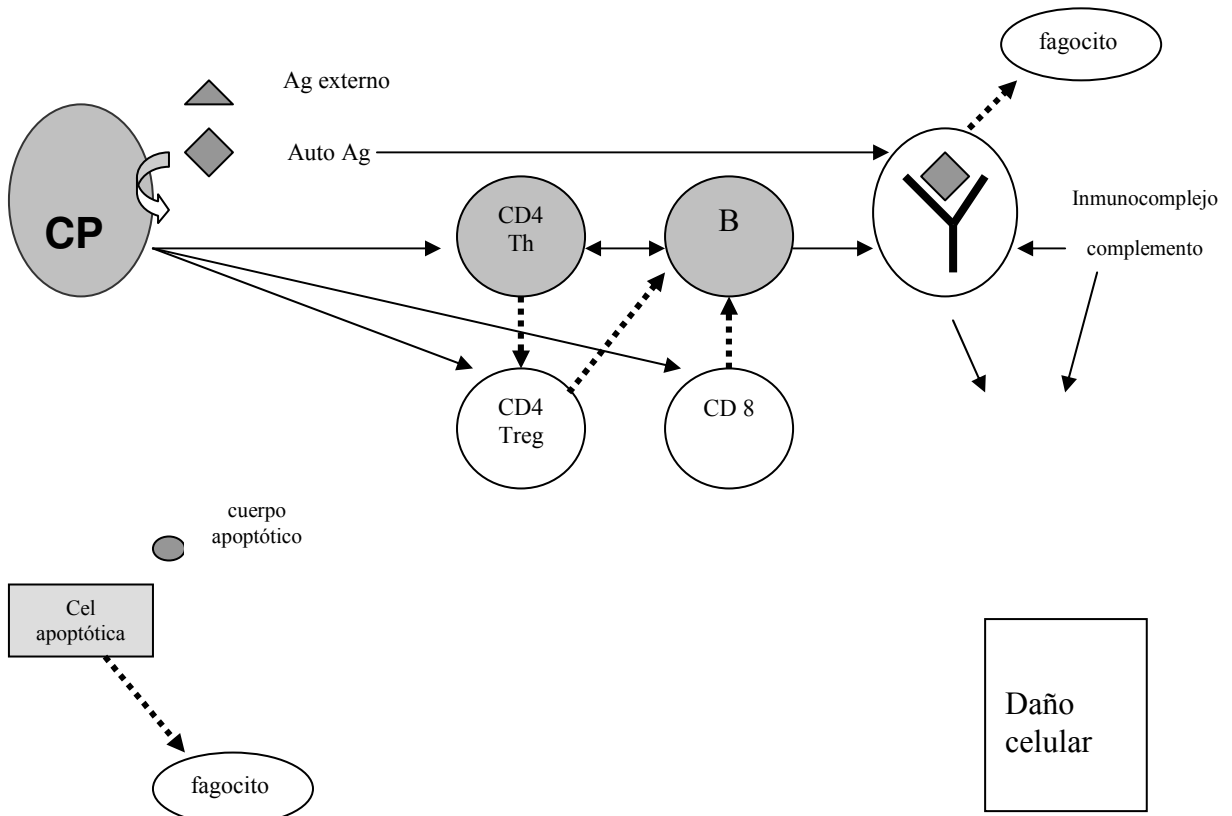
#### **1.4. D. 2. INMUNIDAD ADAPTATIVA**

Los antígenos encuentran las células presentadoras de antígenos (CPA) activadas, las cuales las internalizan y las procesan a péptido que luego son presentados al MHC. Los linfocitos B y los monocitos /macrófagos son las CPA en la inmunidad adaptativa, mientras que las células dendríticas son las CPA de la inmunidad innata. Los linfocitos T con el receptor TCR específico reciben las primeras señales de activación del complejo péptido/MHC, y posteriormente las segundas señales de moléculas como el CD86, que son expresadas en la CPA. Las células T helper son activadas para la secreción de citoquinas (IFN $\gamma$ , IL6, IL10), que ayudan a los linfocitos B a la producción de autoanticuerpos (Figura 2)<sup>(419)</sup>. Algunos anticuerpos se fijan directamente a los órganos diana como la  $\alpha$ -actinina en los glomérulos<sup>(445)</sup>, y otros autoanticuerpos forman complejos inmunes que se unen a los tejidos. La citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos y la activación del

**FIGURA 1. RESPUESTA DE LA INMUNIDAD INNATA**



**FIGURA 2. INMUNIDAD ADAPTATIVA EN EL LES**



complemento producen inflamación que conduce a la enfermedad clínica y al daño tisular. No sólo el proceso de producción de autoanticuerpos está activo en el LES, sino que también están alterados los procesos de regulación. La falla en los procesos regulatorios incluye: una disminución en la fagocitosis de las células apoptóticas y de los complejos inmunes, defectos en la generación de células T CD4CD25 regulatorias y de células T CD8 (155,301).

Los niveles de Transforming growth factor  $\beta$  (TGF  $\beta$ ) y de IL-2 están reducidos anormalmente en pacientes con LES, los cuales son necesarios para la generación de células regulatorias CD4CD25 y de algunas células inhibitorias CD8<sup>(190)</sup>. En el LES, las células T CD8 no pueden suprimir la proliferación de las células T CD4 y la producción de autoanticuerpos de manera normal, especialmente cuando la enfermedad se encuentra activa<sup>(125)</sup>.

## **1.5. AUTOANTICUERPOS**

La presencia de una amplia variedad de autoanticuerpos es una de las características de esta enfermedad. Estos autoanticuerpos están dirigidos fundamentalmente a ds-DNA, antígenos nucleares, ribonucleoproteínas (RNPs) y antígenos celulares. Algunos son considerados marcadores de la enfermedad (ds-DNA, Sm) y otros juegan un papel en la patogénesis de la enfermedad y causan daño tisular (anti-DNA, anti-Ro, AAF)<sup>(401, 244, 396, 393,380)</sup>.

Estos autoanticuerpos pueden ser detectados y medidos por diferentes métodos y ensayos de laboratorio. Las diferencias en los métodos utilizados pueden influenciar la interpretación de los resultados así como la diferencia en la prevalencia de los mismos en diferentes estudios. La utilización de los mismos permite confirmar el diagnóstico, reflejar la actividad de la enfermedad, correlacionar con algunas manifestaciones clínicas y daño orgánico y predecir recaídas.

### **1.5. A. ANTICUERPOS ANTINUCLEARES**

Los ANA son un grupo diverso de autoanticuerpos dirigidos contra antígenos nucleares y citoplasmáticos. Estos antígenos están presentes en todas las células nucleadas y tienen un rol en la transcripción y traslación del ciclo celular y de las proteínas estructurales<sup>(108)</sup>.

Como ya mencionamos anteriormente la detección de la célula LE fue la primera anomalía serológica en el LES<sup>(159,167)</sup> y ésta fue posteriormente reemplazada por la

detección de los ANA. La presencia de ANA puede ser un indicador serológico de enfermedad autoinmune, pero su presencia no es específica para LES.

Los ANA pueden ser detectados por métodos de inmunofluorescencia (IF) en diferentes sustratos como riñón de ratón o hígado de rata <sup>(183,184)</sup>. En estos últimos años, líneas celulares humanas, especialmente células epiteliales derivadas del carcinoma laríngeo humano (HEp-2) han sido utilizadas <sup>(409,295)</sup>. Esta técnica permite una visualización fácil de grandes núcleos y nucleolos, y la expresión de antígenos presentes en ciertos estadios del ciclo celular lo cual permite el reconocimiento de una amplia variedad de patrones en la IF. Actualmente esta técnica de IF en HEp-2 es el método de elección para ANA <sup>(379,389,111)</sup>.

Numerosos patrones de IF en HEp-2 han sido reconocidos, pero no todos ellos están presentes en el LES. Cuando un patrón de ANA es homogéneo nuclear o moteado, este necesita ser caracterizado por los antígenos individuales específicos (Ro, La, Sm, RNP, ds-DNA) para obtener una información clínicamente útil. El patrón homogéneo nucleolar es producido típicamente por los anticuerpos anti-histona, mientras que los anticuerpos anti-RNP, anti-Sm, anti-Ro y anti-La pueden producir un patrón nuclear moteado. Los anticuerpos anti-dsDNA pueden dar un patrón periférico y los anticuerpos antiribosomal P un patrón citoplasmático.

La medición de los ANA es la primera prueba de laboratorio a solicitar ante una sospecha clínica de LES. Sin embargo, los ANA pueden estar presentes en individuos sanos y en otras condiciones como edad avanzada, terapia con drogas, infección crónica, enfermedad hepática crónica y otras enfermedades reumáticas auto inmune <sup>(381,355,113)</sup>.

En algunos casos la presencia de ANA pueden preceder el diagnóstico de LES. Arbuckle et al. evaluaron suero de 130 sujetos del personal de las fuerzas americanas antes del diagnóstico de LES, y en 115 de los 130 presentaban al menos un autoanticuerpo positivo para LES 9,4 años antes del diagnóstico. La presencia del ANA fue de 78% en este estudio <sup>(16)</sup>.

Un resultado de ANA negativo es muy raro en el LES desde la utilización del uso de HEp-2. A pesar de ello, un 2% de los pacientes con LES pueden tener ANA negativo. No hay datos que hayan sugerido la correlación de ANA con la actividad de la enfermedad, y el estudio seriado en el tiempo en un paciente con ANA previamente positivo no es de valor <sup>(389,11)</sup>.

## 1.5. B. ANTICUERPOS DS-DNA

Los anticuerpos anti-ds-DNA son considerados útiles y de valor en el diagnóstico de LES y son parte de los criterios de clasificación del ACR <sup>(397,182)</sup>. Alrededor de un 60 a 80% de los pacientes con LES tienen anti-ds-DNA medidos por diferentes técnicas a lo largo de su enfermedad.

Actualmente existe evidencia que estos anticuerpos ejercen un papel patogénico en el LES y esta incluye: daño tisular en sitios donde el anti-ds DNA esta localizado en animales y en humanos, grandes cantidades de Ig G de alta afinidad para anti-ds-DNA en el suero están asociados con nefritis lúpica (NL) activa en humanos y en animales, la administración de DNA como inmunógeno acelera la presentación de NL en animales, y la administración de DNA como inductor de tolerancia que retrasa la aparición de anti-DNA y nefritis en animales con lupus <sup>(419,418,265,100)</sup>.

Los anticuerpos anti-ds-DNA pueden ser detectados por diferentes técnicas y no hay un método universal usado en todos los laboratorios <sup>(222, 400, 138, 387,347)</sup>. Algunas de estas técnicas detectan subtipos de anti-ds-DNA de alta afinidad como precipitación, fijación de complemento y Farr. Estas tienen una baja sensibilidad y una fuerte asociación con NL y actividad de la enfermedad. Otras técnicas como ELISA, *Crithidia lucilae* y radioinmunoensayo con precipitación de inmunocomplejos con polietinol glicol detectan anti-ds DNA de baja y alta afinidad. Estos tests son más sensibles y se encuentran en el 70 al 85% de pacientes con LES, pero se correlacionan menos con la actividad de la enfermedad y ciertos hallazgos clínicos. Recientemente un estudio evaluó la correlación entre los métodos de ELISA y Farr, encontrando una pobre correlación entre los mismos y una mejor correlación del Farr con la actividad de la enfermedad, el compromiso renal y de vasculitis. Estos autores sugieren que el Farr debería usarse en la práctica clínica <sup>(306)</sup>.

Por otra parte estos anticuerpos también han sido asociados a exacerbaciones de la enfermedad, y a predecir compromiso de órganos y daño acumulado. Algunos autores sugieren que el incremento de los niveles de anti-ds-DNA se correlaciona con el desarrollo de un brote de la enfermedad, mientras otros consideran que esta correlación es muy leve <sup>(406, 44, 251, 115,328)</sup>. Sin embargo, una disminución de anti-ds-DNA ha sido encontrada en pacientes con reactivación de la enfermedad, sugiriendo la hipótesis de depósito de anticuerpos en los tejidos durante la misma <sup>(177)</sup>.

Otros autores han estudiado el papel de los anti-ds-DNA como predictores de daño con resultados contradictorios <sup>(441, 336,446)</sup>.



## **1.5 .C. ANTICUERPOS ANTI ANTÌGENOS EXTRAÍBLES DEL NÚCLEO (ENA)**

### **5 .C.1. ANTICUERPOS ANTI-SM Y ANTI-RNP**

Los autoanticuerpos anti-Sm están dirigidos fundamentalmente contra las proteínas Sm B, B`y Sm D1 e inmunoprecipitan el RNA U1, U2 U4/U6 y U5 <sup>(367, 350,175)</sup>. Los autoanticuerpos anti-RNP inmunoprecipitan el RNA U1 y se unen a las proteínas nRNP 70K, nRNP A y nRNP C <sup>(160)</sup>. La mayoría de los pacientes con LES que tienen la presencia de anticuerpos anti-Sm suelen tener también anticuerpos anti-RNP.

Los métodos para la detección de los anticuerpos anti-Sm y anti-RNP incluyen: la inmunodifusión, el radioinmunoensayo, la contrainmunolectroforesis (CIE), la hemaglutinación y ELISA. Las variaciones en el método utilizado puede afectar la sensibilidad, la especificidad y los valores predictivos de los resultados dados por los diferentes laboratorios que los hacen no comparables <sup>(35)</sup>.

Los anticuerpos anti-Sm son muy específicos y son considerados uno de los criterios de clasificación del LES <sup>(182)</sup>. A diferencia de los anticuerpos anti-Sm, los anticuerpos anti-RNP no son específicos para LES y están asociados con al enfermedad mixta del tejido conectivo. Estos también pueden estar presentes en otras condiciones como la esclerodermia, polimiositis, Síndrome de Sjogren y fenómeno de Raynaud <sup>(35)</sup>.

Los pacientes con anticuerpos anti-Sm y anti-RNP positivos parecen ser un subtipo distintivo de pacientes con LES, que se presentan con más frecuencia en pacientes afro americanos y afro caribeños que en pacientes caucásicos, y están asociados con mayor morbilidad, mortalidad y enfermedad renal más severa <sup>(270, 407, 302,10)</sup>.

Aunque la determinación de estos anticuerpos es útil en el diagnóstico y clasificación, el monitoreo de sus niveles es de valor limitado en el tiempo. Por otro lado determinaciones periódicas han mostrado escasa variación en el seguimiento en la mayoría de los pacientes <sup>(346,282)</sup>.

La asociación de estos anticuerpos con daño de la enfermedad no ha sido demostrada <sup>(441,336)</sup>.

### **1.5. C. 2. ANTICUERPOS ANTI-RO (SS-A) Y ANTILLA (SS-B)**

El sistema Ro/La es considerado un complejo antigénico heterogéneo constituido por 3 proteínas diferentes (52-kDa Ro, 60-kDa Ro y 48-kDa La) y 4 partículas RNA pequeñas. Estos anticuerpos se encuentran presentes en el LES y en el Síndrome de Sjogren. Ninguno de ellos es específico para LES, pero ambos son útiles cuando se sospecha LES, especialmente en ausencia de anti-ds-DNA <sup>(108,237)</sup>.

Los métodos tradicionales de medición de los anticuerpos anti-Ro y anti-La han sido la inmunodifusión y la CIE. Actualmente las técnicas de ELISA e inmunoblotting están disponibles aportando más sensibilidad, pero con una marcada menor especificidad. A pesar de ellas, la CIE es todavía considerada la técnica más precisa para detectar anticuerpos anti-Ro en la práctica clínica. Nuevas técnicas de ELISA son capaces de discriminar los anti 52-kDa y 60-kDa individualmente, pero su utilidad clínica aún no es clara <sup>(133)</sup>.

Los anticuerpos anti-Ro y anti-La están asociados con síndrome de lupus neonatal y el lupus cutáneo subagudo y los anti-60kDa Ro están en estrecha asociación las manifestaciones clínicas de leucopenia, trombocitopenia, neumonía intersticial, y vasculitis<sup>(208,169,3)</sup>. Sin embargo, la presencia de estos anticuerpos en la NL es controvertida <sup>(33, 163, 430,11)</sup>.

El lupus neonatal demuestra la evidencia clínica del rol patogénico del anticuerpo anti-Ro (SS-A) en esta condición y que depende de la presencia de este en el suero materno. Las manifestaciones más comunes son cutáneas, bloqueo cardíaco congénito, colestasis y citopenias.

Los anticuerpos anti-La se encuentran en un 40% de los pacientes con Síndrome de Sjogren así como en otras condiciones como la artritis reumatoide y la polimiositis y ellos se suelen encontrar en asociación con los anti-Ro. Al igual que los anti-Sm y anti-RNP, la medición periódica de anti-Ro y anti-La tienen un valor limitado <sup>(379,346)</sup>.

#### **1.5 .D. ANTICUERPOS ANTICROMATINA (ANTINUCLEOSOMAS)**

La cromatina, que es un complejo nativo de histonas y DNA encontradas en los núcleos celulares de los eucariotes, esta compuesta de 40% de DNA, 40% de histonas y 20% de proteínas no histonas, RNA y otras macromoléculas. La subunidad fundamental de la cromatina es el nucleosoma, la cual esta compuesta por una partícula en la cual el DNA helicoidal 146bp es envuelto alrededor de un octámero con 2 dímeros H2A-H2B que rodean un tetrámero H3-H4.

Los anticuerpos anticromatina fueron uno de los primeros autoanticuerpos detectados y se encuentran aproximadamente en un 75% de pacientes con LES y en un 100% de pacientes con LES inducido por drogas <sup>(148)</sup>. Numerosas técnicas han sido descritas para su detección y ellas incluyen inmunoprecipitación, aglutinación y ELISA <sup>(51)</sup>.

La presencia de los anticuerpos anticromatina son sensibles y específicos para el LES y LES inducido por drogas, y se relaciona con el compromiso renal y en menor

proporción con manifestaciones hematológicas, artritis, rash malar, pleuritis y úlceras orales <sup>(67, 66, 141,149)</sup>.

### **1.5. E. ANTICUERPOS ANTIRIBOSOMAL P**

Los ribosomas son estructuras complejas que comprometen más de 80 proteínas diferentes y 5 especies de RNA. Los anticuerpos contra las proteínas ribosomales P están dirigidas a 3 grandes subunidades de proteínas fosfo-ribosomales, conocidas como P0(38kD), P1 (19kD), y P2(17kD), los cuales comparten un determinante lineal común en la secuencia aminoácido del carboxilo terminal 22 <sup>(110)</sup>.

Los métodos usados para su medición son el inmunoblotting y el ELISA. La frecuencia de anticuerpos antiribosomal P en el LES varía de un 6 a un 46% <sup>(403, 18, 404,106)</sup>. Diferencias étnicas pueden existir ya que éstos han sido encontrados de 6 al 20% en poblaciones blancas, negras e hispánicas, y de 36 al 38% en chinos-americanos y chinos de Malasia con LES <sup>(403,404)</sup>.

Estos auto anticuerpos han sido sugeridos como marcadores específicos de manifestaciones neuropsiquiátricas del LES, especialmente psicosis y depresión, aunque los estudios disponibles son controvertidos <sup>(106, 43, 368,217)</sup>.

Por otra parte un reciente estudio brasilero evaluó la relevancia de estos anticuerpos en discriminar patrones histopatológicos de NL, encontrando estos anticuerpos como marcadores serológicos de nefropatía membranosa, resultados que no fueron confirmados por otro estudio <sup>(102,39)</sup>.

### **1.5. F. ANTICUERPOS ANTI-C1Q**

C1q es el primer componente de la vía clásica de la activación del complemento y su principal función es la de remover complejos inmunes de los tejidos y autoantígenos generados durante la apoptosis <sup>(421,422)</sup>. Los anticuerpos anti-C1q han sido encontrados en un 30 a 50% de pacientes con LES y en un 50 a 100% de pacientes con NL <sup>(46,422)</sup>.

Algunos estudios han mostrado una estrecha correlación entre los anti-C1q y la NL y serían útiles para identificar pacientes con LES con riesgo de enfermedad renal y predecir brotes renales <sup>(422, 46, 156, 189, 269,351)</sup>.

### **1.6. MANIFESTACIONES CLÍNICAS**

Las manifestaciones clínicas de la enfermedad son proteiformes lo que suele hacer difícil el diagnóstico. Inicialmente cualquier órgano o sistema puede estar afectado. En diferentes estudios, las dos áreas más comprometidas al inicio de la enfermedad son el sistema articular y el cutáneo, seguidos por síntomas generales como fiebre, fatiga y malestar general. Ropes et al. encontraron que las articulaciones fueron el primer sistema

comprometido en el 27% de 142 pacientes, seguidos por fiebre, pérdida de peso y malestar general en un 25%, y rash cutáneo en un 20%. Grigor et al. siguieron 50 pacientes con LES y también encontraron que la artritis o la artralgia fue la primera manifestación en el 62% de los pacientes, seguidas en un 20% por el compromiso cutáneo, un 4% de trombocitopenia, fiebre, pérdida de peso, anemia hemolítica, síntomas neuropsiquiátricos, y el 2% con flebitis recurrente. En el estudio LUMINA en una cohorte de 471 pacientes, los primeros criterios del ACR en cumplirse fueron la artritis en el 34.5%, fotosensibilidad en el 18.2% y la positividad de los ANA en un 14.2%<sup>(8, 152,351)</sup>.

La evolución del LES se define por su carácter “en brotes”, con períodos de intensa actividad y otros con actividad leve y remisión. Algunos pacientes pueden presentar un curso rápidamente progresivo.

#### **1.6. A. SINTOMAS GENERALES**

Los síntomas generales de la enfermedad, tales como fiebre, anorexia, pérdida de peso y astenia derivan tanto de su base inflamatoria, como de las complicaciones secundarias a la afectación específica de los diferentes órganos.

La fiebre es una de las manifestaciones más frecuentes, y alrededor del 80 al 97% la desarrollan en algún momento de la enfermedad. Suele ser moderada, aunque, en ocasiones, puede ser elevada y cursar con escalofríos. En estos casos, debe descartarse siempre la infección intercurrente<sup>(365,390)</sup>. Las molestias inespecíficas como malestar general, astenia y anorexia, son también frecuentes, incluso en los pacientes inactivos o antes que se desarrollen las manifestaciones más características del LES.

#### **1.6. B. MANIFESTACIONES MUCOCUTÁNEAS**

El LES se expresa frecuentemente en la piel, en forma de lesiones cutáneas específicas, es decir con un aspecto clínico, histopatológico e inmunopatológico característico. Las posibles lesiones mucocutáneas son múltiples. El rash malar o en alas de mariposa es una de las lesiones más características, ha sido reportada en 20 a 60% de grandes cohortes. Su aparición suele estar favorecida por la exposición solar (Fotosensibilidad) y suele curar sin dejar cicatriz o una ligera pigmentación residual<sup>(63,129)</sup>.

El lupus eritematoso cutáneo subagudo (LECS) compromete del 9 al 27% de los pacientes con LES y afecta fundamentalmente a mujeres blancas de todas las edades. En la mayoría de los pacientes se ha desarrollado después de la exposición a la luz ultravioleta o a la ingesta de drogas fotosensibilizantes. El LECS consiste en lesiones cutáneas papuloescamosas o anulares no cicatrizales que tiene una histopatología específica y que

ocurren en una distribución en áreas fotosensibles. Alrededor de un 85% de los pacientes refieren fotosensibilidad <sup>(419,129)</sup>.

El lupus discoide (LD) es la forma más común de lupus cutáneo crónico. Las lesiones comienzan como máculas o pápulas elevadas, placas eritematosas que se extienden a folículos pilosos dilatados. Estas lesiones se pueden expandir lentamente con inflamación activa e hiperpigmentación dejando una cicatriz central, telangiectasia y despigmentación. La alopecia es un fenómeno frecuente y suele ser difusa. En un 5% de los casos, pueden aparecer lesiones idénticas a las del LD, que provocan atrofia de la piel y dejan cicatriz <sup>(419,129)</sup>.

Otras lesiones que pueden aparecer en el curso de la enfermedad son nódulos subcutáneos (paniculitis lúpica), vasculitis cutánea (leucocitoclástica), petequias, úlceras, livedo reticularis, aftas mucosas, Fenómeno de Raynaud, etc.

### **1.6. C. MANIFESTACIONES NEUROPSIQUIÁTRICAS**

La incidencia de manifestaciones neuropsiquiátricas varía significativamente entre las diferentes series entre un 25 a un 75% debido a la gran diversidad de las mismas, y a la falta de estandarización en las definiciones. En el año 1999 un comité multidisciplinario desarrolló definiciones de caso, incluyendo criterios diagnósticos e importantes exclusiones para 10 síndromes de lupus neuropsiquiátricos (LNPS) (Cuadro 3) <sup>(2)</sup>.

Las manifestaciones de LNPS pueden comprometer al sistema nervioso central, al periférico y autonómico, y la unión mioneural. Un paciente con LES puede presentarse con síntomas difusos, focales o una combinación de los mismos. Las principales manifestaciones son síntomas de disfunción global, mientras los síntomas focales pueden ser atribuidos a un área cerebral específica. Los síntomas y signos pueden ser desde leves y transitorios hasta una disfunción severa que puede resultar en una secuela neurológica permanente y hasta la muerte. La diversidad y la severidad de las manifestaciones dependen de diferentes mecanismos fisiopatogénicos que pueden afectar anatómicamente y fisiológicamente el complejo sistema nervioso. El clínico debe siempre estar alerta que las anomalías neurológicas en LES pueden no ser debidas a LNPS y ser secundarias a infección, anomalías hidroelectrolíticas y otras causas <sup>(419,24)</sup>.

### CUADRO 3. SINDROMES NEUROPSIQUIATRICOS DE LES (ACR, 1999)

Sistema Nervioso Central	Sistema Nervioso Periférico
Síndrome Confusional Agudo	Neuropatía craneales
Disfunción cognitiva	Polineuropatía
Psicosis	Plexopatía
Trastornos del sueño	Mononeuropatía múltiple
Trastornos de ansiedad	S Guillan Barre
Cefalea	Desorden autonómico
Enfermedad Cerebro vascular	Miastenia gravis
Mielopatía	
Desorden movimiento	
Síndrome desmielinizante	
Convulsiones	
Meningitis Aséptica	

#### 1.6. D. MANIFESTACIONES CARDIOVASCULARES

Los primeros estudios de autopsia en los enfermos con LES evidenciaron una afección cardíaca en el 80% de los casos. Los AAF y su relación con éstas manifestaciones del LES han revolucionado, en la última década, la concepción de la afección cardíaca en esta enfermedad <sup>(248, 249,419)</sup>.

Cualquiera de las estructuras pueden afectarse, pero la lesión más frecuente es la pericarditis, que suele ser de intensidad leve a moderada. El taponamiento cardíaco es excepcional. La endocarditis aséptica (de Libman-Sacks) y las alteraciones funcionales valvulares son relativamente frecuentes en los estudios ecocardiográficos, pero suelen ser asintomáticas. También puede aparecer cardiopatía coronaria, miocarditis, hipertensión arterial y trombosis venosa.

En la actualidad existe fuerte evidencia de que los pacientes con LES tienen riesgo de aterosclerosis acelerada. Las razones son multifactoriales e incluyen la larga duración de la enfermedad y el uso de esteroides. Urowitz et al. <sup>(412)</sup> describieron una distribución bimodal de la mortalidad en estos pacientes: un incremento temprano en la mortalidad

debido a infecciones y enfermedad severa, y un incremento tardío debido a infarto de miocardio por aterosclerosis acelerada. Los clásicos factores de riesgo para enfermedad cardiovascular en la población general son válidos en pacientes con LES e incluyen: hiperlipidemia, diabetes mellitus, tabaco, obesidad, hipertensión arterial y sedentarismo, y un poderoso factor de riesgo en el LES es la enfermedad renal que afecta a más del 50% de pacientes.

Además hay evidencia de que la inflamación sostenida así como los AAF tienen un importante rol en la generación de la placa aterosclerótica <sup>(419,267)</sup>.

#### **1.6. E. MANIFESTACIONES PULMONARES**

La manifestación pulmonar más frecuente es el compromiso pleural. La afección parenquimatosa es menos frecuente y suele presentarse en forma de neumonitis intersticial difusa. En ocasiones, se observa una progresiva elevación diafragmática, con atelectasias laminares, que conduce a la aparición radiológica de la imagen del pulmón pequeño <sup>(419)</sup>. Pueden observarse también casos de hemorragia alveolar, complicación poco frecuente pero de elevada mortalidad.

#### **1.6. F. MANIFESTACIONES DIGESTIVAS**

Las manifestaciones gastrointestinales del LES son las menos conocidas, debido principalmente a su baja frecuencia, aunque no por ello despreciables. La presencia de úlceras orales es una manifestación común y constituye uno de los criterios diagnósticos de esta enfermedad. Los síntomas gastrointestinales incluyen náuseas, vómitos, disfagia y dolor abdominal por peritonitis aséptica. La lesión hepática es excepcional. Se han descrito casos de hepatitis crónica activa y cirrosis biliar primaria, y pancreatitis como consecuencia de fenómenos vasculíticos.

Las complicaciones digestivas más importantes y, potencialmente, más graves ocurren a nivel del intestino delgado y grueso. La vasculitis intestinal es la manifestación más frecuente <sup>(419)</sup>.

#### **1.6. G. MANIFESTACIONES HEMATOLÓGICAS Y LINFÁTICAS**

Las manifestaciones hematológicas incluyen: anemia hemolítica, leucopenia, linfopenia, y trombocitopenia.

La anemia puede ser debida a múltiples mecanismos: inflamación, insuficiencia renal, pérdidas sanguíneas y hemólisis. Las manifestaciones como la anemia hemolítica y la trombocitopenia son frecuentes y pueden preceder al resto de las manifestaciones del LES.

## 1.7. NEFRITIS LÚPICA (NL)

El compromiso renal es reconocido como una de las complicaciones más serias en el LES, que ocurre a menudo dentro de los primeros cinco años de la enfermedad y es uno de los factores predictores de morbilidad y mortalidad. El pronóstico de pacientes con LES ha mejorado significativamente en las últimas décadas <sup>(391, 64,288)</sup>. La supervivencia de pacientes con NL también se ha incrementado a más del 80% a los 5 años en la década del 90 comparado con el 50% previo reportado en los años 60 <sup>(56)</sup>. La mejoría es particularmente marcada en los tipos proliferativos de glomerulonefritis y puede ser atribuido al reconocimiento y diagnóstico temprano así como al uso de terapias como los agentes citotóxicos y un mayor acceso a la diálisis y al trasplante <sup>(123)</sup>. A pesar de estos resultados, la insuficiencia renal crónica y la mortalidad continúan siendo significativos. En 1997 la NL continuaba siendo el primer diagnóstico en el 2% de pacientes con insuficiencia renal crónica en diálisis y un 5 % de pacientes que recibieron trasplante, así como un 20% de mortalidad relacionada a la enfermedad y sus complicaciones <sup>(428)</sup>.

### 1.7. A. DEFINICIÓN, EPIDEMIOLOGÍA Y PREVALENCIA

La NL activa puede ser definida clínica e histológicamente. La evaluación clínica de un paciente con NL incluye la realización de sedimento urinario en fresco, la cuantificación de proteínas, la excreción de creatinina, la determinación de creatinina sérica, y estudios serológicos que incluye los anticuerpos anti-ds-DNA y los componentes del complemento C3 y C4. El sedimento de orina es útil para caracterizar la actividad de la enfermedad así como la presencia de hematuria glomerular, leucocituria, o cilindros que se encuentran en períodos de actividad de la enfermedad. Es interesante destacar que en una de las series con 520 casos de lupus sólo el 7.5 % de los pacientes tenía la presencia de cilindros hemáticos, sugiriendo que otras alteraciones del sedimento pueden estar presentes <sup>(332)</sup>.

La hipoalbuminemia y la hipercolesterolemia también pueden acompañar a la enfermedad renal activa.

La enfermedad renal activa es también definida por el estudio inmunohistopatológico. La biopsia renal debe ser obtenida y evaluada por microscopía óptica e inmunofluorescencia. Numerosos trabajos han encontrado asociación entre las manifestaciones clínicas y la clase histopatológica de NL <sup>(15,104)</sup>. A pesar de ello hay un grupo de pacientes que tienen NL silente, es decir, que no presentan alteraciones en el



sedimento de orina, ni proteinuria y tienen niveles de creatinina normal pero en la biopsia renal tienen algún grado de compromiso mesangial o proliferativo <sup>(36,130)</sup>.

La prevalencia de NF ha variado del 31 al 65% en estudios de grandes cohortes <sup>(332, 439,178)</sup>. Factores inmunológicos, demográficos y genéticos han sido asociados al desarrollo de NL. La presencia de anticuerpos anti-ds-DNA se encuentran en un alto porcentaje de los pacientes con enfermedad renal, y sus títulos pueden aumentar, así como sus fluctuaciones pueden reflejar la actividad global de la enfermedad <sup>(58, 418, 90, 231, 204, 109,395)</sup>. Otras reacciones antígeno-anticuerpo como anti-Ro, Sm, RNP también pueden contribuir en la patogénesis de la NL; aunque su asociación definitiva no ha sido establecida <sup>(270, 10, 163, 430, 339, 212,185)</sup>. Por otra parte, es importante destacar, que las diferencias étnicas pueden influenciar la expresión clínica de la enfermedad y de los diferentes perfiles de autoanticuerpos.

La incidencia y la prevalencia de la NL difieren entre distintos grupos étnicos. A pesar de los numerosos trabajos de investigación realizados en este aspecto, las diferencias raciales en la expresión del LES permanecen poco comprendidas. Los pacientes Afro-americanos tienen un incremento 3 veces superior de la incidencia de LES y desarrollan nefritis con más frecuencia y en forma más temprana que los caucásicos. También, este grupo de pacientes suele tener mayor expresión de anti-Sm y RNP <sup>(438,17,105,213)</sup>. En un estudio de pacientes con LES en el sudeste de los Estados Unidos, el 31% de los pacientes afro-americanos contra el 13% de los caucásicos cumplieron criterios renales ACR al diagnóstico a los 18 meses <sup>(82)</sup>. Por otra parte, los pacientes hispanos y asiáticos también desarrollan NL y progresan a enfermedad renal terminal (ERT) con más frecuencia que los caucásicos <sup>(80, 329, 427,344)</sup>. A pesar de ello, una buena respuesta al tratamiento citotóxico de la NL ha sido observada en la población asiática <sup>(199, 286,68)</sup>.

### **1.7. B. PRESENTACIÓN CLÍNICA Y LABORATORIO.**

La NL se puede presentar con cualquier síndrome renal y puede afectar todos los componentes anatómicos del riñón.

Klippel <sup>(229)</sup> ha descrito 5 tipos clínicos de nefritis lúpica: 1) oculta (silente), 2) nefritis activa crónica, 3) rápidamente progresiva (curso fulminante), 4) síndrome nefrótico y 5) Insuficiencia renal progresiva en pacientes con sedimentos de orina normales. La glomeruloesclerosis, la hipertensión arterial y las drogas probablemente causen la insuficiencia renal en el último grupo.

Los pacientes con NL activa crónica y silente suelen ser asintomáticos, reflejando la extraordinaria diversidad clínica en la expresión de la enfermedad.

La NL mesangial se acompaña a menudo de parámetros diagnósticos normales o una proteinuria de bajo rango, pero con ausencia de hipertensión arterial (HTA) o sedimento urinario alterado. En cambio, la NL proliferativa difusa o focal se presentan acompañadas de síndrome nefrótico, HTA significativa, y sedimento urinario alterado que suelen estar asociados a peor pronóstico.

La NL membranosa se presenta con proteinuria de moderado a alto rango, sin hematuria o cilindros y con ausencia de HTA. La mayoría de estos pacientes tienen una función renal preservada. Sin embargo un tercio de estos pacientes, especialmente aquellos con proteinuria en rango nefrótico persistente, pueden deteriorar la función renal y llegar a ERT.

La presentación con deterioro de la función renal se observó en el 18.4% de 196 pacientes admitidos con LES seguidos por Yeung et al. <sup>(442)</sup>. En esta serie, la infección y la enfermedad del sistema nervioso central fueron factores precipitantes frecuentes, y se logró recuperación de la función renal en un 76% de los pacientes con terapia agresiva. Otros grupos también han confirmado estos resultados aún en pacientes que requirieron hemodiálisis <sup>(105)</sup>. El síndrome nefrótico se ha observado entre el 13% al 26% de todos los pacientes.

### **1.7. C. HALLAZGOS SEROLÓGICOS**

Las variables serológicas han sido evaluadas extensamente como indicadores de actividad en la NL. Las anomalías del complemento se han correlacionado con el grado de actividad histológica renal en algunos estudios. El descenso persistente del mismo también ha sido asociado a la progresión de la enfermedad renal en algunos grupos. Los anticuerpos anti ds-DNA se han relacionado con clínica de glomerulonefritis activa. Los hallazgos serológicos pueden desarrollarse algunos meses antes de la detección de un sedimento urinario activo o el aumento de la proteinuria <sup>(419)</sup>.

### **1.7. D. MEDICIÓN DE LA FUNCIÓN RENAL**

Los principales métodos para evaluar la función renal son las mediciones de urea y creatinina sérica y el aclaramiento de creatinina. La utilidad de la medición de urea sérica tiene sus limitaciones ya que sus valores pueden estar alterados dependiendo del estado de hidratación, sangrado, condiciones hepáticas y de la dieta. En la práctica clínica, el método más conveniente de la medición continua de la función renal es la creatinina sérica. Sin embargo, la creatinina sérica puede variar en relación al peso corporal, la masa muscular, y el estado de hidratación y tiende a sobreestimar la función renal en alrededor de un 20%, ya que no toma en cuenta la secreción tubular proximal de creatinina. Por otra parte, la

secreción de creatinina está aumentada en los túbulos dañados por glomerulopatías <sup>(327,338)</sup>. Entonces para la determinación exacta de la función renal en los trabajos clínicos de investigación, la medición del filtrado glomerular es el patrón oro. El filtrado glomerular realizado con el aclaramiento de inulina o Tc99-DPTA son técnicas confiables pero costosas e inconvenientes. Hughes et al. han sugerido que el EDTA-GFR marcado con chromium 51 puede ser un mejor predictor de función renal en la NL que el uso del filtrado glomerular <sup>(146)</sup>. Las reducciones del filtrado glomerular indican una fracción de filtración baja y una enfermedad más severa.

### **1.7. E. PROTEINURIA Y SEDIMENTO DE ORINA**

El dosaje de proteínas en 24 horas es de valor para el seguimiento si éstas están elevadas. Cuando el dosaje es mayor a 3.500 MG en 24 hs, el paciente usualmente tiene síndrome nefrótico. Aunque la cantidad de proteinuria no suele siempre correlacionarse con la actividad de la enfermedad, la disminución de sus valores suele reflejar mejoría clínica, siempre que el filtrado glomerular este conservado <sup>(419)</sup>.

La mayoría de los pacientes con enfermedad renal clínicamente importantes tienen alteraciones en el sedimento microscópico. En diferentes series, la presencia de hematuria fue de un 33% a un 78%, cuerpos grasos de 33 a un 48%, cilindros celulares en un 34 a 40% y proteinuria de 24 hs mayor a 1 grs en el 26 al 87%. Por otra parte, la presencia de cilindros celulares seguidos por hematuria y leucocitos en el sedimento, pueden ser un mejor predictor de recaída renal que la caída del complemento sérico <sup>(419, 262,23)</sup>.

### **1.7. CLASIFICACIÓN HISTOPATOLÓGICA DE LA NL**

La NL es extremadamente pleomórfica y todos los componentes del riñón pueden estar comprometidos es decir los glomérulos, los túbulos, el intersticio y los vasos sanguíneos. A través de los años los investigadores han tratado de definir y cuantificar las diferentes lesiones morfológicas. Tres sistemas de clasificación han sido propuestos en las últimas tres décadas. La clasificación original de la Organización Mundial de la Salud (WHO) fue formulada en el año 1974 y reconoció cinco clases de NL <sup>(274)</sup>. En 1982, la clasificación WHO fue modificada por el estudio Internacional de enfermedad renal en los niños (ISKDC) con una posterior revisión en 1995 (Cuadro 4) <sup>(74,75)</sup>. Esta definió seis clases principales de NL y una gran cantidad de subclases. Una tercera clasificación fue propuesta por un consenso conferencia organizado conjuntamente por la Sociedad Internacional de Nefrología (ISN) y la Sociedad de patología renal (RPS) manteniendo la

simplicidad de la clasificación original , estandarizando los criterios patológicos y definiendo más precisamente las distinciones entre las clases (Cuadro 5) <sup>(433)</sup>.

A pesar de que las lesiones tubulares, intersticiales y vasculares son frecuentes en la NL y contribuyen con la actividad, severidad y cronicidad, las tres clasificaciones están basadas sólo en las alteraciones glomerulares. Es importante destacar que las lesiones glomerulares pueden transformarse de una clase histológica a otra diferente en el tiempo. Las lesiones glomerulares requieren de una cuidadosa evaluación por microscopía óptica e inmunofluorescencia para una correcta clasificación. El análisis requiere la determinación de la presencia de hiper celularidad glomerular en el mesangio, en zonas endocapilares y extracapilares, y la distribución de la misma (Focal en menos del 50% del glomérulo y difusa en más del 50% del glomérulo afectado).

### **1.7. F.1. HISTOPATOLOGÍA DE LA NL: CLASIFICACIÓN ISN/RPS**

#### *Clase I*

La clase I se define como NL mesangial mínima con acumulación mesangial de inmunocomplejos identificados por inmunofluorescencia, o microscopía electrónica sin alteraciones concomitantes en la microscopía óptica. Una ausencia completa de anomalías renales por microscopía óptica, inmunofluorescencia y microscopía electrónica no califica más como clase I y éste es un cambio con respecto a la clasificación WHO 1974.

#### *Clase II*

La clase II se define como NL proliferativa mesangial caracterizada por algún grado de hiper celularidad mesangial en asociación con depósitos inmunes mesangiales. En la microscopía electrónica o inmunofluorescencia puede haber pequeños depósitos inmunes aislados que comprometan las paredes capilares periféricas. Sin embargo, la identificación de algún depósito subendotelial por microscopía electrónica podría designar NL clase III o IV dependiendo de la extensión y la distribución de los mismos. Por otro lado la presencia de alguna cicatriz global o segmentaria, que sean interpretadas como secuelas de proliferación endocapilar glomerular previa, necrosis o semilunas, es incompatible con la clase II y serían consideradas clase III o IV dependiendo del número de glomérulos esclerosados.

#### *Clase III*

La clase III se define como NL focal que compromete menos del 50% de todos los glomérulos. Los glomérulos afectados presentan lesiones proliferativas endocapilares

segmentarias o cicatrices glomerulares inactivas, con y sin necrosis de la pared capilar y semilunas, con depósitos subendoteliales (usualmente de distribución segmentaria). En la evaluación de la extensión de las lesiones, las que son activas y escleróticas deben ser analizadas. Los parámetros de actividad y cronicidad deben ser descriptos. (Tabla 2)

#### *Clase IV*

La clase IV se define como NL difusa que compromete al 50 % o más de los glomérulos. Las lesiones anteriormente descritas pueden ser segmentarias o globales. Esta clase es subdividida en NL segmentaria difusa (clase IV S) cuando mas del 50% de los glomérulos comprometidos tienen lesiones segmentarias y NL global (clase IVG) cuando más del 50% de los glomérulos tienen lesiones globales. La clase IV S muestra proliferación endocapilar segmentaria, invadiendo en la luz capilar con y sin lesiones de necrosis, y pueden estar superpuestas en cicatrices glomerulares. La clase IVG es caracterizada por proliferación endocapilar, extracapilar y mesangiocapilar difusa y global. La nueva subdivisión de lesiones globales y segmentarias esta basada en la evidencia que sugiere que la clase IV G puede tener un pronóstico diferente que la clase IV S. Los parámetros de actividad y cronicidad deben ser descriptos. (Figuras 3 y 4)

#### *Clase V*

La clase V se define como NL membranosa con depósitos inmunes subepiteliales granulares segmentarios o difusos, que a menudo presentan depósitos inmunes mesangiales. Algún grado de hiper celularidad mesangial puede ocurrir en esta clase y los depósitos subendoteliales cicatrizales pueden ser identificados por microscopía electrónica o inmunofluorescencia. Si hay presencia de depósitos subendoteliales en la microscopía óptica, un diagnóstico combinado con clase III o IV será realizado dependiendo de la distribución de los mismos.

#### *Clase VI*

La clase VI (NL en estadio avanzado) designa a las biopsias con un 90% de glomeruloesclerosis global y en las cuales hay evidencia clínica y patológica de que la esclerosis es debida a la NL. No debe haber evidencia de enfermedad glomerular activa.

#### CUADRO 4. CLASIFICACIÓN DE NL WHO (1982)

Clase I	a- Glomérulos normales por MO, IF, ME b- Glomérulos normales por MO pero con depósitos en IF y ME.
Clase II	Alteraciones mesangiales puras a- Ensanchamiento mesangial con hiper celularidad leve b- Hiper celularidad moderada
Clase III	Glomerulonefritis segmentaria focal a- Con lesiones necrotizantes activas b- Con lesiones activas y esclerosantes c- Con lesiones esclerosantes
Clase IV	Glomerulonefritis difusa a- Sin lesiones segmentarias b- Con lesiones necrotizantes activas c- Con lesiones activas y esclerosantes d- Con lesiones esclerosantes
Clase V	Glomerulonefritis membranosa a- Glomerulonefritis membranosa pura b- Asociada con lesiones de categoría II (a ó b) c- Asociada con lesiones de categoría III (a, b ó c)* d- Asociada con lesiones de categoría IV (a, b, c ó d)*
Clase VI	Glomerulonefritis esclerosante avanzada

\*Eliminadas en la clasificación de WHO de 1995

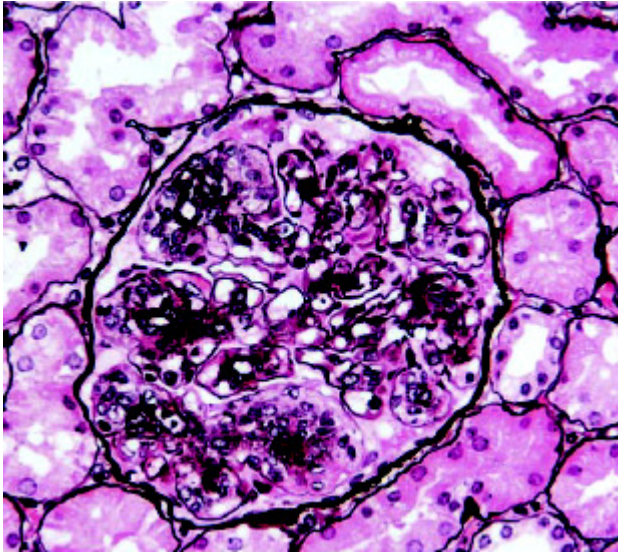


Figura 3. NL Clase IV-G (metamina-plata)

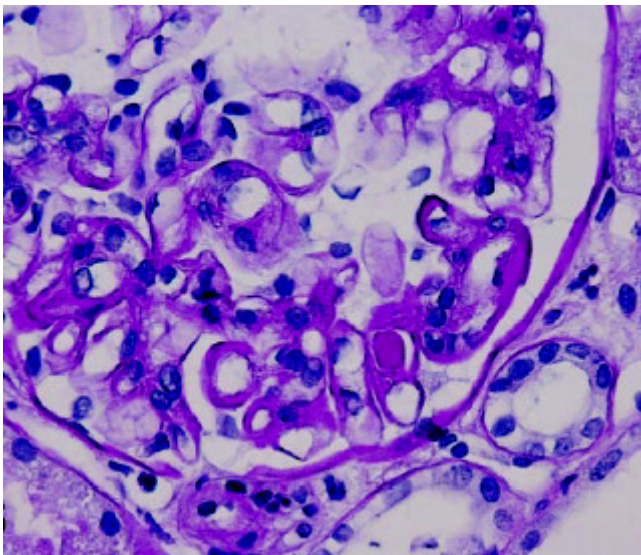


Figura 4. NL Clase IV-S (PAS)

## **CUADRO 5. CLASIFICACIÓN ABREVIADA DE NL (ISN/RPS 2004)**

---

Clase I	Nefritis lúpica mesangial mínima.
Clase II	Nefritis lúpica proliferativa mesangial
Clase III	Nefritis lúpica focal
Clase IV	Nefritis lúpica difusa segmentaria (IV-S) o global (IV-G)
Clase V	Nefritis lúpica membranosa
Clase VI	Nefritis lúpica esclerosante avanzada.

---

## **CUADRO 6. LESIONES DE ACTIVIDAD Y CRONICIDAD EN NL**

---

### **Lesiones activas**

- Hipercelularidad endocapilar con o sin infiltración leucocitaria con reducción luminal
- Cariorexis
- Necrosis Fibrinoide
- Ruptura de membrana basal glomerular
- Semilunas celulares
- Depósitos subendoteliales identificados por MO
- Agregados inmunes intraluminales

### **Lesiones Crónicas**

- Esclerosis Glomerular ( focal o segmentaria)
  - Adherencias Fibrosas
  - Semilunas Fibrosas
-



## **1.7. F.2 INDICES DE ACTIVIDAD Y CRONICIDAD**

Los índices de actividad (IA) y cronicidad (IC) ofrecen una información semicuantitativa de la severidad del daño glomerular agudo y crónico así como de los componentes tubular, vascular e intersticial del riñón en la NL (Cuadro 6). Austin et al. identificaron a los IA e IC como marcadores predictivos de fallo renal. Numerosos estudios han identificado los hallazgos histológicos como semilunas, necrosis fibrinoide, fibrosis intersticial, depósitos endoteliales así como un IC mayor de 5 en biopsias repetidas como indicadores de deterioro de la función renal <sup>(80, 19, 296, 373,114)</sup>. Debido a la fluctuación del proceso patológico en la NL y la potencial reversibilidad de algunas lesiones histológicas, los factores pronósticos pueden diferir dependiendo del tiempo de realización de la biopsia renal y del tratamiento realizado. Esdaile et al. demostraron que el IA, el compromiso tubulointersticial y los depósitos subendoteliales eran predictores significativos del pronóstico, mientras que los hallazgos del laboratorio fueron útiles en predecir el pronóstico a corto plazo <sup>(117)</sup>.

## **1.7. G. SÍNDROME ANTIFOSFOLÍPIDO (SAF): NEFROPATÍA POR SAF (NSAF)**

En el comienzo de la década de los 80, el Dr. Graham Hughes describió un síndrome clínico caracterizado por trombosis, abortos recurrentes, enfermedad neurológica y AAF <sup>(198)</sup>. En 1983, era difícil predecir el interés que la determinación de los ACA iba a generar en los años siguientes <sup>(164)</sup>. Es frecuente la descripción de nuevos autoanticuerpos en el LES y podía parecer que los ACA no iban a merecer sino un interés pasajero. Sin embargo, su asociación con una amplia combinación de síntomas que incluyen fundamentalmente trombosis venosas y arteriales, pérdidas fetales y trombocitopenia, entre otros han atraído hacia ellos la mirada de investigadores de los más diversos ámbitos de la medicina <sup>(198,164,225)</sup>.

El término SAF ó Síndrome de Hughes se aplica a un estado de hipercoagulabilidad que predispone a trombosis venosa, arterial o ambas asociado a la presencia de AAF como los ACA y el AL. Este síndrome puede presentarse en forma aislada, SAF, o en asociación con enfermedades del tejido conectivo, principalmente LES. En el consenso Internacional en Sapporo (Japón) se publicaron los criterios preliminares de clasificación del SAF (Cuadro 7) <sup>(437)</sup>. Recientemente, estos criterios fueron actualizados agregándose al criterio de laboratorio los anticuerpos anti $\beta$  2 glicoproteína I (ABGPI) confirmados en 2 ocasiones separados de 12 semanas <sup>(284)</sup>. Sin embargo, numerosos

hallazgos clínicos del SAF no están incluidos en estos criterios y esto no debe hacer que el diagnóstico no sea considerado si otras causas han sido excluidas y existe una alta sospecha clínica.

Si bien la trombosis y la pérdida fetal recurrente así como la trombocitopenia moderada son uno de los principales hallazgos, la lista de manifestaciones clínicas es enorme y numerosos sistemas pueden estar afectados (Cuadro 8).

Algunos estudios han evaluado la prevalencia de AAF en la población general. Nencini et al. estudiaron 55 voluntarios sanos con una edad promedio de 40 años y encontraron la presencia de ACA o AL en un solo paciente<sup>(305)</sup>. Fields et al. encontraron una prevalencia del 2% de ACA en 543 donantes de sangre por debajo de 65 años<sup>(124)</sup>.

EL Grupo de estudio de AAF en el accidente cerebro-vascular (ACV) (APASS) también encontró una prevalencia de 4,3% en 257 pacientes hospitalizados sin ACV con una edad media de 66 años, los cuales coinciden con la prevalencia estudiada por Schved et al. En 1014 pacientes con una edad media de 66,7 años<sup>(13,371)</sup>. Ginsberg et al. estudiaron una población de 179 pacientes con una edad media de 55 años a los que se les había excluido la presencia de trombosis venosa y encontraron una prevalencia de 18% para ACA y del 2% para AL<sup>(143)</sup>.

La prevalencia de AAF varía en pacientes con tromboembolismo venoso. Los ACA se encuentran entre un 3% y un 17% y el AL entre un 3 y 14%. Los promedios más bajos fueron encontrados por Kearon et al. en un estudio de tromboembolismo venoso idiopático<sup>(223)</sup>. Los valores más altos fueron encontrados por Schulmam et al. que examinaron 897 pacientes con tromboembolismo venoso en los cuales los valores de ACA fueron del 15%, evaluados a los 6 meses post evento y con un seguimiento de 4 años. El riesgo de recurrencia durante el seguimiento fue más alto en los pacientes con títulos elevados de ACA<sup>(369)</sup>.

La prevalencia más alta de AAF ocurre en pacientes con LES, se estima entre un 30 y 63%. En un estudio retrospectivo realizado por Horbach et al. encontraron un 64% de ACA IgG en pacientes con LES con historia de trombosis y un 41% en pacientes sin eventos trombóticos y un 25,1% de AL<sup>(188)</sup>. Por otro lado, Ghirardello et al. encontraron un 51,4% de pacientes con LES positivos para ACA y un 8,6% para AL<sup>(141)</sup>.

La prevalencia de AAF varía en los pacientes con trombosis arterial. Nencini et al. encontraron que un 18% de pacientes jóvenes (edad media <40 años) eran positivos para AAF (ACA y AL). El grupo de estudio APASS encontró un 9,7% de positividad para

## **CUADRO 7. CRITERIOS PRELIMINARES DE CLASIFICACIÓN DEL SAF (SAPPORO 1998)**

---

### **Criterios Clínicos**

#### **1. Trombosis Vasular**

Uno o mas episodios clínicos de trombosis arterial, venosa o de pequeños vasos en algún órgano o tejido. La trombosis debe ser confirmada por estudios de imágenes, de histopatología, o Doppler; con excepción de la trombosis venosa superficial. Para la confirmación histopatológica, la trombosis debería estar presente sin evidencia significativa de inflamación en la pared del vaso.

#### **2. Historia Obstétrica Adversa.**

- a) Una o mas muertes no explicadas de fetos normales, después de las 10 semanas de gestación, con morfología fetal normal documentada por ecografía o examen directo del feto, o
- b) Uno o mas nacimientos prematuros de neonatos morfológicamente normales antes o en la semana 34 de gestación por Preeclampsia o eclampsia severa o insuficiencia placentaria o
- c) Tres o más abortos espontáneos consecutivos no explicados antes de la semana 10 de gestación, en los que se hayan excluido anomalías anatómicas y hormonales maternas y causas cromosómicas maternas y paternas.

### **Criterios de Laboratorio**

- 1. Anticuerpos Anticardiolipina Isotipo IgG o IgM en sangre, a títulos medios o altos, en dos o más determinaciones separadas 6 semanas, medidas por ELISA de anticuerpos anticardiolipina dependiente de Beta 2 glicoproteína1.
- 2. Presencia de Anticoagulante Lúpico en plasma en 2 o mas ocasiones separadas por 6 semanas, detectado de acuerdo a las guías de la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia.

Se considera SAF si se encuentran al menos 1 criterio clínico y 1 de laboratorio.

---

## CUADRO 8. MANIFESTACIONES CLÍNICAS DEL SAF

<b>Sistema Nervioso Central</b>	<b>Cardio-Vasculares</b>
ACV/AIT Profunda	Trombosis Venosa
Corea	Enf. Valvular Cardíaca
Cefalea, migraña	Infarto de miocardio
Epilepsia	Isquemia de M Inf.
Déficit Cognitivo	Aterosclerosis
Demencia Multiinfarto	Trombosis Arterial
Mielitis Transversa	
Síndrome tipo Esclerosis Múltiple	
Amaurosis Fugax	
<b>Obstétricas</b>	<b>Hematológicas</b>
Abortos espontáneos recurrentes	Trombocitopenia
Preeclampsia	Anemia Hemolítica
Retraso del crecimiento intrauterino	
<b>Cutáneas</b>	<b>Pulmonares</b>
Livedo Reticularis	Embolia Pulmonar
Ulceras en miembros inferiores	HT Pulmonar
Hemorragias Subungueales	SDRA
Isquemia Cutánea Digital	
Tromboflebitis Superficial	
<b>Gastrointestinales</b>	<b>Renales</b>
Síndrome de Budd-Chiari	Estenosis de Arteria Renal
Necrosis Hepática	Trombosis Vena Renal
Hiperplasia nodular regenerativa	Trombosis Glomerular
Isquemia Intestinal	NSAF
	Glomerulopatías
<b>Endocrinas</b>	
Enfermedad de Addison	
Hipopituitarismo	

ACA en pacientes con el primer ACV. En el infarto agudo de miocardio (IAM) la prevalencia de ACL fue entre el 5 y el 15% <sup>(413)</sup>.

La principal manifestación clínica del SAF es la trombosis que puede ocurrir a cualquier nivel del territorio vascular arterial y venoso. Puede afectar a vasos de todos los tamaños y los hallazgos histológicos evidencian una oclusión vascular, sin ningún infiltrado inflamatorio.

Dentro del espectro de las manifestaciones renales en asociación con el SAF se incluyen: la estenosis de la arteria renal, el infarto renal, la trombosis de la vena renal, la microangiopatía trombótica aguda (MAT) y crónica y la llamada actualmente NSAF <sup>(310,93)</sup>. Nochy et al. examinaron las biopsias renales realizadas a 16 pacientes con SAF y compromiso renal. Todos los pacientes presentaban lesiones vasooclusivas caracterizadas por trombosis aguda (MAT) y lesiones vasculares crónicas entre ellas hiperplasia intimal fibrosa de las arterias interlobulares, trombos recanalizados en arterias y arteriolas, oclusiones fibrosas y atrofia cortical focal. Posteriormente, Daugas et al. observaron las lesiones antes mencionadas definidas hoy como NSAF en pacientes con LES, especialmente con SAF asociado, y éstas eran independientes de la nefritis <sup>(284,310,93)</sup>. Sin embargo el rol de los AAF en la NL ha sido parcialmente demostrado y con resultados contradictorios <sup>(405, 40, 132, 120,298)</sup>.

### **1.7. H. MECANISMOS PATOGENICOS**

Actualmente existe evidencia que la NL es causada por depósitos inmunes glomerulares, que ha sido demostrado por la presencia de inmunoglobulinas y productos del complemento en biopsias renales de pacientes con NL activa. Uno de los mayores avances en la investigación en el lupus fue el descubrimiento de que la enfermedad es en parte el resultado de una respuesta inmune mediada por autoantígenos <sup>(92)</sup>.

#### *Respuesta de anticuerpos mediada por células T helper específicas por histonas*

Algunos estudios han indicado que la llamada respuesta de anticuerpos células B en el lupus era conducida por células T helper Histona específicas. Las células B atrapan proteínas unidas al DNA circulantes como nucleosomas y a través de la unión a la membrana de inmunoglobulinas (Ig) reconocen DNA. El complejo es endocitado y procesado y los péptidos catiónicos son presentados al complejo de histocompatibilidad mayor clase II restringidos al camino de células T helper específicas para histonas. En presencia de señales coestimuladoras como CD40-CD40L (CD154) o CD28-B7.1/B.2 (CD80/CD86), y su interacción resulta la activación y proliferación de células B en particular a través de la producción de citoquinas <sup>(285, 99, 172,60)</sup>.

### *Deterioro del aclaramiento de cuerpos apoptóticos*

El siguiente paso es comprender como los nucleosomas aumentan y porque llegan a ser inmunogénicos en el LES. El clearance de cuerpos apoptóticos por macrófagos y otros fagocitos está deteriorado en pacientes lúpicos, y el material apoptótico fue encontrado con células dendríticas en nódulos linfáticos lúpicos. Estos resultados sugieren que los autoantígenos son procesados por células presentadoras de antígenos restringidos a células T helpers. El material apoptótico que contiene nucleosomas en lugar de ser fagocitados y eliminados por macrófagos sin inducir respuestas inflamatorias e inmunes, llega a ser inmunogénico <sup>(173,32)</sup>.

### *Complejos Nucleosomas/Antinucleosomas*

El rol de los nucleosomas/antinucleosomas ha sido recientemente hipotetizado. Los anticuerpos antinucleosomas son detectados en los sueros de pacientes con NL y sus títulos se correlacionan con la actividad de la enfermedad renal <sup>(49)</sup>.

La perfusión renal de complejos de nucleosoma/antinucleosoma induce depósitos inmunes glomerulares y proteinuria en modelos animales <sup>(236,414)</sup>. Por otro lado los antígenos nucleosómicos son detectados en la membrana basal glomerular en los pacientes con NL <sup>(24)</sup>.

En otras hipótesis la parte de la histona catiónica de los complejos nucleosoma/antinucleosoma podría unirse a la molécula heparan sulfato expresada en la membrana basal glomerular. La unión de anticuerpos mediada por nucleosomas a la membrana basal glomerular podría iniciar la glomerulonefritis a través de la activación del complemento y a través de mecanismos independientes inducidos por interacción de receptores Fc/Fc.

## **1.7. I. TRATAMIENTO**

El manejo óptimo de la NL continúa siendo un desafío, debido a la heterogeneidad de la enfermedad así como la presentación y su curso impredecible. Los objetivos terapéuticos en un paciente con NL deberían: 1) lograr una rápida remisión renal, 2) evitar las recaídas, 3) evitar la insuficiencia renal crónica, y 4) lograr estos objetivos con la menor toxicidad. A pesar de la mejoría en la supervivencia renal lograda en la última década, los regímenes inmunosupresores alcanzan todavía resultados subóptimos. Uno de los avances en la terapia de la NL ha sido la introducción de la utilización de los inmunosupresores de manera secuencial (inducción y mantenimiento). El concepto es inducir remisión en un período corto de inmunosupresión agresiva (glucocorticoides (GC) más ciclofosfamida (CF) EV) y luego mantener la remisión a largo plazo, ya sea con el mismo agente administrado con menor frecuencia (CF EV) ó con otro agente

inmunosupresor más seguro (azatioprina AZA) con el objetivo de disminuir toxicidad. Sin embargo el pronóstico final depende del resultado de las fases de inducción y mantenimiento y existe todavía debate de cual sería la mejor droga para cada una de ellas (195).

### *Ciclofosfamida*

En las décadas de los 70 y 80 la CF oral y los GC fueron considerados el patrón oro para el tratamiento de la nefritis. Posteriormente la CF EV en pulsos reemplazó a la administración oral. Austin et al. en el estudio NIH (CF EV) encontraron que los pacientes tratados con altas dosis de CF EV a largo plazo disminuían la probabilidad de insuficiencia renal crónica terminal comparado con los que sólo recibieron GC (22).

En un segundo estudio Boumpas et al. mostraron que los pacientes con NL severa que recibían un tratamiento más largo con CF (> 30 meses) tenían menor probabilidad de duplicar la creatinina comparados con los que recibieron GC (45). Por otra lado, los que recibieron un tratamiento corto (6 meses) tenían mayor probabilidad de recaída.

En el último estudio NIH la terapia combinada de GC más CF EV logró un porcentaje más alto de remisión y ningún paciente que recibió terapia combinada llegó a insuficiencia renal Terminal a los 11 años de seguimiento (200).

Algunos problemas de este régimen incluyen: 1) la falta de influencia en la sobrevida, 2) la alta toxicidad gonadal, 3) el incremento en las infecciones, y 4) un alto índice de recaídas.

Hughes et al. propusieron un régimen de mini pulsos de ciclofosfamida a dosis fijas de 500 MG quincenal y posterior mensual en un período corto de inducción (6 meses), seguidos por un mantenimiento con AZA (192,88). Este esquema fue usado para NL con resultados alentadores en estudios abiertos y con baja toxicidad.

Posteriormente, el Euro-Lupus Nephritis Trial comparó ambos regímenes de tratamiento con CF EV seguidos por un mantenimiento con AZA en pacientes con NL proliferativa documentada por biopsia. No se encontraron diferencias significativas en la respuesta al tratamiento entre los grupos y las infecciones fueron menos frecuentes en el grupo de baja dosis después de 41 meses de seguimiento (193). El análisis fue actualizado y no encontraron diferencias en la probabilidad de ERT o la duplicación de creatinina entre los grupos a los 73 meses de seguimiento (194).

Un reciente metaanálisis sugiere que la combinación de GC más CF permanece como la mejor opción de tratamiento para preservar la función renal en pacientes con NL proliferativa y sugieren que la menor dosis efectiva así como tratamiento más corto deberían usarse para evitar la toxicidad gonadal sin comprometer la eficacia (290, 4,126).

### *Micofenolato Mofetil*

Micofenolato Mofetil (MMF) es un inhibidor de la inosina monofosfato dehidrogenasa; enzima que controla la síntesis de novo de los nucleótidos de guanosina, que es un paso esencial para la síntesis de DNA de en los linfocitos. Además el MMF tiene otros efectos inhibitorios en la proliferación de de la célula mesangial en la expresión de moléculas de adhesión de las células endoteliales y en la expresión de la sintetasa de oxido nítrico inducible de la corteza renal <sup>(168,256)</sup>.

Chan et al. realizaron el primer estudio en Hong Kong donde compararon al MMF (2 g/d por 6 meses y 1 g/d 6 meses) vs. CF oral (2.5 MG/Kg. 6 meses) seguidos por AZA (2.5 MG /k 6 meses) como terapia de inducción. Todos los pacientes fueron mantenidos con AZA (1 a 1.5 MG/k) después de 1 año. No hubo diferencias en la respuesta temprana entre ambos grupos, pero en un seguimiento posterior los pacientes con inducción con MMF tuvieron recaídas más precoces, probablemente relacionadas a la dosis o al abandono precoz por intolerancia <sup>(69)</sup>.

MMF fue recientemente comparado con CF EV como terapia de inducción en 3 estudios. El grupo de MMF logró remisión más frecuentemente que con CF EV y las infecciones fueron más frecuentes en el grupo con CF EV <sup>(197, 14,144)</sup>.

MMF también ha sido estudiado como droga de mantenimiento. Contreras et al. compararon a CF EV vs. AZA vs. MMF como terapia de mantenimiento después de tratamiento con inducción con CF EV. No se encontró diferencias significativas en la sobrevida renal en los 3 grupos pero el grupo de CF EV presentó una mayor mortalidad <sup>(79)</sup>.

### **1.7. H. PRÓNOSTICO**

Numerosos estudios epidemiológicos en pacientes con NL han sido publicados y más de trece factores de riesgo independientes predictores de progresión han sido identificados. Dentro de ellos se incluye la edad, sexo, raza, factor socioeconómico, polimorfismos genéticos, anticuerpos anti-ds-DNA, AAF, anticuerpos anti C1q, la clase histopatológica, los IA e IC, la atrofia tubular, la trombosis capilar, la transformación histopatológica, los niveles elevados de creatinina, el síndrome nefrótico, la hipertensión persistente, la falta de remisión clínica en el primer año, la hipocomplementemia, el retraso y el tipo de tratamiento instituido, los brotes renales y la falta de adherencia al tratamiento.

La raza afro americana y la hispanoamericana han sido identificadas como factores de mal pronóstico renal con una sobrevida de 58% a los 5 años independiente del



tratamiento. La presencia de ciertos polimorfismos genéticos podría explicar este resultado aunque el estado socioeconómico y la falta de la accesibilidad a servicios de salud son hechos que no pueden ignorarse en esta población. Un estudio triétnico en población americana ha demostrado recientemente que la pobreza es un factor importante en la progresión de las formas proliferativas <sup>(7,29)</sup>. Numerosos estudios también han sido realizados en la raza china revelando un mejor pronóstico con una supervivencia a los 5 años del 93%, encontrando similares resultados a la raza caucásica <sup>(288)</sup>.

La edad y el sexo han sido identificados como factores no modificables. La edad más temprana a la presentación y el sexo masculino han sido descriptos como indicadores de mal pronóstico en series de adultos <sup>(104, 128,59)</sup>.

Los brotes renales suelen ser precedidos de un aumento en los títulos de los anti-ds-DNA y predicen la ocurrencia de glomerulonefritis proliferativa. De esta manera, los anti-ds-DNA tienen un rol en el pronóstico renal por predisponer a formas más severas y brotes de la enfermedad <sup>(44)</sup>.

Los AAF han sido implicados como un factor pronóstico negativo en la supervivencia renal en 2 recientes estudios. Sin embargo el rol de éstos en el pronóstico de NL no ha sido claramente establecido <sup>(405, 40, 132, 120,298)</sup>.

La relación entre los hallazgos histológicos y la evolución clínica de la NL han sido bien reconocidas. Los pacientes con glomerulonefritis mesangial (Clase II) y membranosa pura (Clase V) tienen generalmente mejor pronóstico renal así como un deterioro lento de la función renal en el tiempo. Por el contrario, las glomerulonefritis proliferativas (Clase III y IV) están asociadas a una evolución más agresiva con un deterioro de la función renal en la mayoría de los pacientes. Esta regla no puede ser tomada en cuenta en los subsiguientes brotes renales o en la transformación histológica que se pueda producir ya que estos casos el pronóstico depende de la nueva histología renal y la respuesta al tratamiento.

Los IA e IC han sido indicadores de deterioro de la función renal en diferentes estudios pero estos están sujetos a diferencias inter observador y tienen limitada reproducibilidad. Algunos estudios no han podido encontrar un claro punto de corte de los índices que sean clínicamente útiles para predecir fallo renal y mortalidad <sup>(373)</sup>. Debido a la fluctuación del proceso patológico en la NL y la potencial reversibilidad de algunas lesiones histológicas, los factores pronósticos pueden diferir dependiendo del tiempo de realización de la biopsia renal y del tratamiento realizado. Los hallazgos de laboratorio que predicen el pronóstico renal han sido extensamente estudiados. La elevación de la

creatinina sérica y el síndrome nefrótico en la presentación de la NL, así como la HTA persistente, el hematocrito bajo, la hipocomplementemia y el fracaso en lograr la remisión en el primer año del tratamiento son todos factores significativos <sup>(288, 104, 114, 373)</sup>. Sin embargo, los pacientes con insuficiencia renal aguda pueden responder completamente al tratamiento y permanecer en remisión a largo plazo.

Los efectos de diferentes regímenes de tratamiento han influenciado el pronóstico en la NL y aunque estudios controlados están faltando. El estudio NHS claramente demostró que la combinación de CF junto a los GC era mejor para el pronóstico renal Sin embargo las controversias continúan con respecto a la duración de la terapia, diferentes regímenes y dosis así como la aparición de nuevos agentes inmunosupresores como micofenolato mofetil <sup>(194,151)</sup>.

## **2. OBJETIVOS**

### **2. A .OBJETIVOS GENERALES**

- Estudiar los factores demográficos e inmunológicos asociados con el desarrollo de NL en una población multiétnica.
- Analizar el pronóstico renal y los factores que lo influyen en una población multiétnica.

### **2. B. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Estudiar la prevalencia de los AAF en pacientes con NL, su asociación clínica y de laboratorio, y el posible impacto en el pronóstico renal.
- Analizar la presencia de lesiones histopatológicas de NSAF en las biopsias renales obtenidas de pacientes con LES con o sin AAF
- Evaluar si existen en la actualidad diferencias en la presentación y el pronóstico entre las formas proliferativas y no proliferativas de NL.

### 3. PACIENTES Y MÉTODOS

Se evaluaron retrospectivamente 156 pacientes que cumplían con los criterios de LES acorde al ACR <sup>(182)</sup>, con biopsia renal compatible con el diagnóstico de NL atendidos en la unidad de Lupus del hospital St Thomas 's de la ciudad de Londres y en la unidad de reumatología del hospital Córdoba de la ciudad de Córdoba en los últimos 12 años. 110 pacientes fueron estudiados en la unidad de lupus del hospital St. Thomas 's y sus datos recolectados durante el año 2000 y 2001 y actualizados en el año 2007. Otros 47 pacientes fueron incluidos en la unidad de reumatología del hospital Córdoba durante los años 2006 y 2007, 24 mestizos y 23 caucásicos. El grupo control incluyó 218 pacientes con criterios de LES acorde al ACR sin NL pareados por edad y sexo de ambos centros <sup>(182)</sup>. El concepto de raza tiene una implicancia biológica de un grupo de seres humanos que son genéticamente homogéneos comparados con individuos de otros grupos. La homogeneidad es sólo posible en animales de laboratorio o en comunidades humanas aisladas. En oposición, la etnicidad incluye un concepto más amplio en el que las características biológicas, junto a las demográficas, culturales y sociales tienden a agrupar individuos. La categorización de poblaciones en diferentes grupos étnicos en estudios clínicos y epidemiológicos permite la exploración de factores relacionados a ésta en una enfermedad dada <sup>(9, 275,276)</sup>. Los pacientes se dividieron de acuerdo a su origen étnico en blancos (caucásicos), negros (africanos, y afro-caribeños), asiáticos (chinos, indios, japoneses) y mestizos acorde a los datos proporcionados en la historia clínica que fueron confirmados por el interrogatorio sobre la etnicidad y lugares de nacimiento de sus padres y abuelos. La edad fue estimada a la instalación de la enfermedad, el diagnóstico cuando el paciente cumplió criterios ACR, y la duración de la misma fue medida por el tiempo desde el diagnóstico hasta la última visita del seguimiento. Los siguientes parámetros fueron recolectados de las historias clínicas al momento de la biopsia y confirmados con una entrevista al paciente: edad, sexo, duración del LES, criterios de SAF acorde a criterios de Sapporo, artritis, rash malar o discoide, úlceras orales, fotosensibilidad, fenómeno de Raynaud, livedo reticularis, serositis, la presencia de hematuria, la presencia y la posterior cuantificación de proteinuria en 24 hs, el primer nivel de creatinina. La detección de hematuria fue realizada por análisis de dipstick inicial seguido por la confirmación de la prueba microscópica con la presencia de hematíes dismórficos. El deterioro de la función renal al inicio se definió por un nivel de creatinina >1.5 mg/dl. La HTA fue considerada de estar presente cuando la presión arterial sistólica y diastólica fuera persistentemente

elevadas por encima de 140 mmHg y 90 mmHg respectivamente y una terapia antihipertensiva fuera instituida en el diagnóstico de la enfermedad renal. Los datos acerca del tratamiento inicial recibido con CF, AZA, hidroxiclороquina, MMF, esteroides, antihipertensivos, warfarina, y estrogénos también se recolectaron. (Apéndice 1).

### **3. A. LABORATORIO**

La medición de anticuerpos antinucleares se realizó por inmunofluorescencia indirecta en (HEp-2), los anticuerpos ds-DNA por método de Farr y los anticuerpos ENA (Sm, RNP, Ro, La) por CIE usando extractos de timo de rata y bazo bovino. Los resultados fueron considerados positivos si estos estuvieron presentes en algún momento del seguimiento de la enfermedad.

La medición de ACA Ig G e Ig M se realizó acorde a una técnica estandarizada de Harris<sup>(165)</sup>. Placas ( Immulon I, Dynatech, Virginia, USA) fueron cubiertas con 50 µg/ml de cardiolipina bovina en etanol al 4° C a través de la noche. Las fuentes fueron bloqueadas con suero de ternero fetal en buffer salino fosfato (10%FCS-PBS) por una hora a temperatura ambiente, y 50 µl de suero diluido en 10% de FCS-PBS en 1:50 fueron añadidos doblemente. Las placas fueron posteriormente incubadas por 2 horas a temperatura ambiente, seguidas por Ig G e IG M humanas conjugadas con fosfatasa alcalina en dilución y sustrato apropiado. La presencia de AL fue evaluada acorde a los criterios de la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia, Subcomité de anticuerpos Anticoagulante lúpico dependiente de Fosfolípidos<sup>(48)</sup>. Todas las muestras fueron evaluadas usando el aPTT previamente a las pruebas confirmatorias. Un kit comercial disponible para analizar el aPPT en plasma citratado fue utilizado. El reactivo aPTT contiene dispersión de sílice con fosfolípidos sintéticos, buffer y preservativos son colocados en el reservorio del reactivo 2. Además, 25 mmol/l de clorhidrato de calcio se localiza en el depósito 3 en un radio 1:1. Plasma control es añadido en los mismos recipientes y comienza el programa de APPT. El rango de referencia normal utilizado fue 0.93-1.10 para el reactivo específico utilizado en esta técnica. Radios mayores a 1.10, los cuales no corrigieron con la mezcla 50:50 de plasma normal fueron considerados sugestivos de la presencia de AL y se les realizó tiempo de veneno de Russell (dRVVT).

Los pacientes fueron considerados positivos cuando los resultados fueron positivos al menos en 2 oportunidades a títulos moderados o altos durante el seguimiento. Los pacientes fueron considerados negativos cuando los resultados de tres determinaciones fueron negativas a través del seguimiento.

### **3. B. BIOPSIA RENAL**

El tejido renal fue obtenido por biopsia percutánea y fueron procesados rutinariamente para microscopía óptica e inmunofluorescencia. Para el análisis en microscopía óptica se realizaron tinciones con hematoxilina y eosina y ácido periódico de Schiff en cortes de 3  $\mu\text{m}$ , metenamina de plata (1 $\mu\text{m}$ ), y tinción tricrómica de Masson. El material para inmunofluorescencia fue teñido con anticuerpos marcados con fluoresceína para Ig G, Ig M, Ig A, C3, C4, y C1q. Las biopsias que no fueron representativas, definidas por tener menos de 10 glómerulos a la microscopía óptica fueron excluidas. Para los propósitos de este estudio, todas las biopsias fueron revisadas por patólogos experimentados, usando los mismos criterios y el mismo operador, ciegos de los datos clínicos.

Las biopsias renales fueron clasificadas de acuerdo a WHO y fueron reclasificadas de acuerdo a los criterios de clasificación de la glomerulonefritis lúpica *ISN/RPS* 2004<sup>(433)</sup>. Los índices de actividad y cronicidad fueron estimados acorde al sistema modificado por Austin<sup>(19)</sup>. Las siguientes lesiones histopatológicas sugestivas de NSAF fueron evaluadas por los patólogos ciegos de los datos clínicos : MAT, caracterizada por la presencia de trombos de fibrina en arteriolas y glomérulos, o proliferación intimal miofibroblástica en la íntima con reducción de lumen de arterias de pequeño calibre, , trombos organizados con o sin recanalización , oclusión arterial o arteriolar fibrosa y atrofia cortical focal ( zonas de retracción capsular del parénquima renal con atrofia fibrosa y o pseudoquistes glomerulares).

Otras lesiones histopatológicas fueron evaluadas: la atrofia tubular, tiroidización, arterioesclerosis, edema vascular, hialinosis, y esclerosis focal (Apéndice 2). Se excluyeron los pacientes que presentaron hipertensión maligna, púrpura trombocitopenica trombótica, síndrome uremico hemolítico y coagulación vascular diseminada, y estenosis de la arteria renal.

Para el estudio de las diferencias en la presentación y el pronóstico entre las formas proliferativas y no proliferativas en la NL se incluyó en las formas proliferativas a las clases III, IV S y G, con o sin clase V, y a las no proliferativas a la clase V pura.

### **3. C .PRONÓSTICO**

El pronóstico renal fue evaluado por el desarrollo de insuficiencia renal crónica definida por la duplicación del nivel de creatinina sobre el valor basal, el desarrollo de

enfermedad renal terminal definida por la necesidad de diálisis o trasplante renal , y muerte. El tiempo del desarrollo de la duplicación de la creatinina, la ERT y muerte fueron considerados desde la realización de la biopsia hasta el desarrollo de éstos eventos. El volumen de filtrado glomerular fue medido por un compuesto marcado con ácido tetraacético etilenediamina Cromo 51. Tres Mbq de [Cr 51] EDTA fue administrado por vía endovenosa y el promedio de eliminación del radiotrazador fue medido en el plasma a las 2, 3 y 4 horas posterior a la extracción.

Para el análisis de pronóstico de la enfermedad renal se tomaron en cuenta como medidas de resultado la muerte y el desarrollo de insuficiencia renal ya definidos. Dentro de los factores basales considerados como predictores de pronóstico se incluyeron la edad, el sexo, la raza, la clase de NL, el IA e IC, el nivel de proteinuria, la presencia de hematuria, el nivel de creatinina basal, de HTA, la presencia de AAF , las lesiones histopatológicas presentes sugestivas de NSAF, anticuerpos anti-ds DNA, la presencia de ENA.

Esta investigación fue aprobada por los Comités de ética de la investigación en salud del Hospital St. Thomas's de Londres y del Hospital Córdoba número de acta 108. Todos los pacientes firmaron consentimiento informado (Apéndice 3).

### **3. D. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Para el análisis de los factores demográficos e inmunológicos se comparó el grupo de NL con el grupo control sin NL pareados por edad y sexo. La asociación entre los factores demográficos e inmunológicos fue analizada por  $\chi^2$ , y T-test a igual variancia, cuando fue apropiado. La relación entre NL y las variables demográficas e inmunológicas fueron analizadas en un modelo de regresión logística uni y multivariado. La asociación entre los hallazgos clínicos, histopatológicos, el pronóstico renal y los AAF fue analizada con  $\chi^2$ , T-test , cuando fue apropiado. La asociación entre los hallazgos clínicos, y el pronóstico renal con las formas proliferativas y no proliferativas fue analizada con  $\chi^2$ , T-test, Mann-Whitney cuando fue apropiado. El tiempo a la insuficiencia renal, a la enfermedad renal terminal y la muerte fue examinada en tablas de análisis de supervivencia (Kaplan Meier) y Log Rank. . Las variables predictivas de daño renal (la edad, el sexo, la raza, la clase de NL, el IA e IC, el nivel de proteinuria, la presencia de hematuria, el nivel de creatinina basal, de HTA, la presencia de AAF, las lesiones histopatológicas presentes sugestivas de NSAF, anticuerpos anti-ds DNA,y ENA) fueron examinados en un modelo

de Cox de regresión logística. Un valor de  $p < 0.05$  (two tailed) fue considerado significativo en todas las variables analizadas.

## 4. RESULTADOS

### 4. A. CARACTERÍSTICAS DE LES CON NL

El número total de pacientes con NL incluidos fue de 156. La edad media al diagnóstico de la enfermedad fue de 37.13 (10.6) años y 139 eran mujeres. El 56.1% eran caucásicos, 18,2% negros, 9.5% asiáticos y 16.2% mestizos. El seguimiento en meses fue de 184.3 meses. Con respecto al perfil inmunológico, el 99.4% tuvieron ANA positivos, el 72% ds-DNA, el 32% anti-RNP, el 33% anti-Sm, el 32.5% Ro, 7.9% La, 36.5% ACA Ig G, 12.2% ACA Ig M, y 33.8% AL. 2 pacientes fueron excluidos para el análisis de los factores asociados de NL.

Con respecto a la presentación de la enfermedad renal al momento de la biopsia, 35 pacientes tuvieron deterioro de la función renal, 68 con HTA y 105 con hematuria. La proteinuria basal fue 3.21 ( $\pm$ 1.8), el nivel de creatinina basal 88.27 ( $\pm$ 8.5). La frecuencia de las diferentes clases histopatológicas se resume en tabla 1.

**TABLA1. FRECUENCIA DE CLASES HISTOPATOLÓGICAS DE NL**

<i>Clase Histopatológica NL</i>	<b>Frecuencia</b>
<b>II</b>	13 (8.4%)
<b>III</b>	34 (22.0 %)
<b>III+V</b>	3 (1.94%)
<b>IVS</b>	31( 19.9%)
<b>IVG</b>	33(21.2%)
<b>IVS+V</b>	9(5.8%)
<b>IVG+V</b>	7(4.5%)
<b>V</b>	24(15.4%)

NL= Nefritis Lúpica; II=mesangial; III= Proliferativa focal, IVS=Proliferativa difusa segmentaria;

IVG=proliferativa difusa global; V= membranosa.

Todos los pacientes recibieron tratamiento con esteroides. El 75.64% recibió CF EV, 10.8% AZA, 11.53% MMF y el 1.92% solamente prednisona como tratamiento inicial



de NL. El 35% estaba tratado con warfarina, el 70% con enalapril y el 90% con hidroxiclороquina.

Con respecto al pronóstico 15 pacientes doblaron la creatinina, 12 llegaron a enfermedad renal terminal de los cuales 3 fueron trasplantados y 7 en hemodiálisis, y 10 fallecieron. Las causas de muerte fueron: 4 por sepsis, 1 por actividad de la enfermedad mas sepsis, 2 por actividad de la enfermedad, 1 por SAF catastrófico, 1 por infarto intestinal y 1 suicidio.

#### **4 .B. FACTORES ASOCIADOS A NL EN UNA POBLACIÓN MULTIÉTNICA**

El grupo de pacientes con NL fue significativamente más joven que el grupo control al momento del diagnóstico de LES (37.13 (10.6) años vs. 43.04 (13.603)  $p<0.000$ )- La proporción de pacientes de sexo masculino así como la de pacientes negros seguidas por los asiáticos y los hispanos fue más alta en el grupo con NL que en los controles. (Tabla1).

El perfil inmunológico fue diferente entre los grupos. Los anticuerpos anti-ds-DNA, anti-RNP, anti-Sm, y el AL fueron más frecuente en los pacientes con LES con NL (Tabla.2). Los parámetros que se correlacionaron con la NL posterior al análisis multivariado fueron: la edad más temprana al diagnóstico de la enfermedad, la raza negra, la presencia de anti-ds-DNA y anti-Sm. El perfil inmunológico en los diferentes grupos étnicos con NL se presenta en la tabla 5. Una frecuencia mayor y significativa de ds-DNA se presentó en los caucásicos y mestizos. La presencia de anti-RNP fue estadísticamente asociada a los negros, y de anti-el Sm a los mestizos y los negros respectivamente. Los anticuerpos anti-Ro estuvieron significativamente asociados a la raza negra seguida por los asiáticos. Los ACA Ig G estuvieron presentes en mayor proporción en los mestizos.

**TABLA 2. CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS DE LOS PACIENTES CON LES CON Y SIN NL**

	<b>LES con NL</b>	<b>LES sin NF</b>	<b>Valor p</b>
<b>Edad al diagnóstico Media (desviación)</b>	37.13 (10.6)	43.04(13.6)	0.000
<b>Sexo( F/M) (n/n)</b>	139/15	209/10	0.04
<b>Etnia ( C/N/A/M)</b>	89/27/14/24	187/6/6/19	0.000
<b>Seguimiento(meses)</b>	184.3	170.8	NS

LES=Lupus Eritematoso Sistémico; NL=nefritis lúpica; F= femenino; M=masculino; C=Caucásico; N=negro; A= asiático; M=mestizo.

**TABLA 3.PERFIL INMUNOLÓGICO DE PACIENTES CON LES CON Y SIN NL**

	<b>NL (+)</b>	<b>NL (-)</b>	<b>No NL (+)</b>	<b>No NL (-)</b>	<b>Valor p</b>
<b>ANA</b>	153(41.6%)	1 (20.0%)	215(58.4%)	4(80.0%)	NS
<b>Ds-DNA</b>	111(51.4%)	43(27.4%)	105(48.6%)	114(72.6%)	0.000
<b>Sm</b>	50(68.5%)	101(34%)	23(31.5%)	196(66%)	0.000
<b>RNP</b>	49(52.1%)	102(37%)	45(47.9%)	174(63%)	0.007
<b>Ro</b>	49(36.3%)	102(43.4%)	86(63.7%)	133(56.6%)	NS
<b>La</b>	12(24.5%)	139(43.3%)	37(75.5%)	182(56.7%)	0.008
<b>ACA Ig G</b>	54(49.1%)	94(38.5%)	56(50.9%)	150(61.5%)	NS
<b>ACA Ig M</b>	18(40.0%)	130(41.9%)	27(60.0%)	180(58.1%)	NS
<b>AL</b>	50(51.0%)	98(38.1%)	48(49.0%)	159(61.9%)	0.03

LES=Lupus Eritematoso Sistémico; NL=nefritis lúpica; DS-DNA= anticuerpos anti DNA doble cadena; SM= anticuerpo anti-Sm; RNP=anticuerpo anti-RNP; Ro=anticuerpo anti-Ro(SS-A); La= anticuerpo anti-La(SS-B); ACA Ig G= anticuerpos anticardiolipinas Ig G; ACA Ig M= anticuerpos anticardiolipinas Ig M; AL= anticoagulante lúpico.

**TABLA 4. DATOS DEMOGRÁFICOS E INMUNOLÓGICOS. ANÁLISIS UNIVARIADO Y MULTIVARIADO**

<b>Edad</b>	<b>Univariado</b>		<b>Multivariado</b>	
	<b>Exp(b)</b>	<b>Valor p</b>	<b>Exp (b)</b>	<b>Valor p</b>
	0.9	p=0.009	0.9*	p=0.009
<b>Sexo</b>	2.2	p=0.05	0.2	p=NS
<b>Caucasica (cat referencia)</b>	1		p=0.36	
<b>Negra</b>	9.5**	p=0.000	12.2**	p=0.000
<b>Asiatico</b>	4.9**	p=0.002	5.8 **	p=0.02
<b>Mestizos</b>	2.6 **	p=0.03	1.2	p=NS
<b>ds-DNA</b>	2.8**	p=0.000	3.1**	p=0.000
<b>RNP</b>	1.8**	p= 0.010	0.6	p=NS
<b>Sm</b>	4.2**	p=0.000	4.8**	p=0.001
<b>Ro</b>	0.7	p=NS	0.9	p=NS
<b>La</b>	0.43**	p=0.01	0.3	p=NS
<b>ACA Ig G</b>	1.2	p=NS	1.2	p=NS
<b>ACA Ig M</b>	0.5	p=NS	0.5	p=NS
<b>AL</b>	2.1	p=0.001	1.4	p=NS

DS-DNA= anticuerpos anti DNA doble cadena; SM= anticuerpo anti-Sm; RNP=anticuerpo anti-RNP; Ro=anticuerpo anti-Ro(SS-A); La= anticuerpo anti-La(SS-B); ACA Ig G= anticuerpos anticardiolipinas Ig G; ACA Ig M= anticuerpos anticardiolipinas Ig M; AL= anticoagulante lúpico.

**TABLA 5. RELACIÓN DE LA ETNICIDAD Y PERFIL INMUNOLÓGICO EN PACIENTES CON NL**

<b>Anticuerpos (n/%)</b>	<b>Caucásico</b>	<b>Negros</b>	<b>Asiáticos</b>	<b>Mestizos</b>	<b>Valor p</b>
<b>Ds-DNA (+)</b>	67(75.3%)	12 (44.4%)	10 (71.4%)	23 (92%)	P=0.001
<b>(-)</b>	22(24.7%)	15 (55.6%)	4 (28.6%)	2 (8%)	
<b>RNP (+)</b>	19 (22.1%)	20 (74.1%)	3 (21.4%)	7 (28.0%)	P=0.000
<b>(-)</b>	67 (77.9)	7 (25.9%)	11 (78.6%)	18 (72.0%)	
<b>Sm (+)</b>	15 (17.4%)	15 (55.6%)	1 (7.1%)	19 (76.0%)	P=0.000
<b>(-)</b>	71 (82.6%)	12 (44.4%)	13 (92.9%)	6 (24.0%)	
<b>Ro (+)</b>	24 (27.9%)	17 (63.0%)	5 (37.5%)	3 (12.0%)	P=0.001
<b>(-)</b>	62(72.1%)	10 (37.0%)	9 (64.3%)	22(88.0%)	
<b>La (+)</b>	9 (10.5%)	3 (11.1%)	0 (0%)	0 (0%)	P=NS
<b>(-)</b>	77 (89.5%)	24 (88.9%)	14(100%)	25(100%)	
<b>ACA Ig G (+)</b>	31 (37.3%)	6 (22.2%)	1 (7.7%)	16(64%)	P=0.002
<b>(-)</b>	52 (62.7%)	21(77.8%)	12(92.3%)	9(36%)	
<b>ACA Ig M (+)</b>	11 (13.3%)	1 (3.7%)	0 (0%)	6 (24%)	P=NS
<b>(-)</b>	72 (86.7%)	26 (96.3%)	13 (100%)	19 (76%)	
<b>AL (+)</b>	34 (41.0%)	9 (33.3%)	2 (15.4%)	5 (20%)	P=NS
<b>(-)</b>	49 (59.0%)	18 (66.7%)	11(84.6%)	20 (80%)	

DS-DNA= anticuerpos anti DNA doble cadena; SM= anticuerpo anti-Sm; RNP=anticuerpo anti-RNP; Ro=anticuerpo anti-Ro(SS-A); La= anticuerpo anti-La(SS-B); ACA Ig G= anticuerpos anticardiolipinas Ig G; ACA Ig M= anticuerpos anticardiolipinas Ig M; AL= anticoagulante lúpico.

#### **4. C. AAF Y NL**

La prevalencia de los AAF fue de 53.2% (n=83) en nuestros pacientes con NL. 36.5% tenían ACA Ig G, 12.2% ACA Ig M, y 33.8% AL. La distribución de los anticuerpos y asociación se muestra en tabla 6.

**TABLA 6. PERFIL DE AAF**

<i>AAF (+)</i>	<i>Pacientes(n=83)</i>
<i>ACA Ig G</i>	21
<i>ACA Ig M</i>	1
<i>ACA Ig G + Ig M</i>	9
<i>AL</i>	26
<i>AL +ACA Ig G</i>	19
<i>AL+ ACA Ig G +ACA Ig M</i>	7

AAF= Anticuerpos antifosfolípidos, ACA =anticardiolipinas, AL= anticoagulante lúpico

#### **4. C.1. PRESENTACIÓN CLÍNICA Y AAF**

Los datos de la presentación clínica al momento de la biopsia se resumen en la Tabla 6. La presencia de AAF estuvo asociada con hematuria en la presentación de la enfermedad renal a la biopsia ( $p=0.004$ ). La presencia y la cantidad de proteinuria, el nivel de creatinina basal y la alteración de la función renal no se asociaron con los AAF. La presencia de AAF fue asociada a la presencia de HTA. ( $p=0.02$ ).

#### **4. C.2 .HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS EN LA BIOPSIA RENAL**

Los resultados de los hallazgos de las diferentes clases histopatológicas de NL (*ISN/RPS* 2004) se resumen en la Tabla 7. No encontramos asociación entre los diferentes tipos de NL así como en los IA e IC y la presencia de AAF. Tabla 8.

Las lesiones histopatológicas de NSAF que se hallaron con más frecuencia en los pacientes con SAF fueron la hiperplasia miointimal y la atrófica cortical focal ( $p=0.01$ ,  $p=0.001$ ). No se encontró diferencia estadísticamente significativa en las otras lesiones de NSAF y las otras lesiones analizadas como la atrofia tubular, tiroidización, arterioesclerosis, edema vascular, hialinosis, y esclerosis focal. Tabla 9.

#### **4. C. 3. PRONÓSTICO RENAL.**

Los resultados del EDTA-GFR estuvieron disponibles en 70 pacientes en la última visita de seguimiento. El EDTA-GFR fue significativamente menor en los pacientes con ACA Ig G y AL comparados con los pacientes negativos. ( $p=0.029$ ;  $p=0.05$ ). Cuando

analizamos ACA Ig G más AL, e ACA , Ig G más Ig M más AL comparados con los pacientes AAF negativos, el EDTA-GFR fue significativamente menor. (p=0.042; p=0.019). Tabla 10.

No encontramos asociación entre los AAF y los pacientes que duplicaron la creatinina, desarrollaron ERT, y muerte. Tabla 11

El tiempo de la duplicación de creatinina fue de 197.95 meses (media 18.15) en los pacientes AAF (-) y de 213.12 (16.24) en los AAF (+) (Log Rank 0.985) Gráfico 1.

El tiempo a la ERT fue de 217.36 (17.73) en los pacientes AAF (-) y de 216.71 (16.25) en los AAF (+) (Log Rana 0.4688) Gráfico 2. El tiempo a la muerte fue de 215.36 (10.88) en los AAF (-) y de 246.69 (8.18) en los AAF (+) (Log Rank 0,128) Gráfico 3.

**TABLA 7. AAF Y PRESENTACIÓN CLÍNICA**

<i>Presentación Clínica</i>	<i>AAF (+)</i> <i>(n=83)</i>	<i>AAF(-)</i> <i>(n=73)</i>	<i>SIG.</i>
<b>Creatinina basal</b>	88.57±8.2	92.21±7.9	0.753
<b>Proteinuria basal</b>	2.88 ±0.26	3.64 ±0.317	0.064
<b>Albúmina Basal</b>	31.87±0.703	30.48 ±0.75	0.108
<b>Alt. Función renal</b>	48.6% (n=17)	51.4% (n=18)	0.333
<b>Hipertensión Arterial</b>	63.2%(n=43)	36.8%(n=25)	0.020
<b>Hematuria</b>	61% (n=64)	39% (n=41)	0.004

AAF (+)=anticuerpos antifosfolípidos positivos; AAF (-)= anticuerpos antifosfolípidos negativos.

**TABLA 8. AAF Y CLASE HISTOPATOLÓGICA DE NL (ISN/RPS 2004)**

<i>Clase</i>	<i>N° P</i>	<i>AAF +</i>	<i>AAF -</i>
<b>II</b>	13	53.8% (7)	46.2% (6)
<b>III</b>	34	55.8% (19)	44.1% (15)
<b>III+V</b>	3	66.6% (2)	33.3(1)
<b>IVS</b>	31	45.2%(14)	54.8%(17)
<b>IVG</b>	33	57.6%(19)	42.9(14)
<b>IVS+V</b>	9	33.3%(3)	66.7%(6)
<b>IVG+V</b>	7	42.9% (3)	57.1%(4)
<b>V</b>	24	58.3% (14)	41.7%(10)

**p=NS**

NL= Nefritis Lúpica; II=mesangial; III= Proliferativa focal, IVS=Proliferativa difusa segmentaria; IVG=proliferativa difusa global; V= membranosa. AAF (+)=anticuerpos antifosfolípidos positivos; AAF (-)= anticuerpos antifosfolípidos negativos.

**TABLA 9. AAF Y IA E IC EN NL**

<b>IA</b>	AAF(-)	6.70 (4.75)	p=NS
	AAF(+)	5.65 (3.0)	
<b>IC</b>	AAF(-)	2.25 (1.9)	p=NS
	AAF(+)	2.35 (1.6)	

IA=índice de actividad; IC=índice de cronicidad; AAF (+)=anticuerpos antifosfolípidos positivos; AAF (-)= anticuerpos antifosfolípidos negativos.

**TABLA 10. AAF Y LESIONES HISTOPATOLÓGICAS DE NSAF**

<i>Lesión AP</i>	<i>AAF( +)</i> <i>(n=83)</i>	<i>AAF(-)</i> <i>(n=73)</i>	<i>SIG.</i>
<i>Atrofia Tubular</i>	60.9% (28)	39.1%(18)	p=NS
<i>Tiroidización</i>	58.8% (10)	41.2% (7)	p=NS
<i>Aterioloesclerosis</i>	71.4% (10)	28.6% (4)	p=NS
<i>Hiperplasia Miointimal</i>	64.8% (35)	35.2%(19)	p=0.01
<i>Trombosis organizada/MAT</i>	100% (2)	0% (0)	p=NS
<i>Edema</i>	50% (2)	50% (2)	p=NS
<i>Hialinosis</i>	28.6% (2)	71.4% (5)	p=NS
<i>Esclerosis Focal</i>	1,3% (1)	0% (0)	p=NS
<i>Oclusión Vascular</i>	51.7% (77)	48.3%(72)	p=NS
<i>Trombos hialinos</i>	51.7% (77)	48.3%(72)	p=NS
<i>Atrofia Cortical Focal</i>	72.1% (31)	27.9% (12)	p=0.001

Lesión AP= Anatomopatológica; MAT= microangiopatía trombótica; AAF (+)=anticuerpos antifosfolípidos positivos; AAF (-)= anticuerpos antifosfolípidos negativos.

**TABLA 11. AAF Y PRÓNOSTICO (EDTA-GFR)**

<i>Tipo AAF</i>	<i>Nº</i>	<i>FGR</i>	<i>Tipo AAF</i>	<i>Nº</i>	<i>FGR</i>	<i>P</i>
<i>ACA Ig G +</i>	22	73.0±26.0	<i>ACA Ig G -</i>	46	88.6±27.3	0.029
<i>ACA Ig M +</i>	8	73.1±34.1	<i>ACA Ig M -</i>	60	84.9±26.7	0.258
<i>AL +</i>	24	74.7±30.3	<i>AL -</i>	44	88.4±25.1	0.050
<i>ACA Ig G+ AL +</i>	7	66.8±25.7	<i>AAF-</i>	32	90.3±27.0	0.042
<i>ACA Ig G, Ig M, AL+</i>	4	54.3±32.5	<i>AAF-</i>	32	90.3±27.0	0.019

(EDTA-GFR)= Filtrado glomerular marcado con con acido tetraacético etilenediamina Cromo 51. Tres Mbq de [Cr 51] EDTA; AAF= Anticuerpos antifosfolípidos, ACA =anticardiolipinas, AL= anticoagulante lúpico.

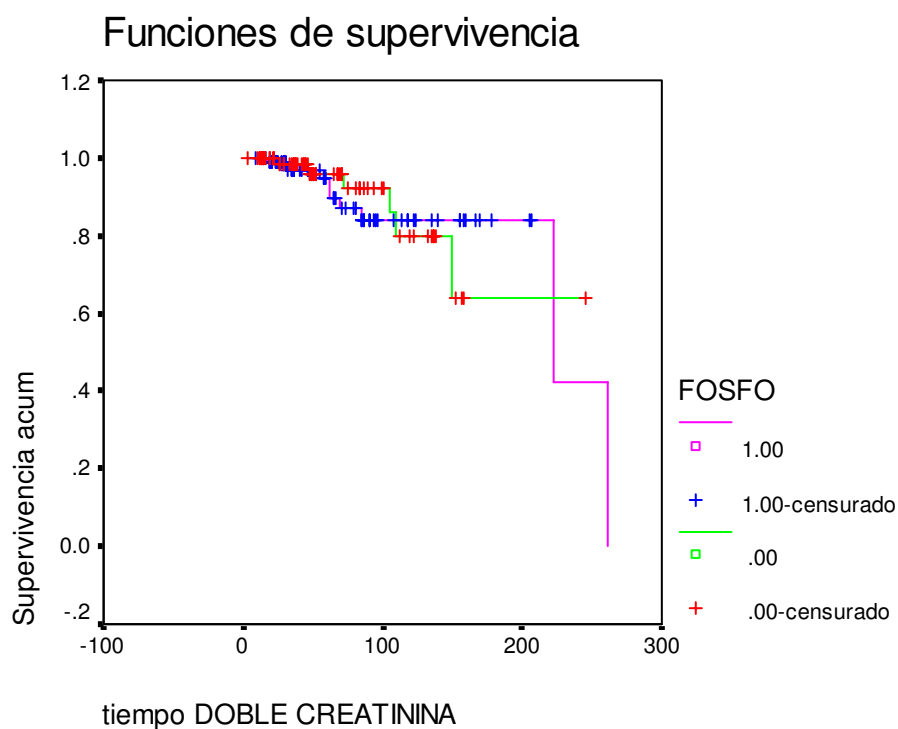


**TABLA 12. AAF Y PRONÓSTICO**

<i>Resultado</i>	<i>AAF (+)</i> <i>(n=83)</i>	<i>AAF (-)</i> <i>(n=73)</i>	<i>SIG.</i>
<i>Doble creatinina</i>	60% (9)	40% (6)	P=0.391
<i>ERT</i>	75%(9)	25%(3)	P=0.140
<i>Trasplante</i>	33.3 %(1)	66.7%(2)	P=0.452
<i>Diálisis</i>	57.1% (4)	42.9% (3)	P=0.571
<i>Muerte</i>	30%(3)	70% (7)	P=0.116

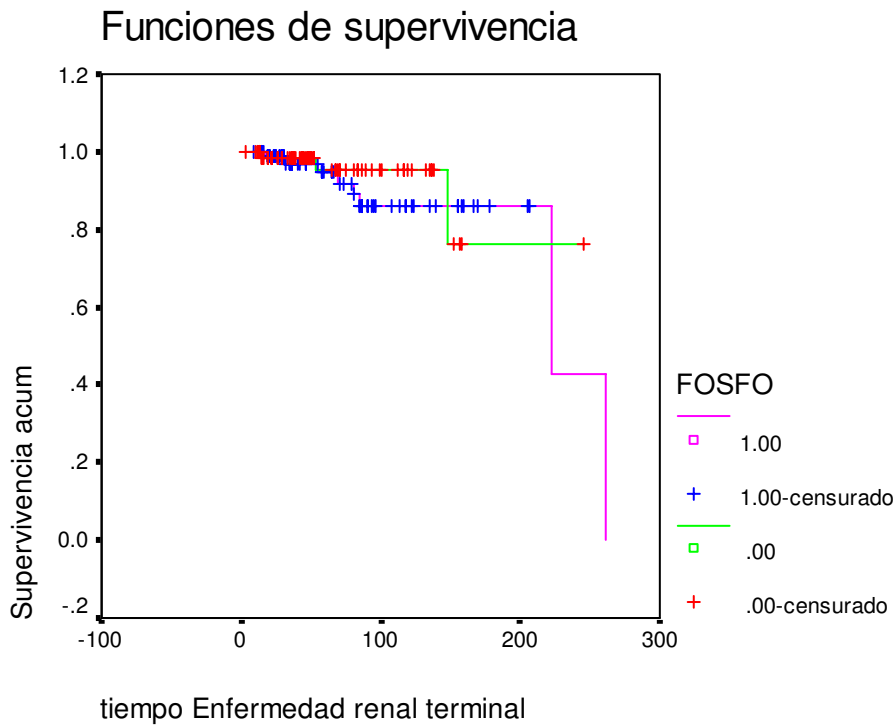
AAF (+)=anticuerpos antifosfolípidos positivos; AAF (-)= anticuerpos antifosfolípidos negativos; ERT=enfermedad renal Terminal.

**GRÁFICO 1. TIEMPO A LA DUPLICACIÓN DE CREATININA EN PACIENTES AAF (+) Y (-)**



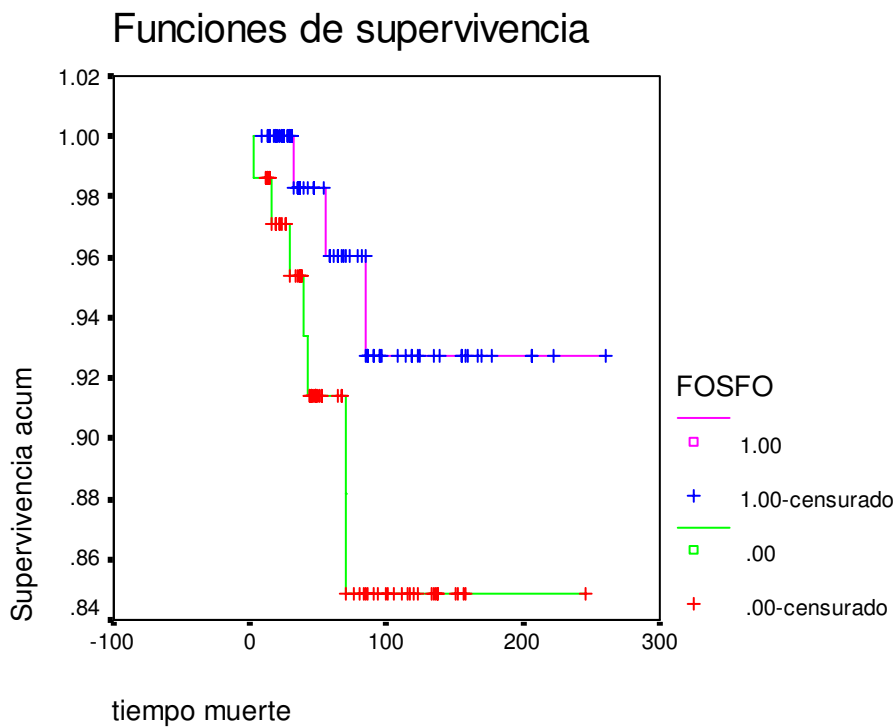
AAF (+---) = anticuerpos antifosfolípidos positivos; AAF(---) = anticuerpos antifosfolípidos negativos

**GRÁFICO 2. TIEMPO A LA ERT EN PACIENTES AAF (+) Y (-)**



AAF (+) = anticuerpos antifosfolípidos positivos; AAF (-) = anticuerpos antifosfolípidos negativos

**GRÁFICO 3. TIEMPO A LA MUERTE EN PACIENTES AAF (+) Y (-)**



AAF (+) = anticuerpos antifosfolípidos positivos; AAF (-) = anticuerpos antifosfolípidos negativos

#### **4. D. NL EN CLASES PROLIFERATIVAS Y NO PROLIFERATIVAS**

##### **4. D.1. PRESENTACIÓN CLÍNICA Y PRONÓSTICO**

Los datos de la presentación clínica al momento de la biopsia se resumen en la Tabla 12. La creatinina basal, el deterioro de la función renal, la HTA, la proteinuria y la hematuria fueron más frecuentes en las clases proliferativas aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa. ( $p=NS$ ). No encontramos diferencias significativas en la duplicación de la creatinina, ERT y la muerte entre ambos grupos. Tabla 13. Con respecto a los IA e IC, el primero se correlacionó con la mortalidad, no encontrándose correlación con el resto de los eventos. Tabla 14.

Con respecto al tiempo a la duplicación de la creatinina, éste fue de 197.95 (18.15) meses para las clases proliferativas y de 242.98 (15.25) meses en las no proliferativas. (Log Rank  $p=0.2792$ ) Gráfico 4. Con respecto al tiempo a la ERT, éste fue de 207.11 meses para las clases proliferativas y 241.08 meses para el otro grupo. (Log Rank  $p=0.447$ ) Gráfico 5. No se registraron muertes en el grupo de las no proliferativas. Gráfico 6. Cuando se analizó la influencia de la presentación clínica así como los IA e IC en el tiempo de duplicación de creatinina en modelo de Cox, el nivel de creatinina basal y la HTA fueron estadísticamente significativos para las formas proliferativas ( $p=0.016$ ;  $p=0.019$  respectivamente). Aplicando el mismo modelo para la ERT hubo una tendencia para el nivel de creatinina basal y la HTA pero no fue estadísticamente significativo ( $p=0.064$ ;  $p=0.082$ ).

##### **4. D.2. REBIOPSIA**

Aunque la evaluación del rol de la realización de una nueva biopsia no estuvo dentro de los objetivos de esta investigación, estos datos estuvieron disponibles para el análisis. 29 pacientes tuvieron una nueva biopsia. 18 fueron caucásicos, 10 negros y 1 asiático. 25 pacientes tuvieron 1 nueva biopsia, y una segunda fue realizada en 4. El intervalo de tiempo entre la primera y segunda fue de 46.5 meses, (6-132), y 21 meses entre la segunda y la tercera (11-54). 18 pacientes tuvieron 1 sola indicación y 11 tuvieron 2. Las principales indicaciones fueron: un aumento o persistencia de proteinuria ( $n=12$ ), un aumento de proteinuria y deterioro de la función renal ( $n=9$ ), deterioro de la función renal ( $n=6$ ), un aumento de proteinuria y exclusión de daño vascular ( $n=1$ ). 23 pacientes demostraron un cambio de clase histológica. 13 cambiaron de clase III a IV, 4 de clase V a clase IV más V, 1 de clase II a III, 5 pacientes clase V permanecieron sin cambios. 20 pacientes cambiaron el tratamiento inmunosupresor, 15 a CF y 4 a MMF. 9 pacientes no

cambiaron el tratamiento inmunosupresor, pero 2 de éstos comenzaron con warfarina por enfermedad vascular renal.

#### 4. E. FACTORES PRONÓSTICOS

En el análisis de los factores predictivos al tiempo de la duplicación de la creatinina la ERT y la muerte por modelo de cox en el análisis univariado la raza mestiza fue estadísticamente significativa para los dos primeros ( $p=0.001$ ,  $p=0.03$ ) respectivamente, así como el nivel de creatinina inicial ( $p=0.05$ ). El IA en la biopsia inicial fue un factor estadísticamente significativo en el modelo cox en el análisis univariado para la mortalidad. ( $p=0.000$ ). Aunque el IC no fue estadísticamente significativo, se observó una tendencia ( $p=0.076$ ). No encontramos ningún factor predictivo en el análisis multivariado.

**TABLA 13. NL. CLASES PROLIFERATIVAS Y NO PROLIFERATIVAS Y CLÍNICA**

<i>Clínica</i>	<i>Proliferativa</i> <i>(n=119)</i>	<i>No Proliferativa</i> <i>(n=24)</i>	<i>SIG.</i>
<b>Deterioro F Renal</b> <b>(S/N)</b>	32/87	3/21	P=0.193
<b>HTA</b> <b>(S/N)</b>	56/63	9/15	P=0.501
<b>Creatinina basal</b>	95.68 (77.99)	79.21(34.27)	P=0.104
<b>Hematuria</b> <b>(S/N)</b>	83/36	15/9	P=0.319
<b>Proteinuria basal</b>	3.31 (2.45)	3.04 (3.1)	P=0.693
<b>Albumina basal</b>	30.80	32.54	P=0.287

Proliferativa= clases histopatológica III y IV; No Proliferativa= Clase V; HTA=Hipertensión Arterial.

**TABLA 14. NL. CLASES PROLIFERATIVAS Y NO PROLIFERATIVAS Y PRÓNOSTICO**

<i>Pronóstico</i>	<i>Proliferativa)</i>	<i>No proliferativa</i>	<i>Sig.</i>
<i>Doble creatinina</i>	86.7%(13)	13% (2)	P=NS
<i>ERT</i>	83%(10)	16.7%(2)	P=NS
<i>Diálisis</i>	85.7%(6)	14.3%(1)	P=NS
<i>Trasplante</i>	66.1%(2)	33.3%(1)	P=NS
<i>Muerte</i>	100%(10)	0%(0)	P=NS

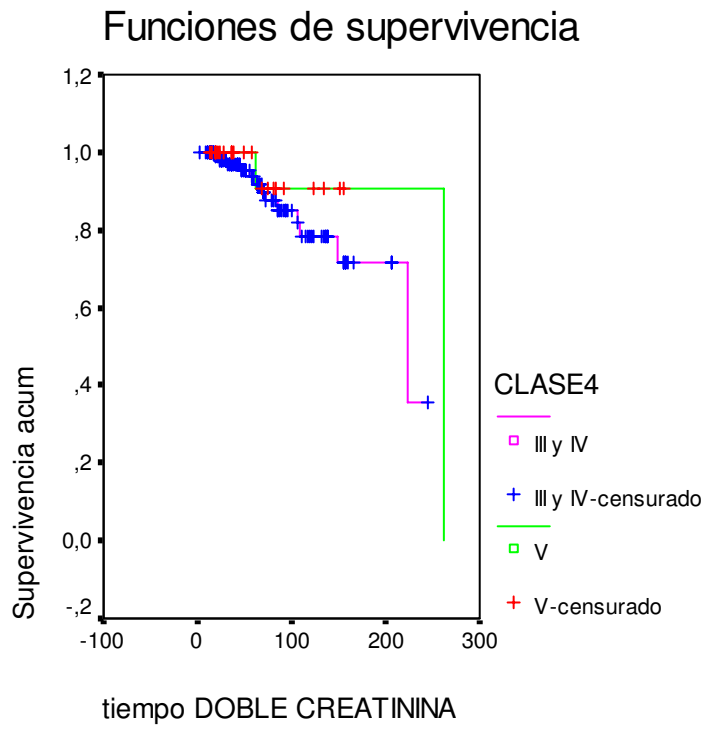
Proliferativa= clases histopatológica III y IV; No Proliferativa= Clase V; ERT=enfermedad renal terminal.

**TABLA 15. NL. CLASE PROLIFERATIVAS Y NO PROLIFERATIVAS: IA E IC**

<i>Pronóstico</i>	<i>IA</i>	<i>SIG.</i>	<i>IC</i>	<i>SIG.</i>
<i>Doble creatinina</i>	Si= 7.07±3.6 No= 6.98±3.5	P=NS	2.36±2.3 vs 2.30±1.7	P=NS
<i>ERT</i>	7.73±3.69 vs 6.0	P=NS	2.09±2.38 vs 2.32 ±1.7	P=NS
<i>Diálisis</i>	7.17±3.7 vs 6.18	P=NS	2.50±2.9 vs 2.30±1.7	P=NS
<i>Trasplante</i>	4.33±3.2 vs 6.18	P=NS	2.67±3 vs 2.30±1.7	P=NS
<i>Muerte</i>	11.9±5.9 vs 5.7	P=0.007	2.50±2.9 vs 2.30±1.7	P=NS

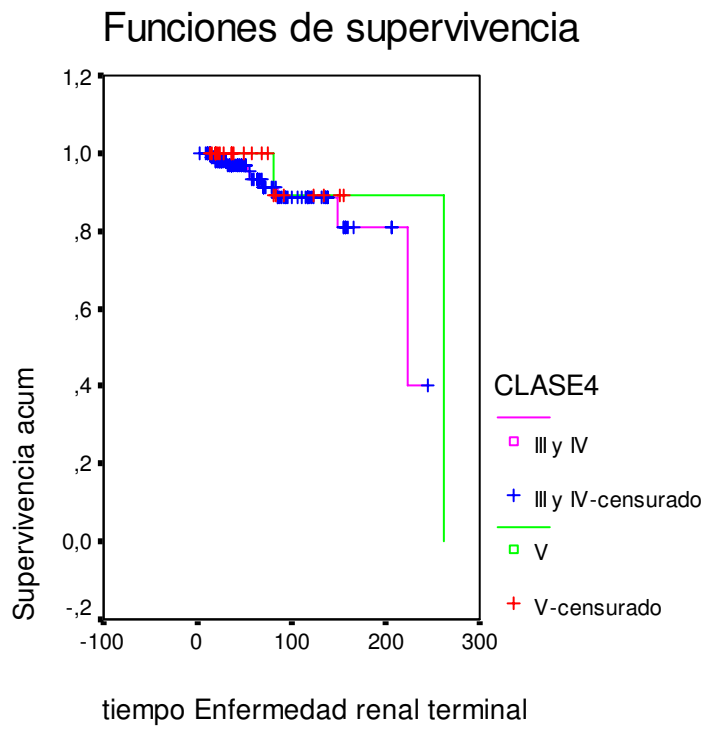
IA=índice de actividad; IC=índice de cronicidad; ERT=enfermedad renal Terminal.

**GRÁFICO 4. TIEMPO A LA DUPLICACIÓN DE LA CREATININA EN CLASES PROLIFERATIVAS Y NO PROLIFERATIVAS**



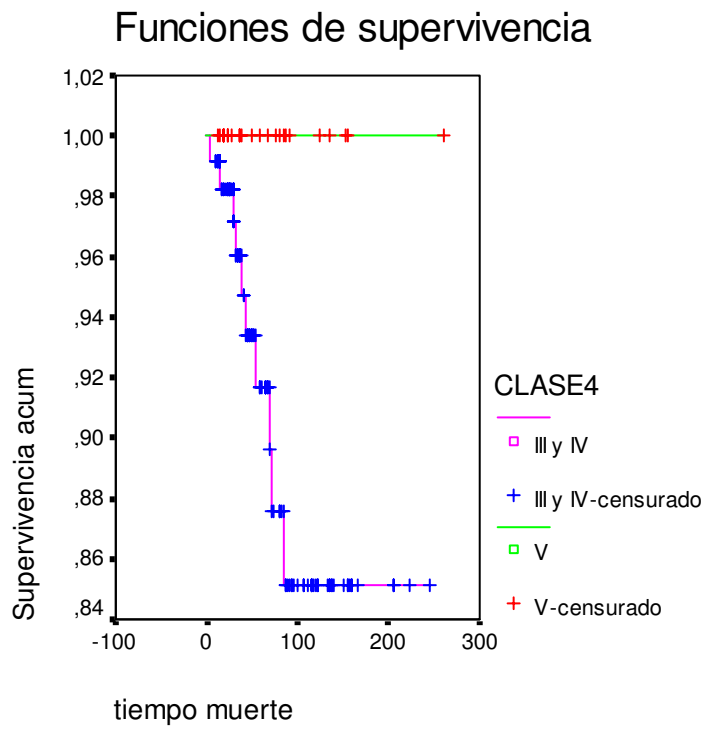
Proliferativa= clases histopatológica III y IV (---); No Proliferativa= Clase V (---)

### GRÁFICO 5. TIEMPO A LA ERT EN CLASES PROLIFERATIVAS Y NO PROLIFERATIVAS



Proliferativa= clases histopatológica III y IV (---); No Proliferativa= Clase V (---); ERT=enfermedad renal terminal.

**GRÁFICO 6. TIEMPO A LA MUERTE EN CLASES PROLIFERATIVAS Y NO PROLIFERATIVAS**



Proliferativa= clases histopatológica III y IV (---) ;No Proliferativa= Clase V (---);



## 5.DISCUSIÓN

### 5. A .FACTORES ASOCIADOS A NL EN UNA POBLACIÓN MULTIÉTNICA

El LES es, desde el punto de vista clínico y serológico, una de las enfermedades autoinmunes más diversas. Puede afectar cualquier órgano ó sistema y expresar un amplio espectro de manifestaciones clínicas e inmunológicas. Numerosos factores como la edad, el sexo, la etnicidad, el perfil de autoanticuerpos, podrían estar asociados con expresiones particulares de la enfermedad y definir algunos subtipos específicos.

Nosotros observamos que los pacientes con NL eran más jóvenes al diagnóstico de LES que los controles. Algunos estudios en pacientes con LES de comienzo en la niñez han sugerido que la edad de manifestación de la enfermedad modifica la expresión de la misma en términos de la presentación clínica. En estudios comparativos, la NL ha sido más prevalente en pacientes con LES de instalación en la niñez que en los adultos. Font et al. compararon 34 pacientes con LES de debut en la niñez con 396 adultos y demostraron una prevalencia más alta de NL en los primeros <sup>(128)</sup>. Carreño et al. en un seguimiento prospectivo de 49 pacientes con LES juvenil y 130 pacientes con LES del adulto encontraron mayor compromiso renal en el grupo joven <sup>(59)</sup>. En la cohorte de EuroLupus que incluyó 1000 pacientes europeos, el 8% desarrolló la enfermedad antes de los 14 años. Este grupo presentó compromiso orgánico más severo como manifestación inicial, siendo la nefropatía el hallazgo más importante. En contraste, en el 9% que desarrolló la enfermedad después de los 50 años, las manifestaciones cutáneas y la nefropatía fueron menos comunes que en los jóvenes <sup>(63)</sup>. Otros estudios prospectivos también han demostrado una baja prevalencia de NL y enfermedad menos agresiva en LES de instalación tardía, requiriendo menor terapia inmunosupresora <sup>(85, 131, 41,232)</sup>.

Por el contrario, un estudio reciente no demostró que la enfermedad renal definida por criterios ACR sea más frecuente en pacientes con LES de la niñez y tampoco diferencias en la severidad de la enfermedad renal a la presentación, la respuesta al tratamiento a los 12 meses, y los índices de daño renal <sup>(260)</sup>.

También Mak et al. compararon 13 pacientes de instalación tardía con 89 en la juventud y no encontraron diferencias en la prevalencia y la severidad entre ambos grupos <sup>(261)</sup>.

La edad también puede influenciar las manifestaciones serológicas del LES. La presencia de anticuerpos anti-Ro y anti-La y bajos títulos de antids-DNA han sido más prevalentes en pacientes con LES de instauración tardía, pero estos hallazgos no han sido confirmados en otros estudios <sup>(61, 259,63)</sup>.

Aunque la explicación de esta aparente variabilidad en la expresión relacionada con la edad, no se conoce completamente, diferencias en los factores demográficos y en la respuesta del sistema inmune relacionada con la edad podrían contribuir así como diferencias en la predisposición genética <sup>(61,259)</sup>.

Por otra parte el LES es una enfermedad con un franco predominio femenino y el sexo masculino representa solo entre un 4 y 18% en los diferentes estudios. Algunos investigadores han sugerido que la enfermedad se comporta diferente entre los distintos sexos. Nosotros hemos encontrado un incremento de la enfermedad renal en hombres, aunque la significación estadística se perdía al hacer el análisis multivariado. Algunos estudios han analizado este aspecto en diferentes países. Ward y Studenski compararon 62 hombres con 299 mujeres en la Universidad de Duke entre 1969 y 1983 y encontraron una frecuencia mayor de convulsiones y enfermedad renal en el sexo masculino <sup>(427)</sup>. Pistiner et al. compararon parámetros clínicos y de laboratorio de 30 hombres contra 434 mujeres observando menos presencia de alopecia y fibromialgia y mayor frecuencia de nefritis e hipocomplementemia en el primer grupo <sup>(332)</sup>. En un estudio de 72 hombres en Taiwan, la enfermedad renal y cutánea fueron muy frecuentes con menos artritis y adenopatía <sup>(70)</sup>. Otra serie danesa evaluó 51 hombres versus 454 mujeres encontrando mayor presencia de serositis, nefropatía y complicaciones en el sexo masculino <sup>(206)</sup>. En Latinoamérica, Molina et al. compararon 107 pacientes varones procedentes de ciudad de México y Colombia contra 1209 mujeres, encontrando una mayor prevalencia de anti-ds-DNA, enfermedad renal, trombosis vascular y una mayor ingesta de esteroides <sup>(291)</sup>. Por otra parte, Kaufman et al. también encontraron una mayor prevalencia de enfermedad renal y trombocitopenia en su estudio, pero sin ninguna diferencia en otros parámetros clínicos, serológicos y de laboratorio <sup>(221)</sup>. Recientemente un estudio de Tailandia comparó 37 hombres comparados con 74 controles femeninos de la misma edad, encontrando una disminución de la prevalencia de alopecia, artralgias, y psicosis y un aumento de trombocitopenia e insuficiencia renal en el grupo de varones <sup>(294)</sup>.

Sin embargo otros estudios no han observado estas diferencias <sup>(63, 136, 283, 330,50)</sup>. En la cohorte de EuroLupus no se encontraron diferencias significativas entre ambos sexos aunque los hombres presentaron más serositis y artritis <sup>(63)</sup>. Fries y Holman observaron que los varones tenían más ds-DNA y enfermedad cutánea y Urowitz et al. encontraron más pleuritis aunque menos fotosensibilidad, alopecia y trombocitopenia <sup>(136,283)</sup>. Por otra parte, Petri et al. hallaron en su cohorte un mayor número de episodios trombóticos, bajo nivel de complemento, anemia hemolítica, y convulsiones <sup>(330)</sup>.

Las discrepancias entre los estudios podrían reflejar diferencias entre los distintos grupos étnicos, estudios entre un solo centro y varios, el pequeño número de varones afectados, diferencias en la atención entre hospitales de referencia y de atención primaria, y la correcta evaluación de los datos clínicos. Si bien en nuestro estudio el número de paciente de sexo masculino fue pequeño, se incluyeron pacientes de 2 centros de referencia y de diferentes grupos étnicos.

En este estudio encontramos una fuerte asociación de la NL con los diferentes grupos étnicos, con un marcado aumento del riesgo para el grupo de los negros (OR 12.2), y los asiáticos (OR 5.8) cuando se compararon con los caucásicos. Los mestizos, sin embargo, (1.2) tuvieron un riesgo casi similar a éstos últimos.

Distintos grupos étnicos y raciales han sido encontrados con mayor frecuencia y severidad en numerosas enfermedades. En la actualidad existe evidencia acumulada de que el LES es más frecuente y más severo en poblaciones no caucásicas que incluyen afroamericanos (122,344), hispanos (6,314), asiáticos (408, 135,357), y de las islas del Pacífico (377,375), cuyo resultado es independiente de que estas poblaciones hayan sido estudiadas en su país de origen o en otros (293).

Es importante destacar, que el término raza y etnicidad han sido utilizados con mucha frecuencia indistintamente, y son de hecho diferentes. El concepto de raza proviene de la experiencia europea de identificar y organizar poblaciones que ellos encontraron en la rápida expansión de sus imperios (84). Desde esos tiempos, la definición comenzó a abarcar elementos biológicos y sociales en distintas proporciones. Actualmente el concepto de raza tiene una implicancia biológica que resulta de un grupo de seres humanos dentro de un grupo racial que son genéticamente homogéneos comparados con individuos de otros grupos. Sin embargo, la homogeneidad es sólo posible en animales de laboratorio o en comunidades humanas aisladas (9). Por otro lado, los antropólogos han resaltado que no sería correcto categorizar a los seres humanos en grupos raciales definidos (275,276). En oposición al concepto de raza, la etnicidad incluye un concepto más amplio en el que las posibles características biológicas, junto a las sociales, culturales, y demográficas tienden a agrupar individuos. Estos factores no genéticos, que son compartidos con frecuencia por la mayoría de los miembros de un grupo étnico minoritario puede tener influencia en las enfermedades crónicas como el LES y también en su curso y pronóstico. Por ejemplo, los individuos de grupos minoritarios tienden a tener menor nivel socioeconómico, de educación y trabajos con bajos salarios comparados con el grupo social dominante. Estas características suelen estar asociadas a hábitos no saludables como fumar, falta de

ejercicio, inadecuada educación y deficiente acceso a la cobertura de salud, y menos adherencia al tratamiento. A pesar de estas consideraciones sobre el impacto de la etnicidad en la enfermedad, la categorización de poblaciones en diferentes grupos étnicos puede ser útil en estudios epidemiológicos y clínicos y permite además la formulación de hipótesis que exploren que factores relacionados a la etnicidad producen diferencias en una enfermedad dada. Históricamente, los factores no genéticos relacionados a la etnicidad han sido especialmente difíciles de determinar por las complejas influencias genéticas en el LES <sup>(53,348)</sup>.

En nuestro estudio hemos encontrado que los pacientes de etnia negra tienen una alta prevalencia de NL. Estos resultados confirman los de otros trabajos previos <sup>(82, 10, 105, 145, 20, 313, 31, 272, 323,376)</sup>. En algunos de ellos ésta se manifestó con mayor severidad y peor pronóstico. Sin embargo muchos de estos estudios representan revisiones de casos de una institución en los que no se realizaron comparaciones directas con poblaciones caucásicas, y el estado socioeconómico no fue evaluado. Dos estudios recientes en Inglaterra han encontrado resultados divergentes en este punto <sup>(272,187)</sup>. Uno de ellos encontró que los pacientes afrocaribeños tenían más NL que los caucásicos y que esto podría ser explicado por las diferencias socioeconómicas <sup>(272)</sup>, mientras que en el otro esta conclusión no se confirmó <sup>(187)</sup>. La potencial influencia del nivel socioeconómico en la NL probablemente varía entre los diferentes países en los que existe un sistema nacional de salud y aquellos donde predominan los sistemas privados, factor que limita la generalización de los datos. Independientemente del estado socioeconómico, existe un efecto neto de la etnicidad africana en la NL. Sin embargo es difícil conocer exactamente si éste es debido a una base biológica o a las características culturales y psicosociales relacionadas con la enfermedad. Es importante destacar, la demostración de ciertos polimorfismos de alelos FC $\gamma$ R2A en pacientes con NL afroamericanos, lo que apoyaría una base genética en la mayor frecuencia de NL en la descendencia africana <sup>(356)</sup>. Por otra parte Bastian et al. también demostraron que el polimorfismo DRB1\*1503 estaba unido a LES en pacientes afroamericanos y asociado independientemente a la aparición de proteinuria o incremento de la misma en pacientes con NL en la cohorte de LUMINA <sup>(30,31)</sup>.

En la cohorte de LUMINA la presencia de NL estaba aumentada en pacientes afroamericanos. Recientemente, Alarcón et al. han evaluado la contribución de las diferentes variables en la NL en el LUMINA concluyendo que las variables socioeconómicas lo harían en un 14%, las biológicas (genéticas) en un 37%, y permanecen inexplicadas en un 50% <sup>(5)</sup>. En nuestro estudio no evaluamos el nivel socioeconómico por

la falta de datos al respecto al ser un trabajo de naturaleza retrospectiva y por pertenecer los pacientes a diferentes sistemas de salud, lo que no permite una evaluación adecuada de este dato.

El riesgo de desarrollar nefropatía también fue levemente más alto en nuestros pacientes asiáticos, que incluían chinos, japoneses e indios, que en los caucásicos. La NL fue diagnosticada en un 64 y 69.3% en distintas series en países asiáticos. Algunas de éstas en Asia e Inglaterra sugieren que la frecuencia de NL es mayor entre la población china, en los asiáticos y en el subcontinente indio en comparación con los caucásicos <sup>(287, 107, 243, 323, 42, 289,424)</sup>. Sin embargo, un reciente estudio de Canadá no pudo demostrar esta diferencia <sup>(211)</sup>.

En Nueva Zelanda un estudio retrospectivo realizado recientemente también encontró una fuerte asociación entre el desarrollo de NL y los grupos étnicos maori y del Pacífico <sup>(50)</sup>.

Los pacientes mestizos de la ciudad de Córdoba tuvieron un riesgo levemente mayor que los caucásicos. Los pacientes hispanos han sido estudiados más recientemente que los afroamericanos, y la mayoría de estos estudios muestran una incidencia más alta que los caucásicos <sup>(7, 31,334)</sup>. Sin embargo, es importante enfatizar que los estudios con pacientes hispanos deben ser cuidadosamente analizados, y la composición de la población incluida determinada antes de generalizar las conclusiones a todos <sup>(55)</sup>. Los datos del estudio LUMINA muestran un aumento de la frecuencia de NL en hispanos de ancestros mejicanos (con altos niveles de genes de ancestros amerindios), contrariamente a lo que sucede con los hispanos de Puerto Rico (con altos niveles de genes de ancestros africanos) que tienen compromiso similar a los caucásicos <sup>(30,415)</sup>. Cuando los hispanos de LUMINA fueron comparados con los residentes en España, también encontraron una alta incidencia de NL con una enfermedad más severa en los hispanos con ancestros mejicanos <sup>(54)</sup>. Por otro lado, otros estudios con hispanos con menos amerindio y más herencia africana como los cubanos de Florida <sup>(80)</sup> y los afro-latinoamericanos del norte, centro y sur de América, tienen un aumento de NL <sup>(334)</sup>. En la cohorte prospectiva multinacional GLADEL se compararon las manifestaciones clínicas y de laboratorio de 3 grupos étnicos. Blancos (individuos con ancestros europeos), mestizos (individuos nacidos en Latinoamérica con ancestros blancos y amerindios) y Afro-latinoamericanos (individuos nacidos en Latinoamérica con 1 ancestro africano independiente de si el otro ancestro era blanco o amerindio). Este grupo encontró LES más severo en mestizos y afro latinoamericanos que en los blancos expresados por una mayor frecuencia de enfermedad renal, pericarditis, poliadenopatía y lesiones discordes <sup>(334)</sup>. El riesgo fue prácticamente similar en nuestros

mestizos con respecto a los caucásicos y no alcanzó la diferencia de otros estudios. Este hecho podría ser explicado por la fuerte influencia de la inmigración y antecesores europeos y la escasa proporción de amerindios en la población de Córdoba.

La significancia clínica de los autoanticuerpos y su relación con los diferentes subtipos de la enfermedad han sido materia de estudio y discusión en las enfermedades reumáticas. Desde su descubrimiento en 1957, la génesis y el papel en la patogénesis y diagnóstico de los anticuerpos anti-ds-DNA han sido extensamente estudiados en humanos y en modelos animales. A pesar del avance en el conocimiento de los anticuerpos anti-ds-DNA, la determinación de cuáles serían patogénicos e inducirían a la enfermedad renal ha sido difícil. Uno de los primeros requisitos de los autoanticuerpos para inducir nefritis es la capacidad de depositarse en el tejido renal y producir inflamación <sup>(418)</sup>. La capacidad de los anti-ds-DNA de localizarse en el riñón podría ser explicada por tres mecanismos <sup>(342)</sup>. Los anti-ds-DNA reactivos pueden formar complejos DNA/nucleosomas de la liberación de las células apoptóticas. Estos inmunocomplejos pueden depositarse en el riñón e iniciar una cascada inflamatoria. La principal evidencia para esta hipótesis es la presencia de complejos inmunes DNA-anti DNA en el suero de pacientes con LES y de anticuerpos anti-DNA en riñones enfermos <sup>(331, 265,440)</sup>. La segunda teoría conocida como teoría antigénica, propone el depósito de los anti-ds-DNA por reaccionar con los DNA/nucleosomas atrapados en la membrana basal glomerular. El atrapamiento de DNA/nucleosoma en la membrana basal glomerular ha sido atribuido a interacciones entre la carga negativa del DNA y la positiva de la membrana basal glomerular <sup>(38)</sup>. El tercer mecanismo se basa en la reactividad cruzada entre diferentes antígenos del riñón y los anti-ds-DNA. Los anticuerpos anti-ds-DNA nefritógenos han mostrado tener reactividad cruzada con la alpha-actina, laminina y el heparan sulfato <sup>(97, 445, 233,37)</sup>. En efecto, una de las características más importantes de estos anticuerpos patogénicos es su polireactividad <sup>(235)</sup>. Sin embargo la capacidad de estos anticuerpos de reaccionar con diferentes ligandos permite la pregunta de si los DNA/nucleosoma son los antígenos iniciadores. Datta et al. han demostrado que los nucleosomas pueden iniciar las respuestas de anticuerpos anti-ds-DNA en modelos animales <sup>(92)</sup>. Por otro lado, otros estudios han demostrado que otros antígenos diferentes al DNA pueden iniciar respuestas de anticuerpos anti-ds-DNA. Deshmukh et al. han propuesto un modelo de disseminación del epítipo molecular dentro del complejo de ribonucleoproteínas pequeñas. La inmunización en ratones con SmD induce la disseminación de epítipo intermolecular de la célula B a el A-RNP, SmB, y la U1-RNA asociada a la proteína 70kDa, y sorprendentemente el ratón también desarrolló

anticuerpos anti-ds-DNA <sup>(100,101)</sup>. Cuando el suero fue deplecionado de anticuerpos SmB, la reactividad de los anti-ds-DNA disminuyó en un 15 a un 20%, indicando reactividad cruzada. Por otra parte la absorción del del suero con SmB redujo la reactividad del anti-ds-DNA en un 40% <sup>(25, 100)</sup>.

Una de las mayores implicancias de estos hallazgos es que los anticuerpos patogénicos con reactividad cruzada al ds-DNA, pueden aumentar dentro de los antígenos RNP durante la diseminación del epítoto. Esta hipótesis también es avalada por la coexistencia de anti-Sm y anti-ds-DNA en algunos pacientes con LES y los anticuerpos monoclonales en humanos y ratones han demostrado reacción cruzada entre antígenos Sm/RNP y DNA.

Además, los anticuerpos anti-ds-DNA con reacción cruzada a SmD fueron los anticuerpos más patogénicos <sup>(235)</sup>.

También Deshmukh y su grupo han demostrado que NL de curso fatal puede desarrollarse en ausencia de anticuerpos anti-ds-DNA. En modelos animales identificaron intervalos genéticos que contribuían a la producción de anticuerpos anti-ds-DNA (cromosoma 4) y a glomerulonefritis crónica (cromosoma 1). En ratones que llevaban un pequeño intervalo del cromosoma 4 con resistencia al lupus no desarrollaron anticuerpos asociados como ANA y anti-ds-DNA. Sin embargo estos animales tuvieron depósitos de complejos inmunes en el riñón y desarrollaron eventualmente NL fatal. Anticuerpos extraídos del riñón no reaccionaron con ds-DNA pero sí con algunos antígenos del riñón en western blots <sup>(432)</sup>. Estos datos demuestran claramente que otras especificidades de autoanticuerpos distintas al que reaccionan con el ds-DNA son nefritógenas. Christensen et al. empleando ratones deficientes del TLR9 encontró resultados similares. La producción de anticuerpos anticromatina y anti-ds-DNA fue inhibida en los ratones deficientes de TLR9 y sin embargo desarrollaron NL <sup>(72)</sup>. Ambos estudios demuestran que la reactividad al ds-DNA no es un requisito característico para el potencial nefritógeno de los autoanticuerpos. Con respecto al depósito de los complejos inmunes, un estudio reciente también indica que las células T que infiltran el riñón jugarían un papel crítico y el mecanismo de daño renal iniciado por autoanticuerpos podría ser perpetuado por la infiltración de células B y T <sup>(26)</sup>. Nosotros encontramos que la presencia de anti-ds-DNA fue un factor independiente asociado a la presencia de NL tanto en el análisis uni y multivariado. La asociación de los anticuerpos anti-ds-DNA con la NL ha variado en los distintos estudios y la introducción de diferentes sustratos de DNA y métodos de su medición han contribuido con esta diferencia. En nuestro estudio, el método utilizado fue el Farr. Este detecta DNA de alta afinidad y si bien tiene una baja sensibilidad, se asocia con NL y actividad de la

enfermedad. Otros métodos como el ELISA encuentran entre un 70 al 85% de positividad para ds-DNA en pacientes con LES, pero éstos se correlacionan menos con ciertas características clínicas y con la actividad de la enfermedad. Por otra parte, un estudio reciente ha sugerido que el Farr debería usarse en la práctica clínica <sup>(11, 418, 222, 347, 306,203)</sup>.

La disociación entre los títulos de anti-ds-DNA y la NL también se ha observado en humanos y modelos animales. Ratones deficientes de STAT4 desarrollaron nefritis en ausencia de altos títulos de anticuerpos anti-ds-DNA y algunos estudios sugieren que la discrepancia entre los títulos y la glomerulonefritis podría ser explicada por la diferencia en la capacidad de estos anticuerpos de depositarse en el riñón e iniciar una respuesta inflamatoria <sup>(205)</sup>. Madaio et al. han encontrado que las subclases de anticuerpos y la localización de los depósitos en el riñón determinan su patogenicidad. Todos estos datos sugieren que los diferentes métodos para determinar la capacidad de los anti-ds-DNA de reaccionar con diferentes blancos tisulares e inducir sus efectos patogénicos deberían ser desarrollados, y los antígenos con reactividad cruzada identificados y evaluados para su uso diagnóstico y pronóstico <sup>(257)</sup>.

Nuestra investigación demuestra que los anticuerpos anti-Sm son un importante factor en el desarrollo de NL. Los anti-Sm son detectables entre un 5 a un 30% de pacientes con LES. En estudios en Estados Unidos la prevalencia fue alrededor del 30%, en cambio en algunos estudios europeos, ésta fue del 5 al 10% <sup>(35, 63,282)</sup>. Las diferencias étnicas y los métodos de detección pueden explicar estos resultados. Los anti-Sm así como los anti-RNP pueden ser detectados por diferentes métodos que incluyen la CIE, inmunoblot y ELISA. La CIE fue el primer método propuesto para la medición de estos anticuerpos y es utilizado ampliamente en la actualidad. El origen de los antígenos usados es habitualmente de extracto de timo de rata. Este método es caracterizado por una baja sensibilidad y una alta especificidad. En los últimos años, diferentes métodos de ELISA han estado disponibles, teniendo mayor sensibilidad para la detección de estos anticuerpos. Sin embargo, la significancia clínica de este aumento de la sensibilidad no ha sido totalmente establecida, particularmente en las manifestaciones de la enfermedad previamente asociadas usando técnicas de CIE <sup>(35,282)</sup>. Lopez Longo et al. estudiaron las manifestaciones clínicas asociadas con la presencia de anti-Sm y anti-RNP identificados por diferentes técnicas. Ellos encontraron que los anti-Sm presentaron más Fenómeno de Raynaud y enfermedad renal cuando fueron medidos por CIE, mientras que éstos se asociaron con artritis y menor incidencia de insuficiencia renal crónica por ELISA <sup>(254)</sup>. En nuestro estudio, la presencia de los anticuerpos ENA fueron evaluados por CIE. Ésta fue la técnica Standard



usada en los primeros pacientes estudiados y se decidió continuar con la misma para mantener la consistencia a través del estudio y encontramos una frecuencia del 32% en nuestros pacientes con NL.

La presencia de anticuerpos anti-Sm ha sido asociada a enfermedad renal. Janwityanuchit et al. estudiaron 131 pacientes tailandeses con Sm y encontraron que los pacientes con LES con la sola presencia de éste tenían más manifestaciones del sistema nervioso, mientras que el compromiso renal fue más frecuente en el grupo con anti-ds-DNA más anti-Sm (92.9%)<sup>(209)</sup>. La presencia de ambos anticuerpos en la NL no sería sorprendente y estaría avalada por algunos estudios ya mencionados en los cuales los anticuerpos patogénicos con reactividad cruzada al ds-DNA pueden aumentar dentro de los antígenos RNP durante la diseminación del epítotope. Además, los anticuerpos anti-ds-DNA con reacción cruzada a SmD fueron los anticuerpos más patogénicos<sup>(100, 235, 101,25)</sup>.

Los anticuerpos anti-Sm están asociados a la presencia de anti-RNP en la mayoría de los casos. Los anti-RNP son detectados en el 25 al 47% de los pacientes con LES y asociados al fenómeno de raynaud<sup>(282)</sup>. Su presencia se ha encontrado con baja frecuencia y en enfermedad menos severa en la NL<sup>(402,119)</sup>. Nosotros encontramos una mayor frecuencia de anti RNP en pacientes con NL, pero esta no permaneció en el análisis multivariado.

Un estudio de Farber et al. ha sugerido que los anti-RNP se asocian con baja prevalencia en la NL<sup>(119)</sup>. Por el contrario Bastian et al. en la cohorte LUMINA encontraron una asociación entre los anti-RNP y la NL<sup>(31)</sup>. Es interesante destacar, que la diferencia en estos resultados no puede ser explicada por los métodos usados ya que los anticuerpos fueron detectados por inmunodifusión en ambos estudios, el cual además ha probado ser más específico que el ELISA.

Las diferencias étnicas encontradas en los pacientes incluidos podrían explicar estos resultados. Mc Carty et al. han descrito un perfil serológico distintivo caracterizado por la presencia de anti-Sm, anti-RNP y anti Ro en mujeres negras con NL<sup>(270)</sup>. Por otra parte, Arnett et al. evaluaron la frecuencia de los anticuerpos anti Sm, RNP, Ro, y La determinados por CIE y ELISA en 106 pacientes caucásicos y 60 negros con LES. Ellos encontraron que la presencia de anti-Sm era más frecuente en negros comparado con los caucásicos (25% vs 10%; p=0.02), así como la presencia de RNP (40% vs 23%; p=0.03) y la de anti Sm más RNP (52%vs 26%=0.003)<sup>(17)</sup>. En Chicago, Korbet et al. evaluaron recientemente las diferencias raciales en la presentación y el pronóstico en 86 pacientes con NL severa en una población compuesta por 63% de blancos, 24% negros y el 13% de otros grupos, encontrando una proporción mayor y significativa de anti-Ro, Sm y RNP en

pacientes negros comparados con blancos. La presencia de la combinación de la positividad para los tres fue también mayor en los negros <sup>(234)</sup>. En Canadá, Hitchon et al. evaluaron recientemente la importancia de la etnicidad, el estado socioeconómico y el perfil de autoanticuerpos como factores pronósticos. Esta población incluyó pacientes con LES caucásicos, asiáticos-orientales, y americanos nativos, teniendo una mayor frecuencia de Sm y RNP los asiáticos-orientales y los americanos nativos comparados con los caucásicos. Estas diferencias no fueron encontradas para los anti-Ro, La, ANA y anti-ds-DNA en los tres grupos. Por otro lado, la presencia de Sm y RNP se asociaron con compromiso renal y del SNC pero la presencia de ambos no incrementó este riesgo <sup>(176)</sup>. Isenberg et al. también trataron de determinar si algún perfil especial de anticuerpos en las mujeres negras estaba asociado a diferentes expresiones de la enfermedad, encontrando mayor frecuencia de Sm, RNP en este grupo comparada con las caucásicas <sup>(202)</sup>.

En concordancia con estos estudios, nosotros encontramos una mayor frecuencia de anti-Sm, anti-RNP y anti-Ro en los pacientes negros (todos afrocaribeños) con NL. Sin embargo otros estudios no han encontrado evidencia de este perfil serológico <sup>(212,139)</sup>. García et al. caracterizaron el perfil de autoanticuerpos en 222 pacientes afroamericanos con y sin NL. Ellos encontraron que los anti-ds-DNA fueron significativamente diferentes en ambos grupos, y sólo el 14% con NL presentaron anti-Ro, Sm y RNP pero sin la presencia de anti-La no logrando significación. Este grupo concluyó que los pacientes afroamericanos no presentan un perfil distintivo de anticuerpos <sup>(139)</sup>. Otros autores han sugerido que los factores genéticos pueden conducir a las diferencias étnicas en la severidad y actividad de la enfermedad, relacionadas éstas a diferentes perfiles inmunológicos entre los pacientes blancos y los negros <sup>(5)</sup>. Los HLA-DRB1\*15 fueron encontrados solamente en población negra y están fuertemente asociados a la enfermedad renal <sup>(345)</sup>. Por otra parte la presencia de FcγRIIA-R131, que es una variante alélica del receptor Ig G FcγRIIA, que produce disminución de la capacidad de eliminar inmunocomplejos, es mucho más frecuente en pacientes negros con NL <sup>(356)</sup>.

Es importante destacar que la correlación de autoanticuerpos con hallazgos distintivos de la enfermedad ha remarcado el papel patogénico de estos. Sin embargo, a pesar del extenso conocimiento de la especificidad de la respuesta autoinmune en el LES, poco es el conocimiento acerca de los blancos particulares de los autoanticuerpos.

Un avance nuevo e importante en esta área es el rol de los TLR en la estimulación de las células B autoreactivas <sup>(72,242,73)</sup>. Algunos estudios demostraron que el reconocimiento del DNA por los TLR9 es necesario para la producción espontánea de autoanticuerpos anti-ds-

DNA. Por otro parte, otros estudios indican que el TLR7, un receptor para ssRNA, es necesario para la proliferación in vitro de células B específicas para antígenos que contengan RNA, explicando potencialmente la producción de otra clase de autoanticuerpos. Sin embargo, Christensen et al. empleando ratones deficientes del TLR9 encontraron que la producción de anticuerpos anticromatina y anti-ds-DNA fue inhibida en los ratones deficientes de TLR9 y sin embargo éstos desarrollaron una enfermedad renal severa con un aumento del tamaño y la celularidad glomerular y del depósito de proteínas produciendo una glomerulonefritis con infiltración intersticial de linfocitos y monocitos, fundamentalmente en los grandes vasos, ocasionalmente invadiendo la corteza. Ellos también determinaron si la presencia de anticuerpos contra el complejo RNA estaba asociada a enfermedad más severa y los ratones deficientes y no de TLR9 fueron agrupados en base a la presencia de anti-Sm o anti-Sm-RNP. Así encontraron que la presencia de anticuerpos contra antígenos RNA se correlacionó con un aumento de la activación inmune, incrementando la expresión de MHC clase II por las células dendríticas, exacerbación de la enfermedad cutánea y un aumento de la activación de células T CD4 esplénicas en los ratones deficientes de TLR9. En analogía a los TLR9, este grupo también generó ratones deficientes de TLR7 encontrando un deterioro en la producción de anticuerpos contra complejos RNA y este bloqueo fue específico para los anticuerpos contra antígenos que contienen RNA que fue demostrado al no disminuir los anticuerpos DNA o anti-cromatina <sup>(72,73)</sup>.

Por otra parte en ausencia de anti DNA y de anti-cromatina, los ratones deficientes de TLR9 desarrollaron un repertorio de autoanticuerpos contra otros antígenos nucleares y citoplasmáticos, produciendo distintos patrones de ANA que sugirieron un aumento de autoanticuerpos contra autoantígenos citosólicos, particularmente los que contenían RNA. Es posible entonces que en ausencia de TLR9, las células B anti-DNA permanezcan en un estado de anergia, permitiendo a otras células B autoreactivas competir por antígenos, conduciendo a un aumento compensatorio de anticuerpos anti-Sm o RNA. Todos estos hallazgos sugerirían que la inhibición terapéutica de los vías de los TLR podrían tener un efecto beneficioso en pacientes con LES <sup>(72,73)</sup>.

Los anticuerpos anti-Ro son observados con frecuencia en el LES, en el LES con deficiencia homocigoto del complemento (C2 y C4), en la superposición del LES con síndrome de Sjogren (SS), LECS, lupus neonatal y cirrosis biliar primaria. En cambio, los anti-La están estrechamente relacionados al SS <sup>(133)</sup>. En el contexto del LES, los anti-Ro están asociados a la artropatía deformante no erosiva, denominada artropatía de Jaccoud

(134,385). Algunos estudios también han sugerido una fuerte asociación con LES de instalación tardía, es decir después de los 50 años. Este subtipo particular de LES ha sido considerado como una enfermedad benigna, caracterizado por un incremento de las manifestaciones neurológicas, enfermedad intersticial pulmonar, presencia de anticuerpos anti-Ro y anti-La, y menor frecuencia de compromiso renal (61,63). La neumonitis intersticial ha sido estrechamente relacionada a los anticuerpos anti-Ro en diferentes estudios, pero no hay evidencia de un efecto directo de los mismos en la patogénesis del compromiso pulmonar (3, 169,208).

La sola presencia de anti-Ro o en combinación con el anti-La, es poco común en la NL. Sin embargo, la sola presencia de los anti-Ro ha sido asociada con una prevalencia alta de nefritis (163,430). Korbet et al. en un estudio reciente no sólo encontró una mayor proporción de anti-Ro junto a anti-RNP y Sm en pacientes negros sino que su presencia fue un factor predictor de mal pronóstico en esta población (234).

La estrecha asociación de estos anticuerpos con diferentes subtipos de la enfermedad sugiere que ellos pueden estar directamente comprometidos en la patogénesis del daño tisular. Se ha sugerido su papel en la patogénesis en la NL por el hallazgo de altos títulos en riñones de pacientes con enfermedad progresiva (258). Sin embargo no se encontró correlación entre la presencia de anti-Ro y el compromiso renal.

Otras investigaciones han sugerido el papel protector de anti-La sobre el desarrollo de NL. Recientemente Malik et al. estudiaron el efecto de los anti-La en la NL en una cohorte de 1100 pacientes con LES, encontrando un riesgo menor de compromiso renal y convulsiones y un riesgo mayor de artritis (263). A pesar de que en nuestros pacientes los anticuerpos anti-La tuvieron una asociación negativa con la NL, ésta no persistió en el análisis multivariado.

La presencia de anticuerpos anti-Ro, con o sin la presencia de anti-La, ha sido asociada con los HLA DR3 y DR2 (158,436). Por otra parte otros usando la restricción de la longitud de un fragmento del polimorfismo indicó que los alelos clase HLA DQ promueven una respuesta de anticuerpos anti-Ro tanto en población caucásica como en la negra. Por otro lado, los pacientes con SS y superposición de LES /SS tienen una alta frecuencia del alelo \*0301 del DRB1 y la producción de anticuerpos anti-Ro y la con el el HLA DR 15 /DQ2. Otros estudios posteriores sugieren que los HLA clase II inducen la diseminación del epítope, favoreciendo el HLA DR 15 la síntesis del Ro y el HLADR3 la síntesis de ambos (266, 161,150).

Los AAF pueden ser detectados en un 26 a un 40% de pacientes con LES y están asociados con trombosis arterial y venosa recurrente, muerte fetal, trombocitopenia y enfermedad neurológica <sup>(141, 188,255)</sup>. Un gran espectro de manifestaciones renales ha sido descrito en asociación con los AAF que incluyen la estenosis de arteria renal, el infarto renal, la trombosis de la vena renal, la MAT aguda y crónica y más recientemente la llamada NSAF.

Aunque existe evidencia que estos anticuerpos pueden exponer a los pacientes con LES a un aumento del riesgo de trombosis vascular y de morbilidad obstétrica, pocos datos hay del impacto de éstos y el riesgo de NL.

Loizou et al. evaluaron la presencia de ACA, ABGPI, y su relación con los anti-ds-DNA y los anti-C1q en 30 pacientes con NL comparados con 25 pacientes con LES y 36 pacientes con SAF. Ellos encontraron que la NL estaba asociada con un aumento de los ACA, pero fueron incapaces de demostrar una asociación con los ABGPI y no analizaron la presencia de AL. Por otro lado, la presencia de ACA junto a los niveles altos de anti-ds-DNA y anti-C1q, fueron altamente específicos para NL <sup>(252)</sup>. En contraposición, un estudio tailandes no encontró relación entre el perfil de AAF (ACL y AL) y NL <sup>(304)</sup>.

La presencia de AL ha sido relacionada con ciertos hallazgos clínicos, especialmente la predisposición de eventos trombóticos arteriales y venosos en múltiples órganos y sistemas. Estos efectos trombóticos pueden extenderse a la circulación renal, produciendo microangiopatía trombótica renal o estenosis de la arteria renal <sup>(132, 120,218)</sup>.

La asociación de ACA Ig G e Ig M con la presencia de NL no pudo ser demostrada en nuestro estudio. Sin embargo, la presencia de AL fue un factor asociado en el análisis univariado pero perdió su significancia en el estudio multivariado.

Por otro lado, estudios de AAF fueron realizados en diferentes países y grupos étnicos. La prevalencia de ACA es altamente variable en diferentes poblaciones con LES, probablemente debido a los diferentes métodos utilizados para su medición y a la selección de los pacientes para el estudio. La prevalencia de ACA Ig G fue del 2% en afrocaribeños y del 51% en un trabajo en población india <sup>(292,382)</sup>. Esta prevalencia baja de ACA Ig G en afrocaribeños podría ser explicada por una frecuencia relativamente alta ACA Ig A en esta población. Molina et al. encontraron una frecuencia más alta de ACA Ig G en pacientes con LES afroamericanos (18%) y colombianos (21%) <sup>(292, 382,226)</sup>. Sin embargo, en nuestra población de NL nosotros encontramos una frecuencia significativamente alta de ACA Ig G en el 64% de los mestizos y en el 22% de los negros (afro caribeños).

Sin bien el papel de los AAF en la patogénesis de la NL no es claro, algunos mecanismos han sido propuestos. Tsai y col. han estudiado el efecto de los ACA en cultivos de células glomerulares mesangiales, analizando la expresión de los genes relacionados a la apoptosis. La anticardiolipina purificada de suero de pacientes con LES fue incubada con células mesangiales cultivadas de roedores y se observaron los cambios morfológicos en las mismas y el DNA genómico fue extraído para la detección de apoptosis. Estos autores encontraron que las ACA aumentaron la expresión de Fas pero no de otros genes relacionados a la apoptosis y suprimieron la fosforilación de la tirosina intracelular. Estos hallazgos sugieren que la unión de ACA puede inducir apoptosis en las células glomerulares mesangiales y de esa manera estar implicadas en la patogénesis de la NL <sup>(410)</sup>. Levine y col. recientemente han demostrado que la inmunización con  $\beta$ 2-glicoproteína I en presencia de LPS (DNA E. Coli), induce una potente y prolongada respuesta cuyo resultado produce una diseminación del epítipo a múltiples autoantígenos lúpicos. De esta manera, los autoanticuerpos específicos resultantes lo hicieron en una secuencia de orden igual a los humanos y desarrollaron una glomerulonefritis parecida a la NL en humanos <sup>(245)</sup>.

## 5. B. AAF Y NL

El SAF, como ya mencionamos, es un desorden caracterizado por trombosis arterial y /o venosa, morbilidad obstétrica y la presencia de AAF. Esta entidad puede ocurrir sólo o asociado a otras enfermedades autoinmunes especialmente el LES. Estos anticuerpos pueden ser detectados entre el 26 al 40% de pacientes con LES <sup>(141, 188,255)</sup>. Aunque el riñón es uno de los órganos blancos más importante en el SAF, las manifestaciones renales asociadas a este síndrome habían recibido escasa atención hasta la actualidad. La razón de este hecho podría ser explicada porque la mayoría de las investigaciones habían enfocado el estudio de las lesiones vasculares renales relacionadas a la NL solamente mediante mecanismos por inmunocomplejos, y por otra parte, la alta frecuencia de HTA y trombocitopenia en los pacientes con SAF hacían de la biopsia renal un procedimiento de alto riesgo.

La asociación entre AAF y trombosis fue estudiada por primera vez por Kant et al. quienes encontraron un aumento de la prevalencia de trombos glomerulares en pacientes con NL proliferativa en presencia de AL <sup>(215)</sup>. Posteriormente a este trabajo, Farrugia et al. encontró que una minoría significativa de sus pacientes con NL y AL tenían MAT y que esta entidad histológica estaba asociada a peor pronóstico <sup>(120)</sup>. A pesar de los resultados en estos primeros trabajos, el impacto de los AAF en la NL ha tenido resultados conflictivos principalmente porque éstos han sido basados en pequeño número de pacientes y con un corto seguimiento.

En nuestros pacientes con NL diagnosticada por biopsia la prevalencia de AAF fue del 54%. Esta frecuencia alta ha sido encontrada por otros autores en pacientes con NL. Perdiguero et al. estudiaron prospectivamente la prevalencia de ACA en 40 pacientes con NL diagnosticada por biopsia y encontraron una prevalencia del 45% , pero el 50% de ellos tenían títulos bajos y fueron chequeados solo en el momento de la biopsia <sup>(324)</sup>. Por otro lado Frampton et al. también analizaron diferentes isotipos de ACA (Ig G, Ig M e Ig A) y AL en 76 pacientes con NL, y la prevalencia fue del 43% con un aumento de al menos 1 de los isotipos, asociando la ACA Ig G a la presencia de trombosis glomerular <sup>(132)</sup>. En contraste, ésta ha sido menor en otros estudios de NL y series de casos independientes del daño renal.

Moroni et al. estudiaron prospectivamente 111 pacientes con NL con un seguimiento de 14 años y encontraron una prevalencia de AAF del 26%, usando para la inclusión los criterios de laboratorio de Sapporo. El 34% tuvo positividad para AL, 34% para AL más ACL, 17% para ACL Ig G y 3.5% para Ig M <sup>(298)</sup>. Daugas et al. en un estudio

de NSAF encontraron una prevalencia similar (22%) con una alta positividad de ACA (72%)<sup>(93)</sup>. Recientemente en Tailandia, un estudio retrospectivo encontró una prevalencia de 35% con una positividad para ACA del 23% y del 9.3% para LA. Es importante destacar que en este estudio los anticuerpos se midieron sólo en el momento de la biopsia<sup>(71)</sup>. Otros estudios en población de LES general han determinado una prevalencia de AL del 34% y de ACA del 44%, pero los eventos trombóticos se presentaron en alrededor del 30% en presencia de éstos<sup>(255)</sup>. A diferencia de estos resultados, sólo el 24% de los pacientes en la cohorte del Euro lupus tenían ACA Ig G, 13% Ig M y 15% AL<sup>(63)</sup>.

Los factores que pueden influenciar la diferencia en los resultados podrían ser: la naturaleza retrospectiva de los estudios, factores demográficos, el número de determinaciones y el tipo de técnicas usadas, el tratamiento inmunosupresor recibido y el período de seguimiento de los pacientes.

A pesar de las limitaciones de la naturaleza retrospectiva de nuestro estudio, éste evaluó un importante número de pacientes con NL documentada por biopsia, con un seguimiento de más de 11 años y con estrictos criterios de laboratorio acorde a Sapporo que podrían explicar estos resultados. Por otra parte es importante destacar que nuestra población de NL proviene de dos centros de referencia de estas entidades en la ciudad de Londres y de Córdoba lo que puede influenciar esta prevalencia más alta.

La asociación entre los AAF y los hallazgos clínicos del compromiso renal en la NL no han sido ampliamente descriptas. Nosotros encontramos que la presencia de AAF estuvo asociada con HTA en el momento de la biopsia.

La presencia de HTA en la NL puede estar relacionada a numerosos factores: formas proliferativas, IA e IC, deterioro de la función renal, tratamiento esteroideo. Sin embargo, la HTA ha sido descripta como uno de los principales hallazgos clínicos sugestivos de compromiso renal en el SAF<sup>(218, 93, 310)</sup>. Su presencia es un signo común asociado a NSAF y clínicamente ésta puede ir desde formas leves hasta HTA maligna. Nochy et al. analizaron 16 pacientes con SAF y compromiso renal encontrando que la HTA estaba presente en el 94% de los pacientes. Esta fue severa en el 31% de los pacientes y maligna en el 12%. 14 pacientes tenían insuficiencia renal, la cual fue leve en la mayoría de los casos. Todos los pacientes mostraron lesiones vasculares significativas en la biopsia renal con lesiones oclusivas de los pequeños vasos. Hiperplasia miointimal fibrosa de arterias interlobulares, trombosis recanalizada y atrofia cortical focal fueron las lesiones más frecuentes en 12, 10 y 6 pacientes respectivamente. MAT también fue evidente en las biopsias de 5 pacientes<sup>(310)</sup>. Estos autores sugieren que la HTA fue causada por la



presencia de lesiones vasculares que condujeron a la estimulación del sistema renina-angiotensina-aldosterona. Esta hipótesis es sostenida por un aumento de las células que contienen renina en 5 de las biopsias estudiadas. Por otra parte es importante resaltar que éstas lesiones vasculares también podrían ser observadas en la HTA. Sin embargo, los pacientes con HTA leve o que fueron normotensos también tenían lesiones vasculares severas. Es así que estos autores sugieren que las lesiones vasculares renales relacionadas al SAF causan HTA, la cual puede extender y aumentar la severidad de las mismas<sup>(309)</sup>.

La HTA puede ser también secundaria a compromiso de grandes vasos y la estenosis de la arteria renal ha sido descrita en pacientes con SAF. En una de las primeras descripciones Ostuni et al. reportaron una niña de 13 años con LES e HTA severa y estenosis renal bilateral<sup>(318)</sup>. Hernandez et al. también describieron una mujer con HTA severa e infartos renales que desarrolló LES 14 años más tarde<sup>(171)</sup>. Posteriormente Rossi et al. reportaron 2 casos de HTA renovascular con estenosis de arteria renal sugiriendo un nexo patogénico entre la estenosis de la arteria renal, la trombosis, la displasia fibromuscular y los AAF<sup>(353)</sup>. Recientemente Sangle et al. describieron la presencia de estenosis de la arteria renal en un 26% de 91 pacientes con SAF en pacientes con HTA no controlada y lábil. Estos autores evaluaron además el efecto del tratamiento anticoagulante, no encontrando reestenosis y permaneciendo con función renal estable y buen control de su tensión arterial con un RIN > 3. Todos estos reportes confirman que el SAF puede ser una causa significativa de estenosis de la arteria renal e HTA severa<sup>(362,363)</sup>.

Nochy et al. también describió en detalle la patología de MAT. Esta puede afectar las arteriolas preglomerulares, arterias interlobulares pequeñas, y capilares glomerulares, conduciendo a una oclusión no inflamatoria de los vasos por acumulación de células fragmentadas, leucocitos y material fibrinoide eosinofílico. Si bien la MAT es un hallazgo característico de la NSAF, otras condiciones también pueden causar esta lesión. Estas incluyen: HTA maligna, púrpura trombocitopénica trombótica, síndrome urémico hemolítico, preeclampsia, anticonceptivos orales, esclerodermia, rechazo de trasplante, toxicidad por ciclosporina y quimioterapia<sup>(284,310)</sup>.

La asociación de HTA con AAF no fue relacionada a estenosis de arteria renal en ninguno de nuestros pacientes con NL ya que éstos habían sido excluidos de este análisis así como las otras condiciones antes mencionadas que causan MAT.

Algunos estudios también han encontrado que los pacientes con NL y SAF tienen más HTA que aquellos con NL. En efecto, Daugas et al. demostraron que esta asociación era independiente de la clase WHO de NL y del nivel de creatinina al momento de la biopsia

pero estrechamente relacionado al nivel de fibrosis<sup>(93)</sup>. Por otra parte Moss et al. compararon la severidad y el pronóstico de la enfermedad renal en pacientes con LES, LES más SAF, y SAF, presentando estos dos últimos mayor HTA y disminución del filtrado glomerular<sup>(300)</sup>.

Sin embargo otros estudios no han encontrado esta diferencia. Perdiguero et al. no observaron diferencias en los valores de tensión arterial y de livedo reticularis entre los pacientes AAF positivos y negativos. Estos hallazgos también fueron confirmados por Naiker et al. en Sudáfrica<sup>(324,303)</sup>.

La presencia de hematuria estuvo asociada a la presencia de AAF en la presentación de la enfermedad renal en nuestra serie, mientras que no lo fueron el nivel creatinina, el deterioro de la función renal y el nivel de proteinuria.

Por el contrario, algunos autores han reportado niveles de proteinuria más elevados con la presencia de AAF. Perdiguero et al. encontraron un aumento de su nivel en pacientes con AAF y éste era masivo y persistente cuando estaba asociado a trombos capilares y NL clase IV. Estos autores sugieren que estos fenómenos de trombosis intraglomerular producen alteraciones de la membrana glomerular independientes del depósito de complejos inmunes<sup>(324)</sup>. Coincidente con estos resultados, Cheunsuchon et al. hallaron altos rangos de proteinuria persistente asociada a la presencia de NSAF y NL clase IV. En acuerdo con nuestro estudio otros autores no han encontrado estas diferencias<sup>(71)</sup>.

El deterioro de la función renal asociados con proteinuria y hematuria se presentó en el 87% de los pacientes de Nochy et al.<sup>(310)</sup>. Posteriormente Daugas et al. también encontraron un aumento del nivel de creatinina basal en pacientes con NL en coexistencia con NSAF<sup>(93)</sup>. El deterioro de la función renal estuvo presente también en el estudio tailandes, pero asociada a clases proliferativas de NL y NSAF. En cambio estos resultados no fueron confirmados en nuestra serie y otras.

La asociación de hematuria con los AAF en nuestros pacientes puede sugerir un daño glomerular precoz. En estos últimos años diferentes tipos de daño renal han sido descritos en pacientes con AAF, SAF con y sin LES. Estas incluyen: glomerulonefritis membranosa primarias, nefropatía por Ig A, glomerulonefritis proliferativa pauci-inmune, glomerulonefritis con depósitos mesangiales aislados de C3, glomeruloesclerosis focal segmentaria y vasculitis. La asociación con estas entidades sugiere que otros mecanismos diferentes a la trombosis podrían contribuir al daño renal por los AAF. En este aspecto, existe evidencia que las ACA reconocen  $\beta$ 2-GPI en la membrana de la célula endotelial y pueden aumentar la expresión de moléculas de adhesión de los monocitos en la superficie

de la misma. Estos eventos podrían explicar la inflamación en casos poco comunes y el daño glomerular <sup>(118,47)</sup>.

La asociación entre la presencia de AAF y las diferentes clases de WHO de NL han sido estudiadas con resultados contradictorios. La complejidad y la diversidad de las manifestaciones histopatológicas obligaron a los patólogos a clasificarlas. La clasificación de la WHO es ampliamente conocida y utilizada en los diferentes estudios. En el año 2004 fueron publicados los criterios revisados por la (ISN/RNP). El principal objetivo de esta revisión fue estandarizar las definiciones, enfatizar las lesiones clínicamente relevantes y tratar de uniformar los informes de los diferentes centros para que estos sean reproducibles. Los principales cambios aportados fueron : la eliminación de la categorización de la clase I como normal a glomerulonefritis mesangial mínima, a la división la clase IV en dos subclases segmentaria y global, y la clara definición de la clase V que puede presentarse o no en combinación con las clases III y IV <sup>(274,74,75,433)</sup>.

Algunos estudios han encontrado asociación de los AAF con las diferentes clases de NL de WHO. Moroni et al. reportaron un aumento de la prevalencia de clase V en NL con estos anticuerpos. En concordancia con este, Zea Mendoza et al. también encontraron asociación entre ACA con nefropatía membranosa. En algunos modelos animales la transfusión de linfocitos de pacientes con AAF y nefritis membranosa llevó al desarrollo de ésta, sugiriendo algún papel patogénico de los mismos <sup>(298, 246,444)</sup>.

Por otra parte el estudio Tailandés demostró una asociación entre clase IV de WHO y la NSAF. Los autores explican que esta diferencia podría ser debida a la diferencia en las indicaciones para la realización de las biopsias renales. En este estudio, éstas fueron realizadas sólo en pacientes con manifestaciones clínicas severas o en casos con resistencia al tratamiento. Por otra parte los IA e IC fueron más altos en los pacientes con NSAF <sup>(71)</sup>.

En cambio nosotros no encontramos asociación entre la clase histopatológica (ISN/RNP) de NL y los AAF. Estos resultados acuerdan con los de Fofi et al., quienes estudiaron específicamente la prevalencia de AAF en relación con la clase WHO de NL, no encontrando asociación con ninguna clase, ni con los IA ni con los de cronicidad. Otros estudios tampoco han encontrado esta asociación <sup>(324,303, 127)</sup>

Es importante descartar que este es el primer estudio en el cual se analizó la relación entre AAF y clase histopatológica utilizando la de (ISN/RNP) del 2004.

Una observación a destacar fue que 5 de nuestros 7 pacientes con NL clase II y AAF positivos presentaron hiperplasia miointimal, proliferación mesangial y severa atrofia cortical focal con inmunofluorescencia negativa. Algunos autores han sugerido que esta

proliferación de las células mesangiales podría ser una reacción de la pared capilar al proceso de remodelamiento a la isquemia. En estos casos la inmunofluorescencia sería un recurso útil para la sospecha histopatológica de NSAF asociada.

La enfermedad vascular es común en la NL y puede presentarse con formas morfológicamente características. A pesar del conocimiento actual de que las lesiones vasculares contribuyen a la severidad de la enfermedad y pueden influenciar el pronóstico, éstas no son analizadas en la clasificación de WHO ni en los IA e IC. Las lesiones vasculares intrarenales han sido clasificadas en varios grupos: la vasculopatía lúpica, la vasculitis, la microangiopatía trombótica, la esclerosis vascular no específica y los depósitos inmunes vasculares. Los depósitos inmunes vasculares son hallazgos altamente específicos de la NL y son más frecuentes en las clases III y IV, pero también pueden encontrarse en las clases II y V. Estos depósitos vasculares no suelen producir cambios evidentes en la microscopía óptica. El término de vasculopatía lúpica se refiere a una lesión vascular necrotizante que afecta las arteriolas, y que se presenta con más frecuencia en la clase IV. La pared vascular tiene un material fibrinoide eosinofílico que expande la íntima y puede ocluir la luz. La necrosis está usualmente presente pero sin inflamación de la pared del vaso y los depósitos de inmunoglobulinas y antígenos relacionados a la fibrina son detectables en la íntima y en la media indicando un daño combinado por depósitos inmunes y coagulación intravascular. Estas lesiones están frecuentemente asociadas a HTA y a una rápida declinación de la función renal <sup>(419,96)</sup>.

La asociación de la lesión característica conocida como MAT con los AAF fue descrita por primera vez en pacientes con LES. Kincaid-Smith et al. demostraron la presencia de MAT aguda y crónica en 22 biopsias renales obtenidas de pacientes con insuficiencia renal en el embarazo y con AL positivo <sup>(228)</sup>. En 1992, año en el que todavía existía la duda sobre la existencia del SAF, Amigo et al. estudiaron 5 pacientes que presentaban HTA y enfermedad renal en una serie de 20 pacientes con SAF encontrando hallazgos compatibles con MAT en sus biopsias renales. Ellos observaron trombos recientes y recanalizados, y la presencia de lesiones agudas y crónicas <sup>(12)</sup>. Posteriormente Nochy et al. describieron una nefropatía vascular en la cual la hiperplasia intimal fibrosa estaba presente en las biopsias renales en un 75%, las oclusiones arteriolas fibrosas y fibrocelulares en el 68%, la MAT en un 31% y la atrofia cortical focal en el 62% <sup>(310)</sup>. Posteriormente Daugas et al. describieron estas lesiones hoy denominadas NSAF en pacientes con NL <sup>(93)</sup>. Recientemente en los criterios de clasificación de Sydney, el Comité internacional recomendó la utilización del término NSAF, definida por la coexistencia de AAF y la

detección histopatológica de MAT, y o uno o más de los siguientes hallazgos: hiperplasia miointimal fibrosa comprometiendo trombos organizados con o sin recanalización, oclusiones celulares, atrofia cortical focal, y tiroidización tubular, con exclusión de vasculitis, púrpura trombocitopénica trombótica, HTA maligna, síndrome urémico hemolítico y otras causas de isquemia renal crónica <sup>(284)</sup>. Nosotros encontramos que la hiperplasia intimal fibrosa y la atrofia cortical fueron las lesiones más frecuentes y estadísticamente significativas de NSAF en los pacientes con NL y AAF. Sólo 2.6% de nuestros pacientes presentaron MAT aguda. Los hallazgos de lesiones histopatológicas compatibles con NSAF han variado en la literatura. Decombes et al. analizaron las lesiones vasculares en biopsias renales de 169 pacientes lúpicos examinadas por microscopía óptica e inmunofluorescencia y encontraron que las principales lesiones fueron el depósito microvascular de cilindros de inmunoglobulinas, depósitos de inmunoglobulina en la pared vascular y cambios escleróticos inespecíficos y sólo 1 paciente desarrolló con MAT <sup>(96)</sup>. Daugas et al. encontraron que 9 pacientes tenían solamente lesiones agudas de NSAF, 4 lesiones agudas de NSAF y atrofia cortical focal, y 11 lesiones agudas y crónicas. Estos autores consideraron NSAF aguda a la presencia de MAT con depósitos de fibrina a la inmunofluorescencia; y NSAF crónica a la presencia de hiperplasia intimal fibrosa y trombos organizados y oclusión vascular y o atrofia cortical focal <sup>(93)</sup>. Tektonidou et al. encontraron en su serie que las lesiones de NSAF aguda fueron demostradas en 21 pacientes mientras que 28 tenían NSAF crónica. La hiperplasia miointimal fibrosa y la atrofia cortical focal fueron las lesiones vasculares crónicas más frecuentes encontradas <sup>(405)</sup>.

Cheunuchon et al. encontraron que la MAT estuvo presente en el 6.7% de sus pacientes, la hiperplasia miointimal en 19%, la MAT más la hiperplasia intimal fibrosa en el 8% y ningún paciente presentó atrofia cortical focal <sup>(71)</sup>.

Nosotros encontramos solo 2 pacientes con lesiones compatibles con NSAF aguda y una alta frecuencia de lesiones crónicas. Estos resultados pueden variar de acuerdo al momento de realización y del análisis de la biopsia y al tiempo de seguimiento de los pacientes ya que la NSAF es una entidad recientemente reconocida así como la actividad y cronicidad de sus lesiones. La naturaleza retrospectiva y el largo seguimiento de estos pacientes podrían explicar estos resultados.

Nosotros encontramos una reducción del volumen del filtrado glomerular medido por EDTA-GFR en pacientes con AFF positivos comparada con los pacientes AAF negativos en la última visita del seguimiento, y ésta diferencia fue más pronunciada cuando más de

uno de ellos estuvo presente. La función renal ha sido evaluada por una variedad de métodos como la urea y creatinina sérica, el aclaramiento de creatinina y otras medidas. Sin embargo no está claro cuál es el mejor parámetro asociado al riñón o a la enfermedad que se correlacione con el pronóstico a largo plazo, es decir el desarrollo de enfermedad renal terminal. Los niveles de creatinina en plasma han sido utilizados en la evaluación de todos los estudios de terapia en la NL. Sin embargo en la enfermedad renal inicial, una declinación precoz del filtrado glomerular puede conducir a un leve incremento en la concentración de creatinina plasmática (<0.2 mg/dl) por el incremento de la secreción tubular de la misma. Este efecto hace que en pacientes que tienen un filtrado glomerular de 60 a 80ml / min, el nivel de creatinina sea de 1 mg/dl. Por otro lado un nivel de creatinina cercano al normal no implica que la función renal esté estable. Es así que el volumen de filtrado glomerular calculado está subestimado cuando los niveles de creatinina están cercanos a lo normal. Sin embargo, cuando el nivel de creatinina es mayor a 1.5-2 mg/dl el proceso de secreción está saturado y un cambio en el nivel de creatinina corresponde a un cambio en el filtrado glomerular <sup>(419, 327, 338)</sup>.

De todas las técnicas disponibles para medir la función renal, el comité de criterios de respuesta para la enfermedad renal en NL proliferativa y membranosa del colegio americano de reumatología, ha recomendado la estimación del filtrado glomerular renal.

El filtrado glomerular es hoy considerado el indicador standard de la función renal y sus cambios son más sensibles aún cuando éste es menor a 70 ml/minuto. El filtrado glomerular puede ser medido directamente por el aclaramiento de una variedad de sustancias como la creatinina, EDTA marcado con Cromo 51, ácido dietilenetriaminopentacético, iotalamato de inulina y iohexol así como también indirectamente por el método Chantler y el de la fórmula de Cockcroft-Gault. (406)

Recientemente Godfrey et al. compararon si el EDTA-GFR era un mejor indicador del grado de compromiso renal que la concentración de creatinina sérica o el aclaramiento calculado por la fórmula de Cockcroft-Gault en 23 pacientes con NL documentada por biopsia. Ellos mostraron valores anormales de EDTA-GFR en el 65.2% de los pacientes, mientras que con el aclaramiento calculado fue de 13%. Estos autores sugieren que el EDTA-GFR predice correctamente la función renal en la NL y que un significativo número de pacientes con función renal alterada pueden ser subestimados si ésta se mide solamente con concentración de creatinina sérica o con aclaramiento de creatinina bioquímico <sup>(146)</sup>.

En contraste a los resultados obtenidos con EDTA-GFR, nosotros no pudimos demostrar un impacto negativo de los AAF ni en el número ni el tiempo de los pacientes que

duplicaron la creatinina, que llegaron a ERT o que fallecieron. Aunque el EDTA-GFR fue medido sólo en la mitad de nuestros pacientes por ser un estudio retrospectivo, el impacto negativo de los AAF fue demostrado por el indicador standard actual de la función renal y por un método de alta confiabilidad.

En oposición a nuestros resultados, en el estudio de Moroni et al. 29 de 111 pacientes con NL tuvieron un deterioro irreversible de la función renal, de los cuales el 45% poseían AAF positivos. El IC en la biopsia, el nivel de creatinina basal y la presencia de AAF fueron los factores que influenciaron la insuficiencia renal crónica irreversible. Estos autores tomaron como medidas la duplicación de la creatinina, y la ERT que requirió hemodiálisis o trasplante <sup>(298)</sup>. Por otra parte en el estudio tailándes la presencia de NSAF impactó en la disminución de la sobrevida renal definida por el desarrollo de ERT, hemodiálisis y trasplante <sup>(71)</sup>. En contraste, Daugas et al. no pudieron demostrar una pérdida más rápida de la función renal con la presencia de NSAF en la NL <sup>(93)</sup>. Tektonidou et al. tampoco encontraron diferencias en el desarrollo de IRT en pacientes con NSAF y NL. Estos autores explican que este resultado podría estar influenciado por la presencia de insuficiencia renal leve de estos pacientes en el momento de la biopsia y su reversibilidad al tratamiento anticoagulante e inmunosupresor <sup>(405)</sup>.

Bhandari et al. estudiaron la relación entre ACA, trombos intracapilares y la función renal, encontrando que aquellos con la presencia de ambos deterioraron la función renal, no así su sola presencia por separado <sup>(40)</sup>. Por otra parte Frampton et al. tampoco pudieron demostrar una asociación de la función renal a largo plazo medida por el nivel de creatinina <sup>(132)</sup>. Un solo estudio evaluó el filtrado glomerular medido por aclaramiento de creatinina en 23 pacientes encontrando una tendencia negativa sobre la función renal en los pacientes AAF positivos, a pesar de que ésta no fue estadísticamente significativa <sup>(324)</sup>. El aporte de este estudio en este aspecto es la evidencia del impacto negativo sobre la función renal medida por el filtrado glomerular mediante una técnica directa y confiable de la función renal, no evaluada en estudios previos.

## 5. C. NL PROLIFERATIVAS Y NO PROLIFERATIVAS

Aproximadamente el 50% de los pacientes con LES desarrollan compromiso renal clínicamente significativo y alrededor de un 20% de ellos tienen NL membranosa en la biopsia renal. La NL membranosa tiene hallazgos distintivos a la NL proliferativa. Esta diferencia se puede reflejar en la presentación clínica, y es así que las formas proliferativas con o sin componente membranoso pueden debutar con síndrome nefrítico, a diferencia de las membranosas puras en que predominarían el nefrítico <sup>(21)</sup>.

La NL membranosa fue reconocida como una entidad separada en 1964 y fue formalmente definida como clase V en la clasificación original de WHO. Los primeros estudios realizados indicaban que ésta tenía un pronóstico más favorable, con un comportamiento benigno que frecuentemente no requería tratamiento <sup>(103)</sup>. EN 1982 la clasificación de WHO fue modificada y subdividió a la NL membranosa en 4 tipos: Va, membranosa pura, Vb con cambios mesangiales, Vc membranosa con cambios proliferativos focales (más Clase III) y Vd con cambios proliferativos difusos (más clase IV). Empleando esta clasificación histopatológica los pacientes con NL clase V tenían peor pronóstico que el descrito en las primeras series <sup>(75,274)</sup>.

En 1995 la revisión de la clasificación de WHO volvió a la definición más limitada y original de NL membranosa eliminando las subclases c y d consideradas nefropatías proliferativas más membranosas <sup>(74)</sup>.

En la nueva clasificación *ISN/RPS* 2004 se eliminó la distinción de membranosa pura de la membranosa con cambios mesangiales dado que los depósitos mesangiales están presentes en todas las formas de NL. Cuando los cambios de NL membranosa están asociados con hallazgos de clase III o IV, ambos diagnósticos deben ser descriptos <sup>(433)</sup>.

La NL membranosa es caracterizada por depósitos inmunes subepiteliales que conducen a un engrosamiento de la pared capilar glomerular. Estos depósitos pueden ser vistos en el microscopio con tinciones tricrómicas ó ser demostrados por microscopía electrónica.

La patogénesis de la NL membranosa ha sido poco estudiada, pero la distribución subepitelial de los depósitos de los complejos inmunes sugiere un mecanismo más parecido a la nefritis membranosa idiopática que a las formas proliferativas de NL. La célula epitelial glomerular visceral o podocito, que se encuentra en la superficie de la membrana basal glomerular, es la célula diana del daño en esta clase <sup>(21)</sup>.

La glomerulonefritis mesangial clase I y II representan alrededor el 10% de las NL y están asociadas a depósitos mesangiales de Ig G que provienen de complejos inmunes



circulantes. Estas clases están asociadas raramente a manifestaciones clínicas severas de alteraciones de la función renal.

Por otra parte la clase III esta asociada con marcadores serológicos activos de la enfermedad, aunque éstos no se correlacionan necesariamente con la severidad del daño histológico. Estos pacientes se presentan habitualmente con HTA, proteinuria y sedimento urinario activo con la presencia de hematíes dismórficos. La evolución de los pacientes de esta clase es variable ya que algunos presentan una proliferación leve de un porcentaje pequeño de los glomerulos que responden bien a la terapia inmunosupresora. Otros tienen un daño glomerular extenso con formación de semilunas y un pronóstico comparable a la clase IV.

Los pacientes con clase IV tienen síntomas clínicos más severos que reflejan una enfermedad activa. Estos tienen enfermedad serológicamente activa junto con la presencia de un sedimento activo, con proteinuria de rango nefrótico, HTA y deterioro en la función renal al momento de la biopsia.

La prevalencia de NL membranosa V también ha variado acorde a la subclase de la clasificación WHO incluida. Pasquali et al. encontraron que NL membranosa representaba el 22.7% de su serie, y ésta frecuencia fue similar a otros estudios como el de Baldwin et al. (27%) y Schwartz et al. (22%)<sup>(103, 28,321)</sup>. Por el contrario, otros encontraron una prevalencia más baja, siendo del 8% y 16% en las series de Pollak y Striker respectivamente<sup>(333)</sup>. Sin embargo, cuando ésta se limitó a las categorías de membranosa pura, es decir clases Va y Vb, fue del 14% en el estudio de Pasquali<sup>(321)</sup>. En coincidencia con éste, la prevalencia en nuestra serie fue del 15.4% (n=24), pero usando clasificación *ISN/RPS* 2004. Por el contrario, ésta fue menor en otras series. Donadio y col. reportaron un 8% en 360 pacientes con NL, mientras que Pastein y col. un 5.6% de una serie de 703 biopsias renales de NL<sup>(104,322)</sup>.

Clásicamente se ha descrito que la NL membranosa se presenta principalmente con síndrome nefrótico. Como ya mencionamos, el podocito es la célula blanco del daño, y los depósitos de los complejos inmunes se asocian a un ensanchamiento e hipertrofia del mismo pero no proliferan en respuesta al daño. El desarrollo de proteinuria es complemento dependiente y compromete el complejo de membrana de ataque (MAC) con la formación de C5b-C9. La importancia de MAC fue demostrada en modelos animales de NL membranosa, donde la depleción de C6 no produjo proteinuria sin afectar la formación de depósitos subepiteliales<sup>(378)</sup>. Por otra parte la excreción urinaria de C5b-C9 es más alta en pacientes con NL membranosa e idiopática comparada con otras enfermedades renales,

sugiriendo el mismo mecanismo en humanos <sup>(370)</sup>. A pesar de estos mecanismos descriptos, en nuestra serie el nivel de proteinuria fue levemente mayor en las formas proliferativas que en la NL membranosa así como también el nivel de creatinina, la presencia de HTA y el deterioro de la función renal, aunque no alcanzaron diferencia estadística. En acuerdo con estos resultados, Sloan et al. evaluaron retrospectivamente 79 pacientes con NL membranosa acorde a la clasificación de WHO, encontrando una diferencia significativa en el nivel de creatinina basal, la excreción de proteínas y la presión arterial en las clases con componente proliferativo <sup>(386)</sup>. En contraste, el 50% de los pacientes de la serie de Pasquali tuvieron proteinuria en rango nefrótico aunque la HTA y la insuficiencia renal fueron más frecuentes en las formas proliferativas <sup>(321)</sup>. Estos datos acuerdan con reportes anteriores en la literatura.

Algunos estudios han demostrado que la NL membranosa tiene buen pronóstico. La ERT en esta clase ha sido reportada entre un 6 a un 22% en la literatura. Radhakrishnan estudió retrospectivamente 50 pacientes con una media de seguimiento a 6 años encontrando que un 22% evolucionó a ERT <sup>(337)</sup>. Por otra lado Pasquali et al. encontraron un 7% de ERT en 26 pacientes y Mercadal et al. un 12% en 66 pacientes con un seguimiento similar <sup>(321,279)</sup>. Una serie reciente evaluó 100 pacientes en China con un seguimiento similar encontrando un 6% de ERT. En concordancia con estos resultados, la ERT se desarrolló en el 8.3% de nuestros pacientes con NL membranosa en un tiempo medio de 249 meses con una sobrevida renal del 91.7 de los pacientes <sup>(394)</sup>. En oposición, un grupo chileno encontró un 12% de ERT en 40 pacientes con NL membranosa pura comparados con un 3% de las formas proliferativas y con una mortalidad del 33% <sup>(322)</sup>.

Esta alta sobrevida de la función renal en nuestra serie puede estar influenciada fundamentalmente por un porcentaje alto de remisión con el tratamiento recibido. El tratamiento inicial recibido fue MMF en 8 pacientes, AZA en 6 y CF EV en 10 y esteroides en todos nuestros pacientes con NL membranosa. Por la naturaleza retrospectiva de este estudio y no ser el objetivo del mismo no pudimos analizar de forma exacta la dosis recibida y la respuesta a los diferentes inmunosupresores. A pesar de esta limitación, los resultados muestran una alta tasa de sobrevida renal con el uso de esteroides más inmunosupresores.

Algunos estudios han sugerido que el pronóstico de la NL membranosa puede depender también de la transformación histológica a formas proliferativas. Sun et al. realizaron una segunda biopsia a 21 de 100 pacientes con NL membranosa en su seguimiento. El 38% (8)

de éstas se transformaron a otra clase: 5 a clase IV más V, 2 a clase III más V y 1 paciente a clase IV. La ERT se desarrolló en 3 de estos 8 pacientes <sup>(394)</sup>.

Por otra parte, en algunas series como la Radhakrishnan 9 pacientes sufrieron transformación histológica con superposición a formas proliferativas mientras que en la serie de Mercadal lo hicieron 14 pacientes <sup>(279,337)</sup>.

Una nueva biopsia renal fue realizada en el 19% de nuestra serie con NL. Las principales indicaciones de una nueva biopsia renal en la literatura incluyen el nivel de proteinuria, un sedimento urinario activo, serología inmune activa, la evaluación de cambios en la terapia y la respuesta a ésta, y la exclusión de compromiso renal en pacientes con alto grado de actividad global de la enfermedad. En nuestro estudio, las principales indicaciones fueron similares a los estudios previos, siendo el nivel de proteinuria y la insuficiencia renal las más frecuentes. Bajaj et al. examinaron la diferencia en las indicaciones entre la primera y la segunda biopsia. La principal razón para la biopsia original fue la confirmación del diagnóstico y la identificación de la clase, mientras que en la segunda el aumento y la persistencia de la proteinuria <sup>(27)</sup>. Moroni et al. han considerado las indicaciones de la repetición de la biopsia en 3 categorías: cuando hay mejoría de la enfermedad renal pero persistencia de proteinuria no nefrótica, en la recaída o persistencia del síndrome nefrótico, o con el aumento del nivel de creatinina de más del 50% <sup>(296)</sup>. Además, otros estudios han analizado las clases histopatológicas en las nuevas biopsias. En la mayoría de los reportes una alta proporción de pacientes cambió de clase entre las biopsias. Huong et al. encontraron que más del 50% de sus pacientes mostraban transformación del patrón histológico, mientras que Bajaj et al. reportó una frecuente evolución de una clase a otra, pero los cambios dentro de una clase fueron más comunes <sup>(199,27)</sup>. Yoo et al. estudiaron 21 pacientes con NL clase IV. Solamente 3 casos (14%) se transformaron a clase I ó III <sup>(443)</sup>. La naturaleza de los cambios es un punto importante a examinar, ya que un cambio entre la clase III y IV puede representar un cambio en la extensión del compromiso renal o reflejar la variabilidad de la muestra en el riñón. En cambio, la transformación de una clase proliferativa a otra no proliferativa y viceversa representaría un cambio claro en la biopatología renal. Por otra parte, la distinción entre cambios significativos y no dentro de una clase puede influenciar la terapéutica. En nuestro estudio, 23 de estos pacientes demostraron cambios en la clase histológica siendo la transformación de clase III a IV la más frecuente. De los pacientes clase V, 4 cambiaron a clases proliferativas (IV más V), y 5 permanecieron sin cambios. Es importante destacar que un aumento en el nivel de proteinuria como indicación de la biopsia puede ocurrir en las enfermedades proliferativas

como en la NL membranosa y la realización de la misma tiene importantes implicancias terapéuticas. Mientras la CF es una terapia probada para la NL clase IV, las opciones para la NL membranosa están menos establecidas. La mayoría (4/5) los pacientes que permanecieron en clase V fueron tratados posterior a la biopsia con MMF. A pesar de no existir consenso sobre el tratamiento en la NL membranosa, recientes publicaciones han sugerido su rol en esta entidad <sup>(219)</sup>.

Factores pronósticos de importancia en la NL membranosa no han sido identificados en la literatura. La hipoalbuminemia inicial y altos niveles de proteinuria sostenidos fueron factores de riesgo para ERT y la duplicación de la creatinina en la serie de Mercadal <sup>(279)</sup>. Sun et al. también encontraron que la proteinuria basal fue un factor de riesgo para ETR pero además la lesión tubulo-intersticial fue otro importante factor de riesgo <sup>(394)</sup>.

Sin embargo Sloan et al. Y Mok et al. no encontraron correlación entre el grado de proteinuria al momento de la biopsia y el desarrollo posterior de insuficiencia renal <sup>(286, 386)</sup>.

En nuestro trabajo tampoco pudimos identificar ningún factor de riesgo para ERT en NL membranosa. Las causas de la mortalidad han variado en los diferentes estudios. Sun et al. reportaron una sobrevida del 98% a los 5 y 10 años. La infección fue el motivo de la muerte en sus 2 pacientes y ésta se presentó en el comienzo del tratamiento inductor la cual puede tener relación con la dosis inmunosupresora recibida <sup>(394)</sup>. Sin embargo en la serie de Pasquali et al. los 2 pacientes fallecidos fueron secundarios a trombosis <sup>(321)</sup>. Esta puede presentarse con una frecuencia aproximada del 10 al 20% en pacientes con LES, y podría ser más frecuente en la NL membranosa. El mecanismo de trombosis puede ser multifactorial y estar relacionado a una mayor incidencia de síndrome nefrótico y a la presencia de AAF. Una alta mortalidad (33%) fue reportada en una serie chilena, siendo las principales causas las relacionadas a la ERT, las infecciones y la actividad del LES. A diferencia de estos estudios, no hubo mortalidad en nuestros pacientes con NL membranosa.

Existía un acuerdo general que las formas proliferativas tenían un mal pronóstico comparado con otras formas histológicas. En numerosas series publicadas en la literatura antes de los 80, la sobrevida renal estaba fundamentalmente relacionada a la severidad de la inflamación y a los cambios glomerulares proliferativos. Posteriormente Ponticelli et al en 1987, demostró una sobrevida renal a los 10 años del 91% en pacientes con formas proliferativas de NL <sup>(335)</sup>. Por otra parte, Cameron et al. encontró que la expectativa de vida a los 5 años se incrementó de 44% en los años 1953-1969 al 82% en el período 1980-

1995<sup>(56)</sup>. Derksen et al. Reportaron una mortalidad del 11.2% después de un seguimiento de 53 meses en 56 pacientes con NL, de los cuales 38 tenían formas proliferativas de la misma. Sin embargo, pocos trabajos han evaluado el pronóstico renal con un seguimiento a largo plazo de las formas proliferativas<sup>(98)</sup>. Recientemente, Moroni et al. En un seguimiento a 15 años con NL proliferativas encontraron una sobrevida renal del 97% a los 10 años y del 82% a los 20 años. Los factores que se correlacionaron con la duplicación de la creatinina, la ERT o la muerte fueron la falta de completa remisión y la presencia de brotes renales<sup>(297)</sup>.

En acuerdo con estos resultados, el 10.9% de nuestros pacientes con NL proliferativas duplicaron la creatinina a una media de 197.95 meses (16.4 años). El 8.4% desarrolló ERT a los 207 meses y todos murieron en este grupo histopatológico. Es importante destacar que si bien no encontramos diferencia estadísticamente significativa ni en el número ni el tiempo a estos eventos entre las dos clases histopatológicas, las proliferativas lo desarrollaron en menor tiempo y con mayor frecuencia y la mortalidad fue un evento exclusivo de las proliferativas. Esta falta de significancia puede deberse al escaso número de pacientes comparados que desarrollaron los eventos. Dentro de los factores de riesgo encontramos que la HTA y el nivel de creatinina basal lo fueron para la duplicación de la creatinina y hubo una tendencia para la ERT en esta clase.

Numerosos factores pueden contribuir al mejor pronóstico actual. La elección de la estrategia terapéutica puede tener un rol fundamental así como la correcta evaluación de los brotes en donde la segunda biopsia, como mencionáramos anteriormente, es un recurso de indudable valor. En este aspecto es importante destacar que todos nuestros pacientes con NL proliferativa también recibieron tratamiento inicial con esteroides e inmunosupresor y que la principal transformación histológica en la segunda biopsia fue de III a IV lo que llevó a que un cambio en el tratamiento inmunosupresor siendo más agresivo (CF o MMF) en el 68% de los casos. Otro aspecto muy difícil de evaluar pero de vital importancia es la accesibilidad del paciente a centros donde la evaluación clínica, de laboratorio e histopatológica sea precoz, así como la adherencia al tratamiento.

## 5. D .FACTORES PRONÓSTICOS.

Un cambio radical se ha producido en el enfoque del diagnóstico y el tratamiento de la NL en las últimas cinco décadas que ha influenciado fundamentalmente el pronóstico. Dosis bajas de esteroide comenzaron a usarse en el comienzo de los años 50 con una sobrevida cercana a cero a los 5 años. A finales de los 50 y principios de los 60, dosis altas y prolongadas de esteroides aumentaron ésta al 25%. La utilización de hemodiálisis, el uso de dosis moderada de esteroides y el uso masivo de altas dosis de inmunosupresores como AZA y CF oral fueron recursos disponibles recién a finales de los 60 logrando una sobrevida del 40 al 70% a los 5 años. En los comienzos de los años 70, los médicos adquirieron un manejo más racional de los inmunosupresores y utilizaron nuevos antibióticos y agentes antihipertensivos, el resultado fue una sobrevida del 60 al 80% a los 5 años. Por otra parte, la incorporación del sistema WHO de clasificación permitió categorizar la enfermedad renal en subtipos patológicos y ayudar a orientar la terapéutica. En los años 80 se introdujo la terapia combinada parenteral intermitente con CF y GC, así como la descripción de los IA e IC. En 1989, Esdaile documentó una sobrevida del 85% y el 73% a los 5 y 10 años con un seguimiento a 8 años <sup>(419, 116,277)</sup>.

Recientemente Moroni e tal. han reportado una sobrevida renal del 97% a los 10 años y del 82% a los 20 años en una población fundamentalmente caucásica <sup>(297)</sup>. En nuestra serie, la sobrevida renal fue de 92% con una mortalidad de 6.41% en 156 pacientes a los 15 años de seguimiento en una población multiétnica.

A pesar de los mejores resultados en el pronóstico, numerosos trabajos han tratado de determinar diferentes subtipos pronósticos y evaluar el impacto de diversas terapias.

En este estudio es importante destacar que el número de pacientes que duplicó la creatinina, llegó a ERT, y fallecieron fue bajo, y numerosos factores que influyen el pronóstico renal fueron evaluados lo que puede influenciar que éstos pierdan la significancia estadística en el análisis multivariado.

Las diferencias étnicas en la incidencia, severidad y pronóstico de la NL son considerables. La sobrevida renal y la mortalidad han sido significativamente mayores en población negra comparada con la caucásica. Mientras esta influencia puede ser parcialmente explicada por la presencia de ciertos polimorfismos genéticos, el impacto socioeconómico no puede ser ignorado. Algunos estudios en población estadounidense han indicado que el bajo nivel socioeconómico, reflejado por bajos ingresos y poco acceso a seguros de salud, fue un factor independiente de mal pronóstico <sup>(7, 29,427)</sup>.

Los hispanos americanos también han sido asociados con un riesgo elevado de deterioro de la función renal similar a los afroamericanos. El bajo nivel socioeconómico también ha sido atribuido en este grupo <sup>(7,29)</sup>. En Asia, la supervivencia renal en población china de Hong Kong ha sido reportada de 94%, 92% y 75% a los 5, 10 y 15 años respectivamente, y éstas son muy similares a las obtenidas en la población caucásica <sup>(427)</sup>. En nuestra serie en el análisis univariado de los diferentes grupos étnicos que influyen el pronóstico, nuestra población mestiza fue un factor de riesgo para la duplicación de la creatinina y la ERT. A pesar de que la raza negra no alcanzó significancia estadística mostró una tendencia después de los mestizos. Este aumento del riesgo para los mestizos podría estar influenciado por factores genéticos y de bajo nivel socioeconómico, que no fueron evaluados en nuestro estudio.

La enfermedad renal ha sido descrita con mayor frecuencia y severidad en los niños. Sin embargo un reciente estudio ha demostrado que el patrón de daño no fue diferente en LES del joven con el del adulto. La edad no fue un factor de riesgo en nuestra población. <sup>(59,128)</sup>. Algunas publicaciones han destacado que formas de glomerulonefritis proliferativas acompañadas de progresión a insuficiencia renal y daño orgánico son más frecuentes en los hombres <sup>(104)</sup>. Sin embargo estos datos no son iguales e diferentes estudios debido a la naturaleza retrospectiva de los mismos, el tamaño de la muestra, el retraso en el diagnóstico del compromiso renal así como las diferencias en el acceso a la salud. En contraposición, el sexo no fue un factor pronóstico en nuestra población. La producción de autoanticuerpos es un marcador de la enfermedad. Los anti-ds-DNA está clásicamente unidos a la NL especialmente proliferativa y los complejos DNA-anti-DNA formados en la circulación o in situ pueden depositarse en los glomérulos y producir activación del complemento e inflamación <sup>(100, 115)</sup>. Por otro lado, el aumento de estos anticuerpos puede predecir brotes renales y NL proliferativas, por lo que podrían predisponer a una enfermedad más severa <sup>(44)</sup>. En este estudio nosotros demostramos que la presencia de anti-ds-DNA y Sm fueron dos factores para el desarrollo de NL. Sin embargo su presencia no influyó el pronóstico renal, ya que aquí intervienen factores como por ejemplo la elección apropiada y la oportunidad del tratamiento.

Como ya discutimos en la sección anterior los AAF no influenciaron el tiempo en la duplicación de creatinina, la ERT y la mortalidad. Sin embargo, estos tuvieron un impacto negativo en el filtrado glomerular en la última visita de seguimiento.

La relación entre los hallazgos histológicos y el curso clínico han sido bien reconocidos y como discutimos en la sección anterior, no encontramos diferencias significativas en el

pronóstico entre las formas proliferativas y no proliferativas. A pesar de ello, es importante destacar que las formas proliferativas llegaron con más precocidad a duplicar la creatinina, y a la ERT y todos los pacientes fallecidos pertenecieron a este grupo. Es importante resaltar que la creatinina basal y la HTA influenciaron el pronóstico en esta clase de NL.

Los IA e IC han demostrado influenciar el pronóstico en diferentes estudios. Austin et al. demostraron que ambos son importantes predictores del deterioro de la función renal. En contraposición, algunos estudios no han podido encontrar que éstos sean útiles para predecir insuficiencia renal y mortalidad en pacientes con tratamiento agresivo de su NL<sup>(19)</sup>. Dada la fluctuación del proceso patológico y la potencial reversibilidad de ciertas lesiones histológicas así como los factores pronósticos identificados, hacen que estos puedan variar entre los estudios, dependiendo del momento de la biopsia renal y el tratamiento empleado. Esdaile et al. demostraron que el IA, el daño tubulointerstitial y la cantidad de depósitos subepiteliales eran predictores del pronóstico renal a lo largo de la enfermedad, mientras que el laboratorio fue solamente útil en los primeros años después de la biopsia<sup>(114)</sup>. En contraste, Hill et al. reportaron que los hallazgos histológicos de la biopsia inicial ofrecieron un valor predictivo pobre en el pronóstico renal, a diferencia de la persistencia de depósitos subendoteliales y mesangiales, de semilunas y macrófagos que fueron determinantes del pronóstico a los 6 meses del diagnóstico<sup>(174)</sup>.

Otros estudios han sugerido que el daño crónico y la fibrosis intersticial en biopsias repetidas fueron asociados con proteinuria persistente y deterioro de la función renal. Howie et al. han demostrado una fuerte asociación entre cambios crónicos del riñón y progresión de la enfermedad renal independiente de la clase histológica<sup>(196)</sup>. Por otro lado, Daniel et al. también han reportado que la atrofia tubular y la expresión de moléculas de adhesión como ICAM-1 y CD40 fueron factores significativos para el pronóstico renal<sup>(91)</sup>. El IA fue un factor predictor de mortalidad pero no de progresión a ERT de nuestra serie, y si bien el IC no alcanzó significancia estadística, mostró también una tendencia sobre la mortalidad.

El incremento de expectativa de vida en las últimas décadas ha transformado al LES en una enfermedad crónica. La mejoría en el pronóstico ha llegado a ser más aparente en las primeras décadas de la enfermedad, y este resultado es consecuencia de un estrecho control de la enfermedad, así como de un manejo apropiado de la comorbilidad.

Diferentes estudios han demostrado una mejoría de la supervivencia que era del 50% a los 2 años en el año 1939, al 50 y 70% a los 5 y 10 años después de la introducción de los



esteroides en los años 50. En los años 70 esta se incrementó al 90 y 80% a los 5 y 10 años respectivamente y fue cercana al 70% a los 20 años en los años 90 <sup>(419)</sup>.

Diversos factores han contribuido a estos resultados desde los años 50, la disponibilidad de la diálisis, esteroides, inmunosupresores, antibióticos y antihipertensivos, así como también el diagnóstico precoz de la enfermedad y la inclusión de casos más leves en los estudios más recientes.

Algunos estudios han permitido ver la tendencia de la mortalidad y han demostrado tasas de muerte sorprendentemente bajas <sup>(76,383)</sup>. Entre los años 68 y 77 se observó una mejoría en la mortalidad en todos los pacientes, pero ésta era menos acentuada en la raza afroamericana y a menor edad de presentación del LES. Kaslow et al. <sup>(220)</sup> estudiaron el comportamiento de la mortalidad en 12 estados de Estados Unidos que incluyó 88% de todos los ancestros asiáticos y encontró que ésta era de 6.8 por millón de personas años, comparados con 8.05 de afroamericanos y 2.8 de blancos entre los años 68 y 76. En Hawaii, Serdula y Rhodes reportaron una mortalidad de 1.89 por millón de personas en blancos y 14.46 para no blancos que eran fundamentalmente de origen asiático <sup>(377)</sup>. Algunos estudios europeos también han documentado las tasas de mortalidad. Helve <sup>(170)</sup> et al. encontraron una tasa de 4.7 por millón de personas-año en pacientes finlandeses solamente hospitalizados. En Gales, Hochberg et al. encontraron que las mujeres tenían una mortalidad más alta que los hombres y se ubicaba en una franja etaria de los 65 a 74 años <sup>(185)</sup>. En una cohorte multicéntrica danesa <sup>(311)</sup>, la mortalidad fue de 2.9% por año con un radio estandarizado de 4.6. Recientemente, el grupo Europeo de LES evaluó la mortalidad en 10 años de una cohorte de 1000 pacientes que comenzó en el año 1990. Ellos encontraron una supervivencia del 92% a los 10 años, disminuyendo ésta al 88% cuando los pacientes presentaron NL al comienzo del estudio <sup>(65)</sup>.

Por otra parte, Ward et al. demostraron que la mortalidad era menor en pacientes con LES que fueron admitidos en hospitales con más experiencia en el cuidado de estos pacientes <sup>(425)</sup>. Es interesante resaltar que las diferencias encontradas no estuvieron relacionadas al cuidado médico en los centros sino al mejor manejo del propio LES.

Variaciones geográficas en la mortalidad también han sido descritas en el LES <sup>(423)</sup>. Un estudio identificó un aumento de la mortalidad en diferentes estados y en todos los grupos raciales pero con riesgo relativamente menor en los blancos. Los grupos con mayor mortalidad tenían una proporción mayor de pobreza y una concentración mayor de hispanos.

A pesar de la mejoría en la supervivencia, los pacientes con LES todavía fallecen 3 a 4 veces más que la población general. A pesar de que la causa primaria de muerte puede ser difícil de determinar, las principales incluyen aquellas relacionadas a la actividad de la enfermedad (principalmente nefropatía y compromiso del SNC), las infecciones y eventos cardiovasculares. Una curva bimodal de mortalidad fue observada por Urowitz et al. En este estudio, la mitad de los pacientes fallecieron en el primer año de la enfermedad y las principales causas fueron la actividad de la enfermedad y sus complicaciones terapéuticas, mientras que en los restantes la muerte ocurrió después de los 8 años y relacionados a enfermedad cardiovascular <sup>(1)</sup>.

Otras publicaciones han observado estos resultados. En la cohorte del Estudio Europeo del LES, las causas de muerte en los primeros 5 años fueron el LES activo y las infecciones, mientras que la trombosis lo fue en los últimos años <sup>(65)</sup>.

Sin embargo un reciente estudio prospectivo observacional en 12 centros europeos ha cuestionado este patrón bimodal, sugiriendo que la baja frecuencia de muerte dentro del primer año de la enfermedad está indicando la necesidad de cambiar la definición de muerte temprana, y ésta debería ser considerada tal vez en los primeros 10 años de la misma. Ellos encontraron que las principales causas de muerte continuaban siendo las infecciones y los eventos cardiovasculares, pero éstos se presentaron a lo largo del curso de la enfermedad, sugiriendo que el daño orgánico y la actividad de la enfermedad podrían ser los principales factores <sup>(312)</sup>.

Nosotros encontramos una mortalidad del 6.41% en nuestros pacientes con NL en un seguimiento a los 15 años. En acuerdo con las diferentes series las principales causas de mortalidad fueron la sepsis, la actividad de la enfermedad y los eventos vasculares. Este último grupo 1 falleció por SAF catastrófico y el otro por infarto intestinal asociado a los AAF. El IA y el nivel de creatinina basal fueron factores de riesgo para mortalidad en el modelo de Cox univariado. Similares resultados fueron obtenidos por otros autores.

## 6. CONCLUSIONES

- Los factores asociados con el desarrollo NL en nuestra serie multiétnica fueron la menor edad al diagnóstico del LES, la presencia de anti-ds-DNA y anti-Sm y los grupos étnicos no caucásicos constituidos por población negra y asiática. Los anticuerpos anti-Sm, anti-RNP, y anti-Ro estuvieron presentes con mayor frecuencia en los negros, mientras que los anti-ds-DNA en los caucásicos y mestizos. Este grupo de pacientes debería ser estrictamente monitorizado por la posibilidad del desarrollo de NL, permitiendo así un diagnóstico y tratamiento precoz de la misma.
- La presencia de AAF estuvo asociada a la HTA y la hematuria como manifestaciones clínicas de la enfermedad renal en nuestros pacientes. Las lesiones histopatológicas de NSAF más frecuentes fueron la hiperplasia miontimal y atrofia cortical focal. En este trabajo también pudimos demostrar el impacto negativo de los AAF sobre la función renal medida por el filtrado glomerular mediante una técnica directa y confiable de la función renal, no evaluada en estudios previos. Este hallazgo podría representar un efecto patogénico de los AAF en la vasculatura renal. Así los pacientes con NL y AAF representan un grupo que merecería una mayor vigilancia clínica, y también tendría implicaciones terapéuticas como un estrecho control de la tensión arterial y considerar los potenciales roles de la terapia anticoagulante y antiplaquetaria en algunos estudios futuros. Por otro parte, es importante que el patólogo este alerta de lesiones sugestivas de NSAF y que éstas pueden presentarse con lesiones de cronicidad más que de actividad como en este estudio.
- Actualmente, no pudimos demostrar diferencias en la presentación ni en el pronóstico de las formas proliferativas y no proliferativas de NL aplicando la clasificación del ISN/RPS del 2004. Sin embargo, las formas proliferativas desarrollaron más rápidamente ERT y la mortalidad se presentó solamente en este grupo. Estos resultados sugieren también la necesidad de un diagnóstico precoz, el momento adecuado de la terapéutica y un seguimiento muy estrecho en el largo plazo para la modificación de la misma. El recurso de la segunda biopsia fue un instrumento de indudable valor en nuestros pacientes ya que la gran mayoría mostró transformación a formas más severas con aumento del tratamiento inmunosupresor.

- La NL ha evolucionado a lo largo de esta última década de un proceso que con frecuencia finalizaba en ERT a una condición con un pronóstico favorable y con una calidad de vida cercana a lo normal. La supervivencia renal alcanzada por nuestros pacientes fue del 92% con una mortalidad del 6.41% a los 15 años. Los factores de mal pronóstico renal fueron la creatinina basal y el grupo étnico mestizo y los que afectaron la mortalidad fueron la creatinina basal y el IA en la biopsia renal. El médico debe estratificar el riesgo de los pacientes con LES para desarrollar NL, utilizar la histopatología y laboratorio como recursos que permitan definir subtipos pronósticos y evaluar el tratamiento más apropiado. Es importante destacar que la respuesta al tratamiento indicado debe ser evaluada frecuentemente al igual que sus complicaciones y modificaciones. El recurso de la segunda biopsia es un elemento fundamental en el manejo de estos pacientes. También es de gran importancia que los médicos que atendemos a estos pacientes podamos interpretar los cambios en este campo de estudio e individualizar el régimen terapéutico más óptimo y oportuno.

## 7. BIBLIOGRAFIA

1. Abu-Shakra M, Urowitz MB, Gladman DD, et al. Mortality studies in systemic lupus erythematosus. Results from a single centre. Causes of death. *J Rheumatol* 22:1259-64; 1995.
2. ACR Ad Hoc Committee on Neuropsychiatric Lupus Nomenclature. The American College of Rheumatology Nomenclature and Case Definitions for Neuropsychiatric Lupus Syndromes. *Arthritis Rheum* 42:599-608; 1999.
3. Adachi M, Mita S, Obana M, et al. Thrombocytopenia subsequently develops systemic lupus erythematosus. Can anti-SSA antibody predict the next event? *Jpn J Med* 29:481-86; 1990.
4. Adu D. Treatment of proliferative lupus nephritis: a changing landscape. *Kidney Int* 70: 616-8.
5. Alarcon GS, Bastian HM, Beasley TM et al. Systemic lupus erythematosus in a multiethnic US cohort (LUMINA) XXXII: contributions of admixture and socioeconomic status to renal involvement. *Lupus* 2006; 15:26-31.
6. Alarcon GS, Friedman AW, Straaton KV, et al. Systemic lupus erythematosus in three ethnic groups: III. A comparison of characteristics early in the natural history of LUMINA cohort. *Lupus in Minority populations: Nature versus Nurture*. *Lupus* 8: 197-209; 1999.
7. Alarcon GS, Mc Gwin GJr, Petri M, Reveille JD, Ramsey-Goldman R, Kimberly RP. PROFILE Study Group. Baseline characteristics of a multiethnic lupus cohort: PROFILE. *Lupus* 11:95-101; 2002.
8. Alarcon GS, McGwin G, Roseman JM, et al. Systemic lupus erythematosus in three ethnic groups. XIX. Natural history of the accrual of American College of Rheumatology Criteria prior to the occurrence of criteria diagnosis. *Arthritis Care Res* 51:609-615; 2004.
9. Alarcon GS. Of ethnicity, race and lupus. *Lupus* 10:594-596; 2001.
10. Alba P, Bento

11. L, Cuadrado MJ, et al. Anti-dsDNA, anti-Sm antibodies and the lupus anticoagulant: significant factors associated with lupus nephritis. *Ann Rheum Dis* 62: 556-60; 2003.
12. Alba P, Bertolaccini ML, Khamashta MA. The use of laboratory methods in differential diagnosis and treatment of SLE and antiphospholipid syndrome. *Expert Rev. Clin. Immunol* 3(4): 613-622; 2007.
13. Amigo MC, García-Torres R, Robles M, et al. Renal involvement in Primary Antiphospholipid syndrome. *J Rheumatol* 19:1181-1185; 1992.
14. Antiphospholipid Antibodies in Stroke Study Group. Clinical, radiological, and pathological aspects of cerebrovascular disease associated with antiphospholipid antibodies. *Stroke* 24 (Suppl 1):S1-123; 1993.
15. Appel G, Ginzler EM et al. Multicenter controlled trial of mycophenolate mofetil as induction therapy for severe lupus nephritis . *J Am Soc Nephrol* 14 :43-48; 2003.
16. Appel GB, Cohen DJ, Pirani CL, et al. Long-term follow up of patients with lupus nephritis. A study based on the classification of the world health organization. *Am J Med* 83:877-885; 1987.
17. Arbuckle MR, Mc Clain MT, Rubertone MB, et al. Development of autoantibodies before the clinical onset of systemic lupus erythematosus. *N Eng J Med* 349:1526-1533; 2003.
18. Arnett FC, Hamilton RG, Roebber MG, et al. Increased frequencies of Sm and nRNP autoantibodies in American Blacks compared to whites with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 15: 1773-1776; 1988.
19. Arnett FC, Reveille JD, Moutsopoulos HM, et al. Ribosomal P autoantibodies in systemic lupus erythematosus. Frequencies in different ethnic groups and clinical and immunogenetic associations. *Arthritis Rheum* 39:1833-39; 1996.
20. Austin HA, Muenz LR, Joyce KM, Antonovych TT, et al. Diffuse proliferative lupus nephritis : identification of specific pathologic features affecting renal outcome. *Kidney Int* 25 :135-148 ; 1984.
21. Austin HA, Boumpas DT, Vaughan EM et al. High risk features of lupus nephritis: importance of race and clinical and histological factors in 166 patients. *Nephrol Dial Transplant* 10:1620-1628; 1995.
22. Austin HA, Illei GG. Membranous lupus nephritis. *Lupus* 14:65-71; 2005.
23. Austin HA, Klippel JH, Balow et al. Therapy of lupus nephritis. Controlled trial of prednisone and cytotoxic drugs. *N Engl J Med* 314: 614-619; 1986.

24. Austin HA, Muenz LR, Joyce KM, et al. Prognostic factors in lupus nephritis: contribution of renal histologic data. *Am J Med* 75:382-391; 1983.
25. Baehr G, Klemperer P, Schiffren A. A diffuse disease of the peripheral circulation ( usually associated with lupus erythematosus and endocarditis ). *Trans Assoc Am Physicians* 50: 139-155; 1935.
26. Bagavant H, Deshmukh US, Gaskin F, et al. Lupus glomerulonephritis revisited 2004: autoimmunity and end-organ damage. *Scand J Immunol* 60: 52-63; 2004.
27. Bagavant H, Fu Sm. New insights from murine lupus: disassociation of autoimmunity and end organ damage and the role of T cells. *Curr Opin Rheumatol* 17:523-8; 2005.
28. Bajaj S, Albert L, Gladman DD, et al. Serial renal biopsy in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 27:2822-6; 2000.
29. Baldwin DS, Gluck MC, Lowenstein J, Gallo GR. Lupus nephritis. Clinical course as related to morphologic forms and their transitions. *Am J Med* 62: 12-30; 1977.
30. Barr RG, Seliger S, Appel GB et al. Prognosis in proliferative lupus nephritis : the role of socioeconomic status and race /ethnicity. *Nephrol Dial Transplant* 18:2039-46; 2003.
31. Bastian HM, Alarcon GS, Roseman Jm, et al. Systemic lupus erythematosus in a multiethnic US cohort ( LUMINA) XL II: factors predictive of new or worsening proteinuria. *Rheumatology* 46:683-689; 2007.
32. Bastian HM, Roseman JM, McGwin G Jr. et al. Systemic lupus erythematosus in three ethnic groups. XII. Risk factors for lupus nephritis after diagnosis, *Lupus* 11: 152-160; 2002.
33. Baumann I, Kolowos W, Voll RE, Manger B, Gaipl U, Neuhuber WL, Kirchner T, Kalden JR, Herrman M: Impaired uptake of apoptotic cells into tangible body macrophages in germinal centers of patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 46:191-201,2002.
34. Bell DA, Smeenk RTJ. Clinical Connections : assays and assessment. *Lupus* 6:305-6; 1997.
35. Bell DA. SLE in the elderly. Is it really SLE or Sjogren syndrome? *J Rheumatol* 15: 723-24; 1988.
36. Benito Garcia E, Schur PH, Lahita R and The American College of Rheumatology and Hoc Committee on Immunologic Testing Guidelines. Guidelines for immunologic laboratory testing in the rheumatic diseases: Anti-Sm and anti-RNP antibody tests. *Arthritis Rheum* 51(6):1030-44; 2004.

37. Bennett WM, Bardana EJ, Houghton DC, et al. Silent renal involvement in systemic lupus erythematosus. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 55: 420-428; 1977.
38. Berden JH, Termaat RM, Brinkman K, et al. Binding of anti-DNA antibodies to glomerular heparan sulfate: a new clue for pathogenesis of SLE nephritis? *Nephrologie* 10:127-32; 1989.
39. Bernstein KA, Valerio RD, Lefkowitz JB. Glomerular binding activity in MRL lpr serum consists of antibodies that bind to a DNA/histone/type IV collagen complex. *J Immunol* 154: 2424-33; 1995.
40. Bertolaccini ML, Murru V, Alba P, Khamashta MA. Lack of association of antibodies to ribosomal P proteins with lupus membranous nephritis : comment on the article by do Nascimento et al. *Arthritis Rheum* 54:4025-27; 2006.
41. Bhandari S, Harnden P, Brownjohn AM, et al. Association of anticardiolipin antibodies with intraglomerular thrombi and renal dysfunction in lupus nephritis. *QJM* 91:401-9; 1998.
42. Boddaert J, Huong du LT, Amoura Z, et al. Late-onset systemic lupus erythematosus: a personal series of 47 patients and pooled analysis of 714 cases in the literature. *Medicine (Baltimore)* 83:348-359; 2004.
43. Boey ML, Peebles CL, Tsay G, et al. Clinical and autoantibody correlations in Orientals with systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 47:918-923; 1988.
44. Bonfa E, Golombek SJ, Kaufman LD et al. Association between lupus psychosis and anti-ribosomal P protein antibodies. *N Engl J Med* 317: 265-71; 1987.
45. Bootsma H, Spronk P, Derksen R, et al. Prevention of relapses in systemic lupus erythematosus . *Lancet* 345 (8965): 1595-99; 1995.
46. Boumpas DT, Austin HA, Vaughn EM et al. Controlled trial of pulse methylprednisolone versus two regimens of pulse cyclophosphamide in severe lupus nephritis. *Lancet* 340: 741-745, 1992.
47. Bowness P, Davies KA, Norsworthy PJ, et al. Hereditary C1q deficiency and systemic lupus erythematosus. *Q J Med* 87:455-64; 1994.
48. Branch DW, Rodgers GM. Induction of endothelial cells tissue factor activity by sera from patients with antiphospholipid syndrome: a possible mechanism for thrombosis. *Am J Obst Gynecol* 168:206-210; 1993.
49. Brandt JT, Triplett DA, Alving B, Scharrer I. Criteria for the diagnosis of lupus anticoagulants: an update. On behalf of the subcommittee on lupus



- anticoagulant/Antiphospholipid Antibody of the Scientific and standardisation Committee of ISTH. *Thromb Haemost* 74:1185-90; 1995.
50. Bruns a, Blass S, Hausdorf G, Burmester GR, Hiepe F: Nucleosomes are major T and B cell autoantigens in systemic lupus erythematosus. *Arthritis & Rheum* 43: 2307-2315; 2000.
  51. Burling F, Ng J, Thein H, et al. Ethnic, clinical and immunological factors in systemic lupus erythematosus and the development of lupus nephritis: results from a multiethnic New Zealand cohort. *Lupus* 16:830-837; 2007.
  52. Burlingame RW. The clinical utility of antihistone antibodies. Autoantibodies reactive with chromatin in systemic lupus erythematosus and drug induced lupus. *Clin Lab Med* 17:367-76; 1997.
  53. Buyon JP, Petri MA, Kim MY, et al. The effect of combined estrogen and progesterone hormone replacement therapy on disease activity in systemic lupus erythematosus. *Ann Intern Med* 142: 953-962; 2005.
  54. Calvo-Alen J, Alarcon GS. Systemic lupus erythematosus and ethnicity: nature versus nurture?. *Expert Rev. Clin. Immunol.* 3:589-601; 2007.
  55. Calvo-Alen J, Reveille JD, Rodriguez Valverde V et al. Clinical, immunogenetic and outcome features of Hispanic Systemic lupus erythematosus patients of different ethnic ancestry. *Lupus* 12:377-385; 2003.
  56. Calvo-Alen J, Vila LM, reveille DJ, et al. Effect of ethnicity on disease activity in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 32: 962-963;author reply 963; 2005.
  57. Cameron JS. Lupus nephritis. *J Am Soc Nephrol* 10: 413-24; 1999.
  58. Canoso JJ, Cohen AS. A review of the use, evaluations, and criticisms of the preliminary criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 22: 917-921; 1979.
  59. Cappelini R, Polli E, Celada F. A DNA-reacting factor in serum of a patient with lupus erythematosus diffusus. *Proc Soc Exp Biol Med* 96:572-74; 1957.
  60. Carreño L, Lopez Longo FJ, Monteagudo I et al. Immunological and clinical differences between juvenile and adult onset of systemic lupus erythematosus. *Lupus* 8:287-92; 1999.
  61. Casciola-Rosen LA, Anhalt G, Rosen A: Autoantigens targeted in systemic lupus erythematosus are clustered in two populations of surface structures on apoptotic keratinocytes. *J Exp Med* 179: 1083-1086, 1994.

62. CattogioLJ, Skinner RP, Smith G, Maddison PJ. Systemic lupus erythematosus in the elderly: Clinical and serological characteristics. *J Rheumatol* 11: 175-81; 1984;
63. Cazenave A, Chausit M. Conference 4 june 1951. *Ann Mal de la Peau* 1851;3:297-99. Cited in Holubar K. Terminology and iconography of lupus erythematosus. *Am J Dermatopathol* 2:239-242; 1980.
64. Cervera R, Khamashta MA, Font J, et al. Systemic lupus erythematosus: Clinical and immunologic patterns of disease expression in a cohort of 1.000 patients. *Medicine* 72:113-124; 1993.
65. Cervera R, Khamashta MA, Font J et al. Morbidity and mortality in systemic lupus erythematosus during a 5 year period. A multicenter prospective study of 1000 patients. European Working Party on Systemic Lupus Erythematosus. *Medicine ( Baltimore)* 78:167-75; 1999.
66. Cervera R, Khamashta MA, Font J, et al. Morbidity and mortality in systemic lupus erythemaosus during a 10-year period: a comparison of early and late manifestations in a cohort of 1000 patients. *Medicine* 82:299-308; 2003.
67. Cervera R, Viñas O, Ramos-Casals M, Font J, Garcia-Carrasco M, Siso A et al. Antichromatin antibodies in systemic lupus eryhtematosus: a useful marker for lupus nephropathy. *Ann Rheum Dis* 62:431-34; 2003.
68. Chabre H, Amoura Z, Piette JC, Godeau P, Bach JF, Koutouzov S. Presence of nucleosome restricted antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 38:1485-1491; 1995.
69. Chan TM, Li FK, Tang CS, et al. Efficacy of mycophenolate mofetil in patients with diffuse proliferative lupus nephritis. Hong Kong-Guangzhou Nephrology study group. *N Engl J Med* 343: 1156-1162; 2000.
70. Chan TM; Wong WS, Lau CS et al. Prolonged follow up of patients with diffuse proliferative lupus nephritis (DPLN) treated with prednsiolone and mycophenolate mofetil. *J Am Soc Nephrol* 12; 2001.
71. Chang D-M, Chang C-C, Kuo S-Y, et al. The clinical features and prognosis of male lupus in Taiwan. *Lupus* 7:462-468; 1998.
72. Cheunsuchon B, Rungkaew P, Chawanasantorapoj R, et al. Prevalence and clinicopathologic findings of antiphospholipid syndrome nephropathy in Thai systemic lupus erythematosus patients who underwent renal biopsies. *Nephrology* 12: 474-480; 2007.

73. Christensen SR, Kashigarian M, Alexopoulos L, et al. Toll-like receptor 9 controls anti-DNA production in murine lupus. *J Exp Med* 202: 321-323; 2005.
74. Christensen SR, Shupe J, Nickerson K et al. Toll-Like receptor 7 and TLR9 dictate autoantibody specificity and have opposing inflammatory and regulatory roles in a murine model of lupus. *Immunity* 25:417-428; 2006.
75. Churg J, Bernstein J, Glassock RJ: *Renal Disease: Classification and Atlas of Glomerular Diseases*, 2<sup>nd</sup> Ed., New York, Igakyshoin, 1995.
76. Churg J, Sobin LH: *Renal disease: Classification and Atlas of Glomerular Disease*, Tokio, Igaku-Shoin, 1982.
77. Cobb S. *The frequency of the rheumatic diseases*. Cambridge, Mass: Harvard University Press, 1971.
78. Cohen As, Canoso JJ. Criteria for the classification of systemic lupus erythematosus status 1972 (editorial). *Arthritis Rheum* 15: 540-543; 1972.
79. Cohen AS, Reynolds WE, Franklin EC, et al. Preliminary criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Bull Rheum Dis* 21: 643-648; 1971.
80. Contreras G, Pardo C, Leclercq B, et al. Sequential therapies for proliferative lupus nephritis. *N Engl J Med* 350:971-98; 2004.
81. Contreras G, Pardo V, Cely C, et al. Factors associated with poor outcome in patients with lupus nephritis. *Lupus* 14:890-895; 2005.
82. Cooper GS, Dooley MA, Treadwell EL, et al. Smoking and use of hair treatments in relation to risk of developing systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 28: 2653-2656; 2001.
83. Cooper GS, Parks CG, Treadwell EL et al. Differences by race, sex, and age in clinical and immunologic features of recently diagnosed systemic lupus erythematosus in the southeastern of United States. *Lupus* 11: 161-167; 2002.
84. Cooper GS, Parks CG, Treadwell EL, et al. Occupational risk factors for the development of systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 31: 1928-1933; 2004.
85. Cooper RS, Kaufman JS, Ward R. Race and genomics. *N Engl J Med* 348:1166-1170; 2003.
86. Costallat LT, Coimbra AM. Systemic lupus erythematosus: clinical and laboratory aspects related to age at disease onset. *Clin Exp Rheumatol* 12:603-607; 1994.
87. Costenbader KH, Feskanich D, Stampfer MJ et. al. Reproductive and Menopausal factors and risk of systemic lupus erythematosus in women. *Arthritis Rheum* 56: 1251-1262; 2007.

88. Croker JA, Kimberly RP. Genetics of susceptibility and severity in systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Rheumatology* 17:529-37; 2005.
89. D'Cruz D, Cuadrado MJ, Mujic F, et al. Immunosuppressive therapy in lupus nephritis. *Clin Exp Rheumatol* 15:275-282; 1997.
90. Danchenko N, Satia JA, Anthony MS. Epidemiology of systemic lupus erythematosus: a comparison of worldwide disease burden. *Lupus* 15: 308-318; 2006.
91. Dang H, Harberck RJ. The in vivo and in vitro glomerular deposition of isolated anti-double-stranded-DNA antibodies in NZB/W mice. *Clin Immunol Immunopathol* 30: 265-78; 1984.
92. Daniel L, Sichez H, Giorgi R, et al. Tubular lesions and tubular cell adhesion molecules for the prognosis of lupus nephritis. *Kidney Int* 60:2215-2221; 2001.
93. Datta SK, Kaliyapemural A: Nucleosome-driven autoimmune response in lupus. Pathogenic T Helper cell epitopes and costimulatory signals. *Ann N Y Acad Sci* 815: 155-170; 1997.
94. Daugas E, Nochy D, du Huong LT, et al. Antiphospholipid syndrome nephropathy in systemic lupus erythematosus. *J Am Soc Nephrol* 13: 42-52; 2002.
95. Davis P, Atkins B, Josse RG, et al. Criteria for classification of SLE. *Br Med J* 3 : 90-91; 1973.
96. De Voragnine RJ. *The Goleen Legend*. Ryan G, Ripperger H, trans. New York : Arno Press, 515-516; 1969.
97. Decombes E, Droz D, Drouet L, et al. Renal vascular lesions in lupus nephritis. *Medicine* 76:355-368; 1997.
98. Deocharan B, Qing X, Lichauco J et al. Alpha-actinin is a cross reactive renal target for pathogenic anti-DNA antibodies. *J Immunol* 168:3072-8; 2002.
99. Derksen RH, Hene RJ, Kater L. The long term clinical outcome of 56 patients with biopsy proven lupus nephritis followed at a single center. *Lupus* 1:97-103; 1992.
100. Desai-Metha A, Mao C, Rajagopalan S, Robinson T, Datta SK: Structure and specificity of T cell receptors expressed by potentially pathogenic anti-DNA autoantibody-inducing T cells in human lupus. *J Clin Invest* 95: 531-541; 1995.
101. Deshmukh US, Bagavant H, Fu SM. Role of anti-DNA antibodies in the pathogenesis of lupus nephritis. *Autoimmunity Reviews* 5:414-418; 2006.
102. Deshmukh US, Kannapell CC, Fu SM. Immune responses to small nuclear ribonucleoproteins: antigen-dependent distinct B cell epitope spreading patterns in

- mice immunized with recombinant polypeptides of small nuclear ribonucleoproteins. *J Immunol* 168:5326-32; 2002.
103. Do Nascimento AP; Trindade Viana VD, Testagrossa LDA, et al. Antibodies to ribosomal P proteins. A potential serologic marker for lupus membranous glomerulonephritis. *Arthritis Rheum* 54: 1568-1572; 2006.
  104. Donadio JV Jr., Burgess JH, Holley KE. Membranous lupus nephropathy: a clinicopathologic study. *Medicine* 56: 527-534; 1997.
  105. Donadio JV, Hart GM, Bergstahl M, et al. Prognostic determinants in lupus nephritis: A long-term clinicopathological study. *Lupus* 4: 109-115; 1995.
  106. Dooley MA, Hogan S, Jennette C, et al. Cyclophosphamide therapy for lupus nephritis : poor renal survival in black Americans. *Kidney Int* 51:1188-1195; 1997.
  107. Ebert T, Chapman J, Schoenfeld Y. Anti-ribosomal P protein and its role in psychiatric manifestations of systemic lupus erythematosus: myth or reality?. *Lupus* 14: 571-75; 2005.
  108. Edwards C. Lupus in Singapore. *Lupus* 10: 889-91; 2001.
  109. Egner, W. The use of laboratory tests in the diagnosis of SLE. *J Clin Pathol* 53:424-32; 2000.
  110. Ehrenstein MR, Katz DR, Griffiths MH et al. Human Ig G anti-DNA antibodies deposit in kidneys and induce proteinuria in SCID mice. *Kidney Int* 48: 705-11; 1995.
  111. Elkon K, Skelly S, Parnassa A, Moller W, et al. Identification and chemical synthesis of a ribosomal protein antigenic determinant in systemic lupus erythematosus. *Proc Natl Acad Sci USA* 83:7419-23; 1986.
  112. Emlen W, O'Neill L. Clinical significance of antinuclear antibodies : comparison of detection with immunofluorescence and enzyme-linked immunosorbent assays. *Arthritis Rheum* 40(9):1612-1618; 1997.
  113. EPISER Study. The prevalence and the impact of rheumatologic diseases on the adult Spanish population. Project of the Spanish Society of Rheumatology. From <http://www.ser.es/proyectos/index.html>. 2001.
  114. Eriksson C, Engstrand S, Sundqvist KG, et al. Autoantibody formation in patients with rheumatoid arthritis treated with anti-TNF alpha. *Ann Rheum Dis* 64(3):403-07; 2005.
  115. Esdaile JM, Federgreen W, Quintal H et al. Predictors of one year outcome in lupus nephritis. The importance of renal biopsy. *Q J Med* 81: 907-18; 1991.

116. Esdaile JM, Abrahamowicz M, Joseph L, et al. Laboratory tests as predictors of disease exacerbations in systemic lupus erythematosus. Why some tests fail?. *Arthritis Rheum* 39 (3): 370-78; 1996.
117. Esdaile JM, Joseph L, Mackenzie T, et al. The pathogenesis and prognosis of lupus nephritis: information from repeat biopsy. *Semin Arthritis Rheum* 23:135-148; 1993.
118. Esdaile JM, Abrahamowicz M, MacKenzie T, et al. The time dependence of long term prediction in lupus nephritis. *Arthritis Rheum* 37:359-68; 1994.
119. Fakhouri F, Noel LH, Zuber J, et al. The expanding spectrum of renal diseases associated with antiphospholipid syndrome. *Am J Kidney Dis* 41: 1205-1211; 2003.
120. Farber SJ, Bole GG. Antibodies to components of extractable nuclear antigen. Clinical characteristics of patients. *Arch Intern Med* 136: 425-431; 1976.
121. Farrugia E, Torres VE, Gastineau D, Michet CJ, Holley KE. Lupus anticoagulant in systemic lupus erythematosus: A clinical and renal pathological study. *Am J Kidney Dis* 20:463-71; 1992.
122. Feng X, Wu H, Grossman JM, et al. Association of increased interferon-inducible gene expression with disease activity and lupus nephritis in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 54: 2951-62; 2006.
123. Fessel WJ. Systemic lupus erythematosus in the community. Incidence, prevalence, outcome, and first symptoms: the high prevalence in black women. *Arch Intern Med* 134: 1027-1034; 1974.
124. Fiehn C, Hajjar Y, Nueller K, Waldherr R, Ho AD, Andrassy K. Improved clinical outcome of lupus nephritis during the past decade : importance of early diagnosis and treatment. *Ann Rheum Dis* 62: 435-39; 2003.
125. Fields R, Toubbeh H, Searles R, Bankhurst A. The prevalence of anticardiolipin antibodies in a healthy elderly population and its association with antinuclear antibodies. *J Rheumatol* 16:623-625; 1989.
126. Filaci G, Rizzi M, Setti M, et al. Non antigen-specific CD8 suppressor lymphocytes in diseases characterized by chronic immune responses and inflammation. *Ann NY Acad Sci* 1050:115-123; 2005.
127. Flanc RS, Roberts MA, Strippoli GF, et al. Treatment of diffuse proliferative lupus nephritis : A meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J kidney dis* 43: 197-208; 2004.

128. Fofi C, Cuadrado MJ, Godfrey T, et al. Lack of association between antiphospholipid antibody and WHO classification in lupus nephritis. *Clin Exp Rheumatol* 19:75-7; 2001.
129. Font J, Cervera R, Espinosa G, et al. Systemic lupus erythematosus ( SLE) in childhood : analysis of clinical and immunological findings in 34 patients and comparison with SLE characteristics in adults. *Ann Rheum Dis* 57:456-59; 1998.
130. Font J, Cervera R, Ingelmo M. *Enfermedades Autoinmunes Sistémicas*. Barcelona 1998.
131. Font J, Torras A, Cervera R, et al. Silent renal disease in systemic lupus erythematosus. *Clin Nephrol* 27: 283-288; 1987.
132. Formiga F, Moga I, Pac M, et al. Mild presentation of systemic lupus erythematosus in elderly patients assessed by SLEDAI. SLE Disease activity index. *Lupus* 8:462-465; 1999.
133. Framptom G, Hicks J, Cameron JS. Significance of antiphospholipid antibodies in patients with lupus nephritis. *Kidney Int* 39: 1225-31; 1991.
134. Franceschini F, Cavazzana I. Anti-Ro/SSA and La/SSB antibodies. *Autoimmunity* 38(1):55-63; 2005.
135. Franceschini F, Cretti L, Quinzanini M, et al. Deforming arthropathy of the hands in systemic lupus erythematosus is associated with antibodies to SSA/Ro and to SSB/la. *Lupus* 3:419-422; 1994.
136. Frank AO. Apparent predisposition to systemic lupus erythematosus in Chinese patients in West Malaysia. *Ann Rheum Dis* 39: 266-269; 1980.
137. Fries J, Holman H. *Systemic lupus erythematosus: a clinical analysis*. Philadelphia, PA:WB Saunders,1975.
138. Fries JF, Siegel RC. Testing the preliminary criteria for classification of SLE. *Ann Rheum Dis* 32: 171-77; 1973.
139. Fritzler Mj, Wiik A, Tan EM, et al. A critical evaluation of enzyme immunoassay kits for detection of antinuclear autoantibodies of defined specificities. III. Comparative performance characteristics of academic and manufactures`laboratories. *J Rheumatol* 30 (11): 2374-2381; 2003.
140. García CO, Molina JF, Gutierrez-Urena S, Scopelitis E, et al. Autoantibody profile in African-American patients with lupus nephritis. *Lupus* 5:602-605; 1996.

141. Ghirardello A, Doria A, Ruffatti A, et al. Antiphospholipid antibodies (aPL) in systemic lupus erythematosus. Are they specific tools for the diagnosis of aPL syndrome. *Ann Rheum Dis* 53:140-142; 1994.
142. Ghirardello A, Doria A, Zampieri S, et al. Antinucleosome antibodies in SLE: A Two year follow-up study of 101 patients. *J Autoimm* 22:235-40; 2004.
143. Gibson TP, Dibona GF. Use of the American Rheumatism Association's preliminary criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Ann Intern Med* 77:754-756; 1972.
144. Ginsberg J, Wells P, Brill-Edwards P et al. Antiphospholipid antibodies and venous thromboembolism. *Blood* 86: 3685-3691; 1995.
145. Ginzler EM, Dooley MA, aranow C et al. Mycophenolate mofetil or intravenous cyclophosphamide induction therapy in lupus nephritis. *N Engl J Med* 353:2219-2228; 2005.
146. Gioud-Paquet M, Chamot AM, Bourgeois P, et al. Symptomatic and prognostic differences according to ethnic group in systemic lupus erythematosus. A controlled study of 3 populations. *Presse Med* 17:103-106; 1988.
147. Godfrey T, Cuadrado MJ, Fofi C, et al. Chromium-51 ethylenediamine tetraacetic acid glomerular filtration rate: a better predictor than glomerular filtration rate calculated by Cockcroft-Gault formula for renal involvement in systemic lupus erythematosus patients. *Rheumatology* 40:324-328; 2001.
148. Goeckerman WH. Is lupus erythematosus discoïdes chronicus due to tuberculosis? *Arch Dermatol Syph* 3:788-801; 1921.
149. Gomez Puerta JA, Burlingame RW, Cervera R. Anti-chromatin ( anti-nucleosome) antibodies. *Lupus* 15:408-11; 2006.
150. Gomez-Puerta JA, Molina JF, Amaya JM, Molina J. Clinical significance of anti-chromatin antibodies in systemic lupus erythematosus. *Lupus* 10: (Supp1):S73; 2001.
151. Gottenberg JE, Busson M, Loiseau P, et al. In primary Sjogren syndrome, HLA class II associated exclusively with autoantibody production and spreading of the autoimmune response. *Arthritis Rheum* 48:2240-2245; 2003.
152. Gourley MF, Austin HA, Scott D et al. Methylprednisolone and cyclophosphamide, alone or in combination in patients with lupus nephritis. A randomized, controlled trial. *Ann Intern Med* 125: 549-557; 1996.
153. Grigor R, Edmonds J, Lewkonja R, et al. Systemic lupus erythematosus. A prospective analysis. *Ann Rheum Dis* 37:121-28; 1978.



154. Grimaldi CM, Hill L, Xu X, et al. Hormonal modulation of B cell development and repertoire selection. *Mol Immunol* 42: 811-820; 2005.
155. Gross AJ, Hochberg D, Rand WM, et al. EBV and systemic lupus erythematosus. *J Immunol* 174: 6599-6607; 2005.
156. Gudmundsson S, Steinsson K. Systemic lupus erythematosus in Iceland 1975 through 1984. A nationwide epidemiological study in an unselected population. *J Rheumatol* 17: 1162-67; 1990.
157. Gunnarsson L, Ronnelid J, Huang YH, et al. Association between ongoing anti-C1q antibody production in peripheral blood and proliferative nephritis in patients with active systemic lupus erythematosus. *Br J Rheumatol* 36;32-37; 1997.
158. Hahn BH, Ebling F, Singh RR, et al. Cellular and molecular mechanisms of autoantibody production in SLE. *Ann NY Acad Sci* 202: 321-32; 2005.
159. Hamilton RG, Harley JB, Bias WB, et al. Two Ro (SSA) autoantibody responses in systemic lupus erythematosus. Correlation of HLA DR/DQ specificities with quantitative expression of Ro (SS-A) autoantibody. *Arthritis Rheum* 31:496-505; 1988.
160. Hargraves MM. Discovery of the LE cell and its morphology. *Mayo Clin Proc* 44: 579-599; 1969.
161. Harley JB, Gaither KK. Autoantibodies. In: *Rheumatic disease clinics of north America. Systemic lupus erythematosus* 14:13-56; . 1988.
162. Harley JB, Reichlin M, Arnett FC, et al. Gene interaction at HLA-DQ enhances autoantibody production in primary Sjogren's syndrome. *Science* 232:1145-1147; 1986.
163. Harley JB, Sestak AL, Willis LG et al. A model for disease heterogeneity of systemic lupus erythematosus. Relationship between histocompatibility antigens, autoantibodies and lymphopenia or renal disease. *Arthritis Rheum* 32:826-34 ; 1989.
164. Harley JB, Sestak AL, Willis LG, Fu SM, Hansen JA, reichlin M. A model of disease heterogeneity of systemic lupus erythematosus. Relationship between histocompatibility antigens, autoantibodies and lymphopenia or renal disease. *Arthritis & Rheum* 32: 826-34; 1989.
165. Harris EN, Gharavi AE, Boey ML et al. . Anticardiolipin antibodies: detection by radioimmunoassay and association with thrombosis in systemic lupus erythematosus. *Lancet* ii:1211-1214; 1983.

166. Harris EN, Gharavi AE, Patel SP, Hughes GRV. Evaluation of the anticardiolipin antibody test: report of an international workshop held 4 april 1986. *Clin Exp Immunol* 68:215-222; 1987.
167. Harvey AM; Shulman LE, Tumulty PA, et al. Systemic lupus erythematosus. Review of the literature and clinical analysis of 138 cases. *Medicine* 33: 291-437; 1954.
168. Haserick JR, Sundberg RD. The bone marrow as a diagnostic aid in acute disseminated lupus erythematosus. *J Invest Dermatol* 11:209-213; 1948.
169. Hauser IA, Renders L, Radeke HH, et al. Mycophenolate mofetil inhibits rat and human mesangial cell proliferation by guanosine depletion. *Nephrol Dial Transplant* 14; 58-63,1999.
170. Hedgpeth MT, Boulware DW. Interstitial pneumonitis in antinuclear antibody-negative systemic lupus erythematosus: a new clinical manifestation and possible association with anti-Ro (SS-A) antibodies. *Arthritis Rheum* 31:545-48; 1988.
171. Helve T. Prevalence and mortality rates of systemic lupus erythematosus and causes of death in SLE patients in Finland. *Scand J Rheumatol* 14:43-46; 1985.
172. Hernandez D, Dominguez ML, Diaz F, et al. Renal infarction in a severely hypertensive patient with lupus erythematosus and antiphospholipid antibodies. *Nephron* 72:298-301; 1996.
173. Herrmann M, Voll RE, Kalden JR: Etiopathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Immunol Today* 21: 424-426, 2000.
174. Herrmann M, Voll RE, Zoller OM, Hagenhofer M, Ponner BB, Kalden JR: Impaired phagocytosis of apoptotic cell material by monocyte-derived macrophages from patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 41:1241-1250,1998.
175. Hill GS, Delahousse M, Nochy D, et al. Predictive power of the second renal biopsy in lupus nephritis: significance of macrophages. *Kidney Int* 59:304-316; 2001.
176. Hinterberger M, Pettersson I, Steitz JA. Isolation of small nuclear ribonucleoproteins containing U1,U2,U4,U5, and U6 RNAs. *J Biol Chem* 258:2604-13; 1983.
177. Hitchon CA, Peschken CA. Sm antibodies increase risk of death in systemic lupus erythematosus. *Lupus* 16: 186-194; 2007.
178. Ho A, Magder LS, Barr SG, Petri M. Decreased in anti-double-stranded DNA levels are associated with concurrent flares in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 44(10):2342-9; 2001.

179. Hochberg MC, Boyd RE, Ahearn JM. Systemic lupus erythematosus: a review of clinico-laboratory features and immunogenetic markers in 150 patients with emphasis on demographic subsets. *Medicine* 64:285-295; 1985.
180. Hochberg MC, Perlmutter DL, Medsger TA, et al. Prevalence of self-reported physician-diagnosed systemic lupus erythematosus in the USA. *Lupus* 1995;4:454-456.
181. Hochberg MC. Mortality from systemic lupus erythematosus in in England and Wales. *Br J Rheumatol* 26:437-441; 1987.
182. Hochberg MC. The incidence of systemic lupus erythematosus in Baltimore, Maryland, 1970-1977. *Arthritis Rheum* 28:80-86; 1985.
183. Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology Revised Criteria for the Classification of Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis Rheum* 40: 1725; 1997.
184. Holborow J, Weir DM, Johnson GD. A serum factor in lupus erythematosus with affinity for tissue nuclei. *Br Med J* 2:732-34; 1957.
185. Holman HR, Kunkel HG. Affinity between the lupus erythematosus serum factor and cell nuclei and nucleoprotein. *Science* 126:162-63; 1957.
186. Homma M, Mimori T, yoshihiko T, akama H, Yoshida T, Ogasawara T, et al. Autoantibodies to the Sm antigen: immunological approach to clinical aspects of systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 14 (suppl 13):88-193; 1987.
187. Hopkinson ND, Doherty M, Powell RJ. The prevalence and incidence of systemic lupus erythematosus in Nottingham, UK, 1989-1990. *Br J Rheumatol* 32: 110-115; 1993.
188. Hopkinson ND, Jenkinson C, Muir KR et al. Racial group, socioeconomic status, and the development of persistent proteinuria in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 59: 116-119; 2000.
189. Horbach DA, van Oort E, Donders RC et al. Lupus anticoagulant is the strongest risk factor for both venous and arterial thrombosis in patients with systemic lupus erythematosus –comparasion between different assays for the detection of antiphospholipid antibodies. *Thromb Haemost* 76: 916-924; 1996.
190. Horvath L, Czirjak L, Fekete B et al. High levels of antibodies against C1q are associated with disease activity and nephritis but not with other organ manifestations in SLE patients. *Clin Exp Rheumatol* 19:667-672; 2001.
191. Horwitz DA, Zheng SG, Gray JD, et al. Regulatory T cells generated ex vivo as an approach fo the therapy of autoimmune disease. *Semin Immunol* 16: 135-143; 2004.

192. Houman MH, Smiti-Khanfir M, Ben Ghorbell I, Miled M. Systemic lupus erythematosus in Tunisia: demographic and clinical analysis of 100 patients. *Lupus* 13: 204-211; 2004.
193. Houssiau FA, D'Cruz DP, Haga HJ, Hughes GR: Short course of weekly low dose intravenous pulse cyclophosphamide in the treatment of lupus nephritis. A preliminary study. *Lupus* 1:31-35;1991.
194. Houssiau FA, Vasconcelos C, D 'Cruz D, et al. IMMunosuppressive therapy in lupus nephritis : The Euro-Lupus Nephritis Trial, a randomized trial of low-dose versus hig-dose intravenous cyclophosphamide. *Arthritis Rheum* 46:2121-2131; 2002.
195. Houssiau FA, Vasconcelos C, D'Cruz d, et al. Early response to immunosuppressive therapy predicts good renal outcome in lupus nephritis. Lessons from long term follow up of patients in the Euro Lupus Nephritis Trial. *Arthritis & Rheum* 50: 3934-40; 2004.
196. Houssiau FA. Mamageent of Lupus Nephritis: AN Update. *J Am Soc Nephrol* 15: 2694-2704; 2004.
197. Howie AJ, Turhan N, Adu D. Powerful morphometric indicator of prognosis in lupus nephritis. *Q J Med* 96:411-420; 2003.
198. Hu W, Liu Z, chen H, et al. Mycophenolate mofetil vs cyclophosphamide therapy for patients with diffuse proliferative lupus nephritis. *Chin Med J* 115:705-709;2002.
199. Hughes GRV. Trombosis, abortion, cerebral disease and lupus anticoagulant. *Br Med J* 287:1088-1089; 1983.
200. Huong DLT, Papo T, Beaufils H, et al. Renal involvement in systemic lupus erythematosus. A study of 180 patients from a single center. *Medicine* 78: 148-166; 1999.
201. Illei GG, Austin HA, Crane N, et al. Combination therapy with pulse cyclophosphamide plus pulse methylprednisolone improves long term renal outcome without adding toxicity in patients with lupus nephritis. *Ann Intern med* 135:248-257; 2001.
202. Iseki K, Miyasato F, Oura T, et al. An epidemiologic analysis of endstage lupus nephritis. *Am J Kidney Sis* 23: 547-554; 1994.
203. Isenberg DA, Garton M, Reichlin MW, et al. Long-term follow-up of autoantibody profiles in black female lupus patients and clinical comparison with caucasian and asian patients. *Br J Rheumatol* 36:229-233; 1997.

204. Isenberg DA, Manson M, Ehrenstein MR, et al. Fifty years of anti-ds-DNA antibodies: are we approaching journey's end?. *Rheumatology* 46: 1052-1056; 2007.
205. Isenberg DA. Immunological tests in autoimmune rheumatic disease. *Br J Hosp Med* 50: 215-20; 1993.
206. Jacob CO, Zang S, Li L, et al. Pivotal role of Stat4 and Stat6 in the pathogenesis of the lupus like disease in the New Zealand mixed 2328 mice. *J Immunol* 171:1564-1571; 2003.
207. Jacobsen S, Petersen J, Ullman S, et al. A multicentre study of 513 Danish patients with systemic lupus erythematosus: I. Disease manifestations and analyses of clinical subsets. *Clin Rheumatol* 17: 468-477; 1998.
208. Jacobson DL, Gange SJ, Rose NR, et al. Epidemiology and estimated population burden of selected autoimmune diseases in the United States. *Clin Immunol Immunopathol* 84:223-43; 1997.
209. James JA, Dickey DJD, Fujisaka A, et al. Antigenicity of a recombinant Ro (SS-A) fusion protein. *Arthritis Rheum* 33:102-106; 1990.
210. Janwityanuchit S, Verasertniyom O, Vanichapuntu M, et al. Anti-Sm: its predictive value in systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol* 12:350-3; 1993.
211. Johnson AE, Gordon C, Palmer RG, et al. The prevalence and incidence of systemic lupus erythematosus in Birmingham, England. Relationship of ethnicity and country of birth. *Arthritis Rheum* 38: 551-558; 1995.
212. Johnson SR, Urowitz MB, Ibañez D et al. Ethnic variation in disease patterns and health outcomes in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 33: 1990-1995; 2006.
213. Joseph J, Anaya JM, Sandifer M, Scopelitis E, Wilson W, Espinoza LR. Absence of a distinctive autoantibody profile in black women with lupus nephritis. *Arthritis & Rheum* 37:1261-2; 1994.
214. Kachru RB, Sequeira W, Mittal KK. A significant increase in HLA-DR3 and DR2 in systemic lupus erythematosus among blacks. *J Rheumatol* 11: 471; 1984.
215. Kaiser IH. The specificity of periarterial fibrosis of the spleen in disseminated lupus erythematosus. *Bull J Hopkins Hop* 71:31-42; 1942.
216. Kant KS, Pollak VE, Weiss MA, et al. Glomerular thrombosis in systemic lupus erythematosus: prevalence and significance. *Medicine* 60:71-86; 1981.
217. Kaposi M, Neue Beitrage zur kenntnis des Lupus erythematosus. *Arch Dermatol Syph* 4:36-78; 1872.

218. Karassa FB, Afeltra A, Ambrozic A, et al. Accuracy of Anti-Ribosomal P Protein antibody testing for the diagnosis of neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. An international meta-analysis. *Arthritis Rheum* 54: 312-24; 2006.
219. Karim MY, Alba P, Tungekar MF, et al. Hypertension as the presenting feature of the antiphospholipid syndrome. *Lupus* 11:253-256; 2002.
220. Karim MY, Pisoni CM, Ferro L, et al. Reduction of proteinuria with mycophenolate mofetil in predominantly membranous lupus nephropathy. *Rheumatology* 44: 1317-1321; 2005.
221. Kaslow RA. High rate of death caused by systemic lupus erythematosus among US residents of Asian descent. *Arthritis Rheum* 25:414-416; 1982.
222. Kaufman LD, Gomez Reino JJ, Heinicke MH, et al. Male lupus: retrospective analysis of the clinical and laboratory features of 52 patients with a review of the literature. *Sem Arthritis Rheum* 18:189; 1989.
223. Kavanaugh A, Solomon D, and The American College of Rheumatology Ad Hoc Committee On Immunologic Testing Guidelines. Guidelines for Immunologic Laboratory Testing in the Rheumatic Diseases: Anti-DNA Antibody Tests. *Arthritis Rheum* 47(5):546-555; 2002.
224. Kearon C, Gent M, Hirsh J, Weitz J et al. A comparison of three months of anticoagulation with extended anticoagulation for a first episode of idiopathic venous thromboembolism. *N Engl J Med* 340: 901-907; 1999.
225. Keith NM, Rowntree LG. A study of renal complications of disseminated lupus erythematosus: report of four cases. *Trans Assoc Am Physicians* 37 :487-502; 1922.
226. Khamashta MA , Asherson RA. Hughes Syndrome-Antiphospholipid antibodies move closer to thrombosis in 1994. *Br J Rheumatol* 34:493-494; 1995.
227. Khamashta MA. Hughes Syndrome. Second Edition. Springer-Verlag. London 2006.
228. Kievits JH, Goslings J, Schuit HR, et al. Rheumatoid arthritis and the positive LE-cell phenomenon. *Ann Rheum Dis* 15: 211-16; 1956.
229. Kincaid-Smith P, Fairley KF, Kloss M. Lupus anticoagulant associated with renal thrombotic microangiopathy and pregnancy-related renal failure. *Q J Med* 69: 795-815; 1988.
230. Klippel JH. Predicting who will get lupus nephritis. *J Clin Rheumatol* 1:257-259; 1995.

231. Koffler D, Carr RI, Agnello V, et al. Antibodies to polynucleotides: distribution in human serum. *Science* 166: 1648-49; 1969.
232. Koffler D, Schur PH, Kunkel HG. Immunological studies concerning the nephritis of systemic lupus erythematosus. *J Exp Med* 126, 607-623;1967.
233. Koh ET, Boey ML. Late onset of lupus: a clinical and immunological study in a predominantly chinese population. *J Rheumatol* 21:1463-1467; 1994.
234. Kootstra JC, Veninga A, Baelde JJ, et al. Characterization of reactivity of monoclonal autoantibodies with renal antigens in experimental lupus nephritis. *J Clin Lab Immunol* 48:201-18; 1996.
235. Korbet SM, Schwartz MM, Evans J, et al. Severe Lupus Nephritis: Racial differences in presentation and outcomes. *J Am Soc Nephrol* 18: 244-54; 2007.
236. Koren E, Koscec M, Wolfson-Reichlin M, et al. Murine and human antibodies to native DNA that cross-react with the A and D SmRNP polypeptides cause direct injury of cultured kidney cells. *J Immunol* 154:4857-64; 1995.
237. Kramers C, Hylkema MN, et al. Antinucleosome antibodies complexed to nucleosomal antigens show anti-DNA reactivity and bind to rat glomerular basement membrane in vivo. *J Clin Invest* 94: 568-577; 1994
238. Kurien TB, Scofield RH. Autoantibody determination in the diagnosis of systemic lupus erythematosus. *Scandinavian Journal of Immunology* 64:227-235; 2006.
239. Kurland LT, Hauser WA, Ferguson RH, et al. Epidemiologic features of diffuse connective tissue disorders in Rochester, Minn, 1951 through 1967, with special reference to systemic lupus erythematosus. *Mayo Clin Proc* 44: 649-663; 1969.
240. Lahita RG. Special report: adjusted lupus prevalence. Results of a marketing study by the Lupus Foundation of America. *Lupus* 4:450-453; 1995.
241. Lau CS, Mok MY. Lupus in Asia. *JAMA (SEA)* 14:5-7; 1998.
242. Lau CS, Yin G, Mok MY. Ethnic and geographical differences in systemic lupus erythematosus: an overview. *Lupus* 15:715-719; 2006.
243. Leadbetter EA, Rikkin IR, Hohlbaum AM et al. Chromatin IgG complexes activate B cells by dual engagement of Ig M and Toll like receptors. *Nature* 416:603-607; 2002.
244. Lee SS, Li CS, Li PCK. Clinical Profile of chinese patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2:105-109; 1993.
245. Lefkowitz JB, Gilkeson GS. Nephritogenic autoantibodies in lupus: current concepts and continuing controversies. *Arthritis Rheum* 39: 894-903; 1996.

246. Levine JS, Subang R, Nasr SH, et al. Immunization with an apoptotic cell-binding protein recapitulates the nephritis and sequential autoantibody emergence of systemic lupus erythematosus. *The Journal of Immunology* 177:6504-6516; 2006.
247. Levy Y, Ziporen L, Gilburd B, et al.: Membranous nephropathy in primary antiphospholipid syndrome: description of a case and induction of renal injury in SCID mice. *Hum Antibodies Hybridomas* 7:91-96, 1996.
248. Liang M, Rogers M, Swafford J, et al. The psychological impact systemic lupus erythematosus rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 27: 13-19; 1984.
249. Libman E, Sacks B. A hitherto undescribed form of valvular and mural endocarditis. *Trans assoc Am Physicians* 38: 46-61; 1923.
250. Libman E, Sacks B. A hitherto undescribed form of valvular and mural endocarditis. *Arch Intern Med* 33:701-737; 1924.
251. Lie JT. Medical complications of cocaine and other illicit drug abuse simulating rheumatic disease. *J Rheumatol* 17: 736-37; 1990.
252. Linnik M, Hu J, Heilbrunn Kr et al. and the LJP 394 investigator consortium. Relationship between Anti-Double-Stranded DNA antibodies and exacerbation of renal disease in patients with Systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 52(4):1129-1137; 2005.
253. Loizou S, Samarkos M, Norsworthy PJ, et al. Significance of anticardiolipin and anti- $\beta$ 2-glycoprotein I antibodies in lupus nephritis. *Rheumatology* 39:962-968; 2000.
254. Lopez P, Mozo L, Gutierrez C, Suarez A. Epidemiology of systemic lupus erythematosus in a northern Spanish population: gender and age influence on immunological features. *Lupus* 12: 860-865; 2003.
255. Lopez-Longo FJ, Gonzalez-Fernandez CM, Rodriguez mahou M, et al. Clinical expression of systemic lupus erythematosus with anti-U1-RNP and anti-Sm antibodies. *Rev Clin Esp* 197:329-335; 1997.
256. Love PE, Santoro SA. Antiphospholipid antibodies: anticardiolipin and the lupus anticoagulant in SLE and in non-SLE disorders. *Ann Intern Med* 112:682-698; 1990.
257. Lui SL, Chan LY, Zhang XH et al. Effect of mycophenolate mofetil on nitric oxide production and inducible nitric oxide synthase gene expression during renal ischemia reperfusion injury. *Nephrol Dial Transplant* 16: 1577-1582 ; 2001.
258. Madaio MP, Carlson J, Cataldo J, Ucci A, et al. Murine monoclonal anti-DNA antibodies bind directly to glomerular antigens and form immune deposits. *J Immunol* 138:2883-9; 1987.



259. Maddison PJ, Reichlin M: Deposition of antibodies to a soluble cytoplasmic antigen in the kidneys of patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 22:858-863; 1979.
260. Maddison PJ. Systemic lupus erythematosus in the elderly. *J Rheumatol* 14:182-187; 1987.
261. Mak A, Mok CC, Chu WP, et al. Renal damage in systemic lupus erythematosus: a comparative analysis of different age groups. *Lupus* 16:28-34; 2007.
262. Mak SK, Lam EK, Wong AK. Clinical Profile of patients with late onset SLE: not a benign subgroup. *Lupus* 7:23-28; 1998.
263. Makino H, Kawasaki H, Murakami K, et al. Mechanism of haematuria in lupus nephritis. *Ann Rheum Dis* 54:934-935; 1995.
264. Malik S, Bruner GR, Williams-Weese C, et al. Presence of anti-La autoantibody is associated with a lower risk of nephritis and seizures in lupus patients. *Lupus* 16:863-866; 2007.
265. Manderson AP, Botto M, Walport MJ. The role of complement in systemic lupus erythematosus. *Annu Rev Immunol* 22: 431-456; 2004.
266. Mannik M, Merrill CE, Stamps LD, Wener MH. Multiple autoantibodies form the glomerular immune deposits in patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 30:1495-504; 2003.
267. Manoussakis MN, Georgopolou C, Zintzaras E, et al. Sjogren's Syndrome associated with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 50:882-891; 2004.
268. Manzi S, Selzer F, Sutton-Tyrrell K, et al. Prevalence and risk factors of carotid plaque in women with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 42:51-60; 1999.
269. Martin DA, Elkon KB. Autoantibodies make a U-turn; the toll hypothesis for autoantibody specificity. *J Exp Med* 202: 1465-1469; 2005.
270. Marto N, Bertolaccini ML, Calabuig E et al. Anti-C1q antibodies in nephritis: correlation between titres and renal disease activity and positive predictive value in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 64:444-448; 2005.
271. Mc Carty GA, Harley JB, Reichlin M. A distinctive autoantibody profile in black female patients with lupus nephritis. *Arthritis Rheum* 2:15-19; 1993.
272. Mc Clain MT, Heinlen LD, Dennis GJ, et al. Early events in lupus humoral immunity suggest initiation through molecular mimicry. *Nat Med* 2: 1685-1689; 2005.
273. McAllidon T, Giannotta L, Taub N, et al. Environmental factors predicting nephritis in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 52: 720-724; 1993.

274. McCarty DJ, Manzi S, Medsger TA Jr, et al. Incidence of systemic lupus erythematosus . Race and gender differences. *Arthritis Rheum* 38: 1260-1270; 1995.
275. McCluskey R. *Lupus nephritis*. East Norwalk, Conn: Appleton-Century-Crofts 1975.
276. McKenzie KJ, Crowcroft NS. Describing race, ethnicity, and cultural in medical research. *Br Med J* 312: 1054; 1996.
277. McKenzie KJ, Crowcroft NS. Race, ethnicity, culture and science. *Br Med J* 309:286-287; 1994.
278. McLaughlin J, Gladman DD, Urowitz MB, et al. Kidney biopsy in systemic lupus erythematosus.II Survival analysis according to biopsy results. *Arthritis Rheum* 34: 1268-1273; 1991.
279. Means TK, Latz E, Hayashi R, et al. Human lupus autoantibody-DNA complexes activate dendritic cells through cooperation of CD32 and TLR9. *J Clin Invest* 115: 407-417; 2005.
280. Mercadal L, Montcel ST, Nochy D, et al. Factors affecting outcome and prognosis in membranous lupus nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 17:1771-78; 2002.
281. Michelson HE. The history of (LV). *J Invest Dermatol* 7: 261-67; 1946.
282. Michet CJ Jr, Mc Kenna CH, Elveback LR, et al. Epidemiology of systemic lupus erythematosus and other connective tissue diseases in Rochester, Minnesota, 1950 through 1979. *Mayo Clin Proc* 60:105-113; 1985.
283. Migliorini P, Baldini C, Rocchi V, Bombardieri S. Anti-Sm and anti-RNP antibodies. *Autoimmunity* 38 (1):47-54; 2005.
284. Miller MH, Urowitz MB, Gladman DD, et al. Chronic adhesive lupus serositis as a complication of systemic lupus erythematosus. Refractory chest pain and small bowel obstruction. *Arch Inter Med* 144:1863-1864; 1984.
285. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R et al. International Consensus statement on an update of the clasification criteria for definitive antiphospholipid syndrome. *J Thromb Haemost* 4 : 295-306; 2006.
286. Mohan C, Adams S, Stanik V, Datta SK: Nucleosomae: A major immunogen for pathogenic autoantibody –inducing helper T cells from lupus mice: Possible selection by cationic autoantigens. *Proc Nat Acad Sci U S A* 88: 11271-75; 1991.
287. Mok CC, Ho CT, Chan KW, et al. Outcome and prognostic indicators of diffuse proliferative lupus glomerulonephritis treated with sequential oral cyclophosphamide an azathioprine. *Arthritis Rheum* 46:100; 2002.

288. Mok CC, Lau CS. Lupus in Hong Kong Chinese. *Lupus* 12: 717-722; 2003.
289. Mok CC, Lee KW, Ho CT, Lau CS, Wong RW. A prospective study of survival and prognostic indicators of systemic lupus erythematosus in a southern chinese population. *Rheumatology* 39:399-406; 2000.
290. Mok CC, Wong RW, Lau CS. Lupus nephritis in Southern Chinese patients: clinicopathologic findings and long term outcome. *Am J Kidney Dis* 34:315-323; 1999.
291. Mok CC, Ying KC et al. Long-term outcome of diffuse proliferative lupus glomerulonephritis treated with cyclophosphamide . *Am J Med* 119:355; 2006. .
292. Molina JF, Drenkard C, Molina J, et al. Systemic lupus erythematosus in males. A study of 107 Latin American males. *Medicine* 75:124-130; 1996.
293. Molina JF, Gutierrez –Urena S, Molina J, et al. Variability of anticardiolipin antibody isotype distribution in 3 geographic populations of patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 24: 291-296; 1997.
294. Molokhia M, Mckeigue PM, Cuadrado MJ, Hughes G. Systemic lupus erythematosus in migrants from west Africa compared with afro-caribbean people in UK. *Lancet* 357.1414-15; 2001.
295. Mongkoltanatus J, Wangkaew S, Kasitanon N, et al. Clinical features of Thai male lupus: an age-matched controlled study. *Rheumatol Int* 28: 339-44; 2008.
296. Moore AE, Sabachewsky L, Toolan HW. Culture characteristics of four permanent lines of human cancer cells. *Cancer Res* 15:598-602; 1995.
297. Moroni G, Pasquali S, Quaglini S et al. Clinical and prognostic value of serial renal biopsies in lupus nephritis. *Am J Kidney Dis* 34:530-539; 1999.
298. Moroni G, Quaglini S, Gallelli B, et al. The long-term outcome of 93 patients with proliferative lupus nephritis. *Nephrol Dial Trasplant* 22:2531-39; 2007.
299. Moroni G, Ventura D, Riva P, Panzeri P et al. Antiphospholipid antibodies are associated with an increased risk for chronic renal insufficiency in patients with lupus nephritis. *Am J of Kidney Diseases* 43:28-36; 2004.
300. Morton RO, Gershwin ME, Brady C, Steinberg AD. The incidence of systemic lupus erythematosus in North America Indians. *J Rheumatol* 3:186-190; 1976.
301. Moss KE, Isenberg DA. Comparasion of renal disease severity and outcome in patients with primary antiphospholipid syndrome, antiphospholipid syndrome secondary to SLE and SLE alone. *Rheumatology* 40: 863-867; 2001.
302. Muñoz LE, Gaip US, Franz S, et al. SLE-a disease of clearance deficiency?. *Rheumatology* 44: 1101-1107; 2005.

303. Munves EF, Schur PH. Antibodies to Sm and RNP: Prognosticators of disease involvement. *Arthritis Rheum* 26:848-53; 1983.
304. Naiker IP, Rughubar KN, Duursma J, et al.: Anticardiolipin antibodies in South African patients with lupus nephritis: a clinical and renal pathological study. *Am J Nephrol* 20:351-357; 2000.
305. Natejumnong C, Ruangkanchanasetr P, Aimpun P, et al. Significance of antiphospholipid antibodies in lupus nephritis. *J Med Assoc Thai* 89; S121-8; 2006.
306. Nencini P, Baruffi M, Massai G, Amaducci L, Inzitari D. Lupus anticoagulant and anticardiolipin antibodies in young adults with cerebral ischemia. *Stroke* 23: 189-193; 1992.
307. Neogi T, Gladman DD, Ibanez D, Urowitz M. Anti-dsDNA antibody testing by Farr and ELISA techniques is not equivalent. *J Rheumatol* 33(9):1785-8; 2006.
308. Neuburger M. *Geschichte der Medizin*, vol2. Stuttgart: F Enke, 307; 1911.
309. Nived O, Sturfelt G, Wollheim F. Systemic lupus erythematosus in an adult population in southern Sweden: incidence, prevalence, and validity of ARA revised classification criteria. *Br J Rheumatol* 24: 147-154; 1985.
310. Nochy D, Barres D, Camilleri JP, et al. Abnormalities of renin-containing cells in human glomerular and vascular renal diseases. *Kidney Int* 23: 375-379; 1983.
311. Nochy D, Daugas E, Droz D, et al. The intrarenal vascular lesions associated with primary antiphospholipid syndrome. *J Am Soc Nephrol* 10:507-518; 1999.
312. Nossent HC. Systemic Lupus erythematosus in the Arctic region of Norway: *J Rheumatol* 28:539-46; 2001.
313. Nossent J, Cikes N, Kiss E, et al. Current causes of death in systemic lupus erythematosus in Europe, 2000-2004: relation to disease activity and damage accrual. *Lupus* 16:309-317; 2007.
314. Nossent JC. Clinical renal involvement in Afro-caribbean lupus patients. *Lupus* 2:173-176; 2003.
315. Nossent JC. Systemic lupus erythematosus on the Caribbean island of Curacao: an epidemiological investigation. *Ann Rheum Dis* 51:1197-1201; 1992.
316. Osler W. On the visceral complications of erythema exudativum multiforme. *Am J Med Sci* 110:629-46; 1895.
317. Osler W. On the visceral manifestations of the erythema group of skin diseases (third paper). *Trans Assoc Am Physicians* 1903;18:599-624. Also printed in *Am J Med Sci*;127:1-23; 1904.

318. Osler W. The visceral lesions of the erythema group. *Br J Dermatol* 12:227-45; 1900.
319. Ostuni PA, Lazzarin P, Pengo V, et al. Renal artery thrombosis and hypertension in a 13 year-old girl with antiphospholipid syndrome. *Ann Rheum Dis* 49: 184-187; 1990.
320. Paget J. *Lectures on Surgical Pathology*. Philadelphia: Collins & Croft,;305; 1818.
321. Parks CG, Cooper GS, Hudson LL, et al. Association of Epstein Barr virus with systemic lupus erythematosus. : effect modification by race, age and cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4 genotype. *Arthritis Rheum* 52: 1148-1159; 2005.
322. Pasquali S, Banfi G, Zuchelli A et al. Lupus membranous nephropathy: Long term outcome. *Clin Nephrol* 39: 175-182; 1993.
323. Pasten VR, Massardo VL, Rosemberg G et al. Long term outcome of type V lupus membranous glomerulonephritis. *Rev Med Chil* 133: 23-32; 2005.
324. Patel M, Clarke AM, Bruce IN, et al. The prevalence and incidence of biopsy-proven lupus nephritis in UK: evidence of an ethnic gradient. *Arthritis Rheum* 54: 2963-2969; 2006.
325. Perdiguero M, Boronat M, Marco P, et al. The role of antiphospholipid antibodies in lupus nephropathy. *Nephron* 71:35-39; 1995.
326. Peschken CA, Esdaile JM. Systemic lupus erythematosus in North American Indians: A population based study. *J Rheumatol* 27: 1884-1891; 2000.
327. Petri M Kim MY, Kalunian KC et al. Combined oral contraceptive in women with systemic lupus erythematosus. *N Eng J Med* 353: 2550-2558; 2005.
328. Petri M, Bockenstedt L, Colman J, et al. Serial assesment of glomerular filtration in lupus nephritis. *Kidney Int* 34:832-839; 1988.
329. Petri M, Genovese M, engle E, et al. Definition, incidence, and clinical description of flare in systemic lupus erythematosus. A prospective cohort study. *Arthritis Rheum* 34(8):937-944; 1991.
330. Petri M, Perez-Gutthahn S, Longenecker C, et al. Morbidity of systemic lupus erythematosus: role of race and socioeconomic status. *Am J Med* 345-353; 1991.
331. Petri M. Male lupus differs from female lupus in presentation and outcome. *Arthritis Rheum* 40:S162; 1997.
332. Pisetsky DS. DNA as a marker of cell death in systemic lupus erythematosus. *Rheum Dis Clin North Am* 30:575-87; 2004.
333. Pistiner M,Wallace DJ, Nessim S, et al. Lupus erythematosus in the 1980s: a survey of 570 patients. *Semin Arthritis Rheum* 21: 55-64; 1991.

334. Pollak VE, Pirani CL, Dujovne I, et al. The clinical course of lupus nephritis relationship to the renal histologic findings. *Perspect Nephrol Hypertens* 11:167-70; 1973.
335. Pons-Estel BA, Catoggio LJ, Cardiel MH et al. The GLADEL multinational Latin American prospective inception cohort of 1.214 patients with systemic lupus erythematosus: ethnic and disease heterogeneity among "Hispanics". *Medicine* 83:1-17; 2004.
336. Ponticelli C. Treatment of lupus nephritis the advantages of a flexible approach. *Nephrol Dial Trasplant* 12:2057-59; 1997.
337. Prasad R, Ibañez D, Gladman et al. Anti-dsDNA and anti-Sm antibodies do not predict damage in systemic lupus erythematosus. *Lupus* 15:285-291; 2006.
338. Radhakrishnan J, Szaboles M, Nicolaidis M, et al. Lupus membranous nephropathy: course and prognosis in 50 patients. *J Am Soc Nephrol* 4 :284; 1993.
339. Ratain JS, Petri M, Hochberg MC, et al. Accuracy of creatinine clearance in measuring glomerular filtration rate in patients with systemic lupus erythematosus without clinical evidence of renal disease. *Arthritis Rheum* 33:277-280; 1990.
340. Reichlin M, Van Venrooij W. Autoantibodies to the URNP particles; relationship to clinical diagnosis in lupus nephritis. *C Exp Immunol* 83:286-90; 1991.
341. Rein CR , Kostant GH. Lupus erythematosus serologic and chemical aspects. *Arch Dermatol Syph* 60: 356-372; 1949.
342. Reinhart A. Erfahrungen mit der Wasserman-Neisser-Bruckschen Syphilis-reaktion bei Lupus erythematosus acutus. *Munch Med Wochenschr* 57:17; 1910.
343. Rekvig OP, Kalaaji M, Nossent H. Anti-DNA antibody subpopulations and lupus nephritis. *Autoimmun Rev* 3:1-6; 2004.
344. Renal Disease Subcommittee of the American College of Rheumatology Ad Hoc Committee on Systemic lupus erythematosus Response Criteria. The American Collegue of Rheumatology response criteria for proliferative and membranous renal disease in Systemic lupus erythematosus clinical trials. *Arthritis Rheum* 54: 421-432; 2006.
345. Reveille JD, Bartolucci A, Alarcon GS. Prognosis in systemic lupus erythematosus. Negative impact of increasing age at onset, black race and thrombocytopenia, as well as causes of death. *Arthritis Rheum* 33:37-48; 1990.
346. Reveille JD, Moulds JM, Ahn C, et al. Systemic lupus erythematosus in three ethnic groups: I. The effects of HLA class II, C4, CR1 alleles, socioeconomic

- factors, and ethnicity at disease onset. LUMINA Study Group. Lupus in minority populations, nature versus nurture. *Arthritis Rheum* 41: 1161-1172; 1998.
347. Reveille JD. Predictive value of autoantibodies for activity of systemic lupus erythematosus. *Lupus* 13:290-97; 2004.
  348. Riboldi P, Gerosa M, Moroni G, et al. Anti-DNA Antibodies: a diagnostic and prognostic tool for systemic lupus erythematosus ? . *Autoimmunity* 38(1):39-45; 2005.
  349. Risch N. Dissecting racial and ethnic differences. *N Engl J Med* 354:408-411; 2006.
  350. Robbins WC, Holman HR, Deicher HR, et al. Complement Fixation with cell nuclei and DNA in lupus erythematosus. *Proc Soc Exp Biol Med* 96: 575-579; 1957.
  351. Rokeach LA, Haselby JA, Hoch SO. Molecular cloning of a cDNA encoding the human Sm-D autoantigen. *Proc Natl Acad Sci USA*. 85: 4832-36; 1988.
  352. Ropes MW. *Systemic Lupus Erythematosus*. Cambridge, MA: Harvard University Press, 1976.
  353. Rosenmann KD, Moore-Fuller M, Reilly MJ. Connective tissue disease and silicosis. *Am J Ind Med* 35: 375-381; 1999.
  354. Rossi E, Sani C, Zini M, et al. Anticardiolipin antibodies and renovascular hypertension. *Ann Rheum Dis* 51:1180-1181; 1992.
  355. Rothfield NF, Phythyon JM, Mc Ewen C, et al. The role of antinuclear reactions in the diagnosis of systemic lupus erythematosus : a study of 53 cases. *Arthritis Rheum* b4: 223-39; 1961.
  356. Rubin RL, Bell SA, Burlingame RW. Autoantibodies associated with lupus induced by diverse drugs target a similar epitope in the (H2A-H2B)-DNA complex. *J Clin Invest* 90(1):165-173; 1992.
  357. Salmon JE, Millard S, Schachter LA, et al. FcγRIIA alleles are heritable risk factors for lupus nephritis in African-Americans. *J Clin Invest* 97: 1348-1354; 1996.
  358. Samanta A, Feehally J, Roy S et al. High prevalence of systemic disease and mortality in Asian subjects with systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 50: 490-492; 1991.
  359. Sanchez Guerrero J, Gonzalez –Perez M, Durand-Carbajal M et al. Menopause hormonal therapy in women with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 56: 3070-79; 2007.

360. Sanchez Guerrero J, Karlson EW, Liang MH, et al. Past use of oral contraceptives and the risk of developing systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 40: 804-808; 1997.
361. Sanchez Guerrero J, Liang MH, Karson EW, et al. Postmenopausal estrogen therapy and the risk for developing systemic lupus erythematosus. *Ann Intern Med* 122: 430-3; 1995.
362. Sanchez Guerrero J, Uribe AG, Jimenez Santana L, et al. A trial of contraceptive methods in women with systemic lupus erythematosus. *N Eng J Med* 353: 2602-04; 2005.
363. Sangle S, D'Cruz D, Abbs IC, et al. Renal artery stenosis in hypertensive patients with antiphospholipid (Hughes) syndrome: outcome following anticoagulation. *Rheumatology* 44:372-377; 2005.
364. Sangle S, D'Cruz D, Wajanat J, et al. Renal artery stenosis in antiphospholipid syndrome and hypertension. *Ann Rheum Dis* 62: 999-1002; 2003.
365. Sanna G, Bertolaccini MI, et al. Neuropsychiatric manifestations in systemic luous erythematosus: Prevalance and association with antiphospholipid antiboides. *J Rheumatol* 30:985-92; 2003.
366. Sapar CB, Breda CD. The neurologic basis of fever. *N Engl J Med* 330: 1880-1886; 1994.
367. Savarese E, Chae OW, Trowitzsch S, et al. U1 small ribonucleoprotein immune complexes induce type 1 interferon in plasmocytoid dendritic cells via TLR7. *Blood* 107: 3229-34; 2006.
368. Schmauss G, McAllister G, Ohosone Y, et al. A comparison of snRNP-associated autoantigens :human N, rat N and human Sm B/B`. *Nuclei Acids Res* 17: 1733-1743; 1989.
369. Schneebaum AB, Singleton JD, West SG et al. Association of psychiatric manifestations with antibodies to ribosomal P proteins in systemic lupus erythematosus. *Am J Med* 90:54-62; 1991.
370. Schulman S, Svenungsson E, Granqvist S and the duration of Anticoagulation Study Group. Anticardiolipin Antibodies predict early recurrence of Thromboembolism and death among patients with venous thromboembolism following anticoagulant therapy. *Am J Med* 104: 332-338; 1998.
371. Schulze M, Donadio JV Jr., Pruchno CJ et al. Elevated urinary excretion of the C5b-9 complex in membranous nephropathy. *Kideny Int* 40: 533-538; 1991.



372. Schved JF, Dupuy-Fons C, Biron C, Quere I, Janbon C. A prospective epidemiological study on the occurrence of antiphospholipid antibody: The Montpellier Antiphospholipid (MAP) Study. *Haemostasis* 24:175-182; 1994.
373. Schwartz MM, Kawala K, Roberts JL et al. Clinical and pathological features in membranous glomerulonephritis of systemic lupus erythematosus. *Am J Nephrol* 4: 301; 1984.
374. Schwartz MM, Lan SP, Bernstein J et al. Role of the pathology indices in the management of severe glomerulonephritis. LN Collaborative Study Group. *Kidney Int* 42: 743-48; 1992.
375. Schwartz MM, Lan SP, Bernstein J et al. Role of the pathology indices in the management of severe glomerulonephritis. LN Collaborative Study Group. *Kidney Int* 42: 743-50; 1992.
376. Segasothy M, Phillips PA. Systemic lupus erythematosus in Aborigines and Caucasians in Central Australia: a comparative study. *Lupus* 10:439-444 ; 2001.
377. Seligman VA, Lum RF, Olson JL, et al. Demographic differences in the development of lupus nephritis: a retrospective analysis. *Am J Med* 112:726-729; 2002.
378. Serdula MK, Rhoads GG. Frequency of systemic lupus erythematosus in different ethnic groups in Hawaii. *Arthritis Rheum* 22: 328-333; 1979.
379. Shankland SJ. New insights in to the pathogenesis of membranous nephropathy. *Kidney Int* 57: 1204-1205; 2000.
380. Sheldon J. Laboratory testing in autoimmune rheumatic diseases. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 18: 249-269; 2004.
381. Sherer Y, Gorstein A, Fritzler MJ, Shoenfeld Y. Autoantibody explosion in systemic lupus erythematosus: more than 100 different antibodies found in SLE patients. *Semin Arthritis Rheum* 34: 501-537; 2004.
382. Shoenfeld Y, Isenberg . The mosaic of Autoimmunity ( The factors associated with Autoimmune Disease). Amsterdam: Elsevier,1989.
383. Shrivastava A, Dwivedi S, Aggarwal A, et al. Anticardiolipin and anti-beta 2 glycoprotein I antibodies in Indian patients with systemic lupus erythematosus: association with the presence of seizures. *Lupus* 10:45-50; 2001.
384. Siegel M, Holley H, Lee SL. Epidemiologic studies on systemic lupus erythematosus, comparative data for New York City in Jefferson County,AL,1956-1965. *Arthritis Rheum* 13:802-11; 1970.

385. Siegel M, Lee SL. The epidemiology of systemic lupus erythematosus. *Semin Arthritis Rheum* 3:1-54; 1973.
386. Simmons-O'Brien E, Suephy C, Watson R, et al. One hundred anti-Ro(SSA) antibody patients : a 10 year follow up. *Medicine* 74: 109-130; 1995.
387. Sloan RP, Schwartz MM, Korbet SM, et al. Long term outcome in systemic lupus erythematosus membranous glomerulonephritis. *Lupus Nephritis Collaborative Study Group. J Am Soc Nephrol* 7:299-305; 1996.
388. Smeenk RJ, van den Brink HG, Brinkman K, et al. Anti-dsDNA :choice of assay in relation to clinical value. *Rheumatol Int* 11(3):101-107; 1991.
389. Smith CD, Cyr M. The history of lupus erythematosus from Hippocrates to Osler. *Rheum Dis Clin North Am* 14:1-19; 1988.
390. Solomon DH, Kavanaugh AJ, Schur PH. Evidence-based guidelines for the use of immunologic tests : antinuclear antibody testing. *Arthritis Rheum* 47(5): 546-555; 2002.
391. Stahl NI, Klippel JH, Decker JL. Fever in systemic lupus erythematosus. *Am J Med* 67: 935-40; 1979.
392. Stahl-Hallengren C, Jonsen A, Nived O, et al. Incidence studies of systemic lupus erythematosus in Southern Sweden: increasing age, decreasing frequency of renal manifestations and good prognosis. *J Rheumatol* 27:685-691; 2000.
393. Stevens AM, Tsao BP, Hahn BH et al. Maternal HLA Class II compatibility in men with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 52: 2768-2773; 2005.
394. Sthoeger ZM, Tartakovsky B, Bentwich Z, Mozes E. Monoclonal anticardiolipin antibodies derived from mice with experimental lupus erythematosus: characterization and the induction of a secondary antiphospholipid syndrome. *J Clin Immunol* 13: 127-138; 1993.
395. Sun HO, Hu WX, Xie HL, et al. Long term outcome of chinese patients with membranous lupus nephropathy. *Lupus* 17:56-61; 2008.
396. Swanson PC, Yung RL, Blatt NB et al. Ligand recognition by murine anti-DNA autoantibodies. II genetic analysis and pathogenecity. *J Clin Invest* 97:1748-60; 1996.
397. Tan EM, Chan EK, Sullivan KF, et al. Antinuclear antibodies (ANA): diagnostically specific immune markers and clues toward the understanding of systemic autoimmunity. *Clin Immunol Immunopathol* 47:121-141; 1988.
398. Tan EM, Cohen AS, Fries JF, et al. Special article: the 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 25: 1271-1277; 1982.

399. Tan EM, Kunkel HG. Characteristics of a soluble nuclear antigen precipitating with sera of patients with systemic lupus erythematosus. *J Immunol* 96: 464-471; 1966.
400. Tan EM, Schur PH, Carr RI, et al. Deoxyribonucleic acid (DNA) and antibodies to DNA in the serum of patients with systemic lupus erythematosus. *J Clin Invest* 45: 1732-40; 1966.
401. Tan EM, Smolen JS, McDougal JS, et al. A critical evaluation of enzyme immunoassay kits for detection of antinuclear autoantibodies of defined specificities. II. Potential for quantification of antibody content. *J Rheumatol* 29 (1):68-74; 2002.
402. Tan EM. Autoantibodies to nuclear antigens (ANA): their immunobiology and medicine. *Adv Immunol* 33: 167-240; 1982.
403. Tapanes FJ, Vasquez M, Ramirez R, et al. Cluster analysis of antinuclear autoantibodies in the prognosis of SLE nephropathy: are anti-extractable nuclear antibodies protective? *Lupus* 9: 437-444; 2000.
404. Teh LS, Isenberg DA. Antiribosomal P protein antibodies in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 37: 307-315; 1994.
405. Teh Ls, Lee MK, Wang F et al. Antiribosomal P protein antibodies and in different populations of patients with systemic lupus erythematosus. *Br J Rheumatol* 32:663-665; 1993.
406. Tektonidou M, Sotsiou F, Nakopoulou L, et al. Antiphospholipid Syndrome Nephropathy in patients with systemic lupus erythematosus and antiphospholipid antibodies. *Arthritis Rheum* 50 :2569-79 ; 2004.
407. ter Borg EJ, Horst G, Hummel EJ, et al. Measurement of increases in anti-double-stranded DNA antibody levels as a predictor of disease exacerbation in systemic lupus erythematosus. A long term, prospective study. *Arthritis Rheum* 33(5):634-44; 1990.
408. Thompson D, Juby A, Davis P. The clinical significance of autoantibody profiles in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2:15-19; 1993.
409. Thumbo J, Uramoto K, O'Fallon WM, et al. A comparative study of clinical manifestations of systemic lupus erythematosus in caucasians in Rochester, Minnesota, and in chinese in Singapore, from 1980 to 1992. *Arthritis Rheum* 45: 494-500; 2001.
410. Toolan HW. Transplantable human neoplasms maintained in cortisone-treated laboratory animals. *Cancer Res* 14:660-666; 1954.
411. Tsai CY, Yu CL, Wu TH, et al. Polyclonal anticardiolipin antibodies purified from sera of patients with active systemic lupus erythematosus induce apoptosis of the cultured glomerular mesangial cells. *Scand J Rheumatol* 29: 370-379; 2000.

412. Uramoto KM, Michet CJ Jr, Thumboo J, et al. Trends in the incidence and mortality of systemic lupus erythematosus, 1950-1992. *Arthritis Rheum* 42: 46-50.
413. Urowitz MB, Bookman AA, Koehler BE, et al. The bimodal mortality pattern of systemic lupus erythematosus. *Am J Med* 1976, 60: 221-225; 1999.
414. Vaarala O, Puurunen M, Manttari M et al. Anticardiolipin antibodies and risk of myocardial infarction in a prospective cohort of middle aged men. *Circulation* 91: 23-27; 1995.
415. Van Bruggen MC, Kramers C, et al. Nucleosomes and histones are present in glomerular deposits in human lupus nephritis. *Nephrol Dial Transplant* 12:57-66; 1997.
416. Vila LM, Alarcon GS, McGwin G Jr. et al. Early clinical manifestations, disease activity and damage of systemic lupus erythematosus among two distinct US Hispanic populations. *Rheumatology* 43:358-363; 2004.
417. Vilar MJ, Sato EI. Estimating the incidence of systemic lupus erythematosus in a tropical region ( Natal, Brazil). *Lupus* 11: 528-532; 2002.
418. Von Hebra F. Jahresbericht uber die forschritte der gesammten Medicine in allen landern im Jahre, 1845. Canstatt BF, Eisermann G, eds. Erlangen: F Enke, 226-227; 1846.
419. Waldman M, Madaio MP. Pathogenic autoantibodies in lupus nephritis. *Lupus* 14:19-24; 2005.
420. Wallace DJ, Hahn BH. *Dubois`Lupus Erythematosus*. LIPPINCOTT WILLIAMS&WILKINS, New York ; 2007.
421. Wallace DJ, Lyon I. Pierre Cazenave and the first detailed modern description of lupus erythematosus. *Semin Arthritis Rheum* 28:305-313 ; 1999.
422. Walport MJ. Complement. Part 1. *N Engl J Med* 344:1058-66; 2001.
423. Walport MJ. Complement. Part 2. *N Engl J Med* 344:1140-4 ; 2001.
424. Walsh SJ, Dechello LM. Geographical variation in mortality from systemic lupus erythematosus in the United States. *Lupus* 10(9):637-646; 2001.
425. Wang F, Wang CL, Tan CT et al. Systemic lupus erythematosus in Malaysia: a study of 539 patients and comparison of prevalence and disease expression in different racial and gender groups. *Lupus* 3: 248-253; 1997.
426. Ward M. Hospital experience and mortality in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 42:891-98; 1999.

427. Ward MM, Studenski S. Clinical manifestations of systemic lupus erythematosus: identification of racial and socio-economic influences. *Arch Int Med* 150: 849-853; 1990.
428. Ward MM, Studenski S. Systemic lupus erythematosus in men: a multivariate analysis of gender differences in clinical manifestations. *J Rheumatol* 17: 220-224; 1990.
429. Ward MM. Cardiovascular and cerebrovascular morbidity and mortality among women with end-stage renal disease attributable to lupus nephritis. *Am J Kidney Dis* 36:516-525; 2000.
430. Ward MM. Prevalence of physician-diagnosed systemic lupus erythematosus in the United States: results from the third national health and nutrition examination survey. *J Womens Health (Larchmt)* 13:713-718; 2004.
431. Wasicek CA, Reichlin M. Clinical and serological differences between systemic lupus erythematosus patients with antibodies to Ro versus patients with antibodies to Ro and La. *J Clin Invest* 69:835-43; 1982.
432. Wasicek CA, Reichlin M. Clinical and serological differences between systemic lupus erythematosus patients with antibodies to Ro versus patients with antibodies to Ro and La. *J Clin Invest* 69:835-43. 1982.
433. Waters ST, McDuffie M, Bagavant H, et al. Breaking tolerance to double stranded DNA, nucleosome, and other nuclear antigens is not required for the pathogenesis of lupus glomerulonephritis. *J Exp Med*; 199:255-264; 2004.
434. Weening JJ, Dagati VD, Schwartz MM et al. The Classification of Glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited. *J Am Soc Nephrol* 15:241-250; 2004.
435. Weinstein A, Bordwell B, Stone B, et al. Antibodies to native DNA and serum complement (C3) levels. Application to diagnosis and classification of systemic lupus erythematosus. *Am J Med* 74: 206-216; 1983.
436. Wilson E. *On Diseases of the Skin*. 5<sup>th</sup> American Edition from 5<sup>th</sup> London Ed. Philadelphia: Blanchard & Lea, 1863.
437. Wilson R, Provost TT, Bias WB, et al. Sjogren's Syndrome: Influence of multiple HLA-D region alloantigens on clinical and serological expression. *Arthritis Rheum* 27: 1245-1253; 1984.

438. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T et al. International Consensus Statement on preliminary classification criteria for definitive Antiphospholipid Síndrome. Report of an international workshop. *Arthritis Rheum* 42:1309-1311; 1999.
439. Wilson WA, Scopelitis E, Michalski JP. Association of HLA-DR7 with both antibody to SSA (Ro) and disease suceptibility in blacks with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 11:653-657; 1984.
440. Worrall JG, Snaith ML, Batchelor JR, et al. SLE: a rheumatologic view. Analysis of clinical features, serology, and immunogenetics of 100 SLE patients during long-term follow up . *Q J Med* 74:319-330; 1990.
441. Xie C, Liang Z, Chang S, et al. Use of a novel elution regimen reveals the dominance of polyreactive antinuclear antibodies in lupus kidneys. *Arthritis Rheum* 30:1495-504; 2003.
442. Yee CS, Hussein H, Skan J, et al. Association of damage with autoantibody profile, age, race, sex and disease duration in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology* 42: 276-279; 2003.
443. Yeung CK, Ng WL, Wong WS, et al. Acute deterioration in renal function in systemic lupus erythematosus. *Q J Med* 56: 393-402; 1985.
444. Yoo CW, Kim MK, Lee HS. Predictors of renal outcome in diffuse proliferative lupus nephropathy: data from repeat renal biopsy. *Nephrol Dial Trasplant* 15:1604-8; 2000.
445. Zea M, Rodriguez G, Irigoyen O, et al. Antiphospholipid Antibodies in systemic lupus erythematosus: incidence, significance and relation to lupus nephritis. *Med Clin ( Barc)* 92 : 724-8; 1989.
446. Zhao Z, Weinstein E, Tuzova M, et al. Cross-reactivity of human lupus anti-DNA antibodies with alpha-actinin and nephritogenic potential. *Arthritis Rheum* 52: 522-530; 2005.
447. Zonana-Nacach A, Barr SG, Magder LS, Petri M. Damage in systemic lupus erythematosus and its association with corticosteroids. *Arthritis Rheum* 43: 1801-08; 2000.

## 8. APENDICES

### 8. APÉNDICE 1

#### Ficha de Recolección de datos

**NOMBRE Y APELLIDO:**

**Nº DE HISTORIA CLÍNICA:**

**HOSPITAL:** St. Thomas´s – Córdoba

**FECHA DE NACIMIENTO:**

**SEXO:** femenino 0- Masculino-1

**ETNICIDAD**

- 1) Caucásico
- 2) Negros (a- Afro caribeños, b-afro africanos)
- 3) Asiáticos (a-indios, b-chinos, c-japoneses)
- 4)Mestizos

#### **CRITERIOS DE LES:**

1- Rash Malar	1 - 0
2-Rash Discoide	1 - 0
3-Fotosensibilidad	1 - 0
4-Ulceras orales	1 - 0
5-Artritis	1 - 0
6-Serositis: a) Pleuritis	1 - 0
b) Pericarditis	1 - 0
7- Alteraciones renales: a) Proteinuria >0.5 grs./d	1 - 0
b) Cilindros	1 - 0
8-Alteraciones Neurológicas: a) Convulsiones	1 - 0
b) Psicosis	1 - 0
9-Alteraciones hematológicas:	
a) Anemia hemolítica	1 - 0
b) Leucopenia < 4000	1 - 0
c) Trombocitopenia < 100.000	1 - 0
10-Alteraciones Inmunológicas: a) Ds-DNA	1 - 0
b) Sm	1 - 0
c) ACA	1 - 0

	d) AL	1 - 0
11- ANA		1 - 0

**FECHA DEL DIAGNÓSTICO DE LES:  
LABORATORIO INMUNOLÓGICO**

1- ANA	1-0
2-ds-DNA	1-0
3- RNP	1-0
4-Sm	1-0
5- Ro	1-0
6-La	1-0
7-ACA Ig G	1-0
8- ACA Ig M	1-0
9-AL	1-0

<b>DIAGNÓSTICO DE SAF</b>	1-0		Fecha:
1) Trombosis Arterial	1-0	Número de eventos:	Fecha:
2) Trombosis Venosa	1-0	Número de eventos:	Fecha:
3) Morbilidad Obstétrica	1-0		Fecha:
a) > 3 abortos de < 10 semanas	1-0		Fecha:
b) Muerte Fetal	1-0		Fecha:
c) Preeclampsia-RCIU	1-0		Fecha:

**BIOPSIA RENAL**

(Si hay más de una biopsia durante el seguimiento anotar todos los datos de las mismas)

Fecha de la Biopsia:

Clasificación *ISN/RPS* 2004

Clase Histopatológica:

Índice de actividad:

Índice de cronicidad:

Número de glomérulos:



Número de glomérulos con semilunas

Número de glomérulos esclerosados:

### **PRESENTACIÓN DE LA ENFERMEDAD RENAL**

1) Hematuria 1 - 0

2) HTA 1 - 0

3) Alteración de la función renal 1 - 0

4) Proteinuria basal:

5) Creatinina Basal:

6) Albúmina basal:

7) Ds-DNA: 1 - 0

8) C3:

9) C4:

10) Colesterol

11) Triglicéridos

12) TA:

13) Peso:

### **TRATAMIENTO**

1) Prednisona : 1 - 0 Fecha de comienzo: Dosis promedio:

2) Prednisona + AZA 1 - 0 Fecha de comienzo: Dosis promedio:

3) Prednisona +CF oral 1 - 0 Fecha de comienzo: Dosis promedio:

4) Prednisona + CF EV 1 - 0 Fecha de comienzo: Dosis promedio:  
( semanal 6)

5) Prednisona + CF EV 1 - 0 Fecha de comienzo: Dosis promedio:  
Mensual

6) Prednisona + MMF 1 - 0 Fecha de comienzo: Dosis promedio:

7) HCQ 1 - 0 Fecha de comienzo: Dosis promedio:

8) Inhibidores ECA m 1 - 0 Fecha de comienzo: Dosis promedio:

- 9) Warfarina 1 - 0 Fecha de comienzo: Dosis promedio:
- 10). Acido 1 - 0 Fecha de comienzo: Dosis promedio:  
acetilsalicílico
- 11) Estrógenos 1 - 0 Fecha de comienzo: Dosis promedio:
- 12) Otros: Especificar  
droga fecha de  
comienzo y dosis  
promedio

### **PRONOSTICO RENAL**

Fecha de la última visita:

EDTA-GFR a la última  
visita:

Duplicación creatinina: 1-0

ERT: 1-0 a) Diálisis 1-0 b) Trasplante 1-0 c) Sin Tratamiento 1-0

Fecha de ERT:

Muerte: 1-0 a) Fecha de la b) Causa:  
muerte

### **HOSPITALIZACIONES Y EVENTOS ADVERSOS**

(Causas: Infecciones, Eventos vasculares, etc)

- 1.
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.
- 6.

## 8. B. APENDICE 2

### NEFROPATÍA POR SAF Y LES

#### FICHA DE ANATOMÍA PATOLÓGICA

Nombre:

Edad:

Sexo:

DNI:

Nº HC:

Fecha de la Biopsia:

Número de Biopsia: 1-2-3

Indicación de Biopsia:

Número de Glomérulos:

Número de vasos:

### **NEFROPATÍA LÚPICA**

Clase I	NL mesangial mínima
Clase II	NL proliferativa mesangial
Clase III Clase III (A) Clase III (A/C) Clase III (C)	NL focal
Clase IV Clase IV – S (A) Clase IV – G (A) Clase IV – S (A/C) Clase IV – S (C) Clase IV – G (C)	NL difusa
Clase V	NL membranosa
Clase VI	NL avanzada esclerosada

Clase histopatológica de NL:

Índice de actividad:

Índice de cronicidad:

## **NEFROPATÍA POR SAF**

1) Glomerulares: a) Número de Glomérulos con Esclerosis Global:

b) Lesiones

a) Expansión Mesangial	Sí-1	No-0
b) Mesangiólisis	Sí-1	No-0
c) Colapso Capilar Glomerular	Sí-1	No-0
d) Doble Contorno	Sí-1	No-0
e) Depósitos subendoteliales	Sí-1	No-0
f) Trombos Intracapilares	Sí-1	No-0
g) Infarto Hemorrágico	Sí-1	No-0
h) Necrosis	Sí-1	No-0
i) Glomeruloesclerosis Segmentaria Focal	Sí-1	No-0
j) Glomeruloesclerosis Segmentaria Difusa	Sí-1	No-0
k) Glomeruloesclerosis Global Focal	Sí-1	No-0
l) Glomeruloesclerosis Global Difusa	Sí-1	No-0

### **2) Intersticio**

a) Porcentaje de Fibrosis:

b) Atrofia Tubular:	Sí-1	No-0
c) Tiroidización:	Sí-1	No-0

### **3) Vasos comprometidos:**

a) Arterias Interlobulares y arcuatas:

1- Arteriolesclerosis:	Sí-1	No-0
2- Hiperplasia Fibrointimal	Sí-1	No-0
3- Trombosis organizada	Sí-1	No-0
4- Trombosis Laminar	Sí-1	No-0
5- Edema	Sí-1	No-0
6- Degeneración mucoide	Sí-1	No-0
7- Necrosis	Sí-1	No-0
8- Vasculitis	Sí-1	No-0

b) Lesiones Arteriolares:

1- Hialinosis:	Sí-1	No-0
2- Esclerosis:	Sí-1	No-0
3- MAT con oclusión fibrina:	Sí-1	No-0
4- Oclusión Vascular	Sí-1	No-0
5- Vasculitis	Sí-1	No-0

**4) Atrofia Cortical Focal:** Sí-1 No-0

### **8.C. APÉNDICE 3**

#### **Consentimiento informado para participar en el estudio:**

“Nefritis Lúpica. Factores asociados y pronósticos en una población multiétnica”.

Investigador: Dra. Paula B. Alba Moreyra.

Lugar: Hospital Córdoba. Sección Reumatología. Servicio de Clínica Médica.

#### Declaración Introductoria

La información que se detallará a continuación describe este estudio y el rol que usted tendrá como participante del mismo. El investigador responderá cualquier pregunta sobre el estudio y sobre este informe de consentimiento. Por favor sírvase leerlo con atención y siéntase libre de hacer cualquier pregunta que surja del mismo.

#### Propósito del estudio:

El Lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad autoinmune, multisistémica que se caracteriza por numerosos patrones de manifestaciones clínicas e inmunológicas. Uno de los marcadores distintivos es la producción de autoanticuerpos, especialmente a antígenos nucleares que incluyen DNA doble cadena (ds-DNA), histonas, y ribonucleoproteínas solubles (RNP) y antígeno Sm.

El compromiso renal es reconocido como una de las complicaciones más serias en el LES, que ocurre en el 40 al 75% de los pacientes, a menudo dentro de los primeros cinco años de la enfermedad y es uno de los factores más importantes de mal pronóstico.

La nefritis lúpica (NL) ha sido asociada a la presencia de numerosos anticuerpos anticuerpos y el rol de estos anticuerpos es fundamental para predecir que se desarrolle la enfermedad renal y el pronóstico de la misma. Por otra parte, algunos estudios han reconocido que las diferencias étnicas pueden influenciar la expresión clínica de la enfermedad y diferentes perfiles de autoanticuerpos.

La presentación de la enfermedad renal es proteiforme y comprende desde la nefritis asintomática hasta la pérdida de proteínas, presencia de sangre en la orina y falla de la función renal. El curso de la NL es también altamente variable y múltiples factores clínicos, serológicos e histopatológicos dependientes del tiempo son responsables del pronóstico final. El pronóstico de pacientes con LES ha mejorado significativamente en las últimas décadas. La supervivencia de pacientes con NL también se ha incrementado a más del 80% a los 5 años en la década del 90 comparado con el 50% previo reportado en los años 60. La mejoría es particularmente marcada en los tipos proliferativos de glomerulonefritis y puede ser atribuido al reconocimiento y diagnóstico temprano así como

al uso de terapias como los agentes citotóxicos y un mayor acceso a la diálisis y al trasplante.

Numerosos estudios epidemiológicos en pacientes con LN han sido publicados y más de trece factores de riesgos independientes predictores de progresión han sido identificados. Dentro de ellos se incluye la edad, sexo, raza, factor socioeconómico, polimorfismos genéticos, anticuerpos anti-dsDNA, anticuerpos antifosfolípidos, anticuerpos anti C1 q, el tipo histopatológico, los índices de actividad y cronicidad, la atrofia tubular, la transformación histológica, la trombosis capilar, los elevados niveles de creatinina, el síndrome nefrótico, la hipertensión persistente, la falta de remisión clínica en el primer año, la hipocomplementemia, el retraso en el tratamiento, el tipo de tratamiento instituido, los brotes renales y la falta de adherencia al tratamiento.

Los objetivos de este estudio son poder estudiar los factores demográficos, que son la edad, sexo, grupo étnico, y los inmunológicos (anticuerpos que se realizan de rutina en el diagnóstico de su enfermedad) en el desarrollo de la nefropatía y estudiar los diferentes factores pronósticos, específicamente los anticuerpos antifosfolípidos, y la presencia de nefropatía por Síndrome antifosfolípido.

. Los pacientes se dividirán de acuerdo a su origen étnico en blancos (caucásicos), negros (africanos, y caribeños), asiáticos (chinos, indios, japoneses) y mestizos. La edad será estimada a la instalación de la enfermedad y la duración de la enfermedad acorde a la aparición de los primeros síntomas de lupus recolectados en la historia clínica.

Los siguientes parámetros serán recolectados de su historia clínica al momento de la biopsia y confirmados con una entrevista a Ud. sobre: edad, sexo, duración del LES, antecedentes de embarazo si Ud. fuera de sexo femenino, trombosis arterial o venosa, artritis, rash malar o discoide, úlceras orales, fotosensibilidad, fenómeno de raynaud, livedo reticularis, serositis, la presencia de hematuria, la presencia y cantidad de proteinuria, el primer nivel de creatinina. Los anticuerpos anti ds-Dna, niveles de C3 Y C4, plaquetas, hematocrito, recuento de glóbulos blancos y la presión arterial serán extraídos de las historias clínicas al momento de la biopsia. La hipertensión arterial será considerada de estar presente cuando la presión arterial sistólica y diastólica fuera persistentemente elevadas por encima de 140 M<sup>a</sup> y 90 MMHG respectivamente y una terapia antihipertensiva fuera instituida en algún momento de la enfermedad. Los datos acerca del tratamiento recibido con diferentes drogas serán recolectados. Se evaluarán los datos relacionados a su biopsia renal, clase de nefropatía que Ud. presentó y se analizarán en su biopsia renal la presencia de nefropatía por SAF.

Su participación consistirá en permitir utilizar la información que se encuentra en la historia clínica de todos estos datos. Este estudio no requiere de ninguna intervención diagnóstica ni terapéutica, esto significa que se recolectara datos de lo realizado en su asistencia por parte de sus médicos.

Ud. no obtendrá ningún beneficio personal de este estudio pero el análisis de los resultados obtenidos permitirá servir a la sociedad contribuyendo al conocimiento de los factores que contribuyen al desarrollo de la enfermedad renal y al pronóstico en el LES.

#### Confidencialidad

Se garantiza la confidencialidad, a excepción de que un comité de ética, u otras personas que la ley autorice dispongan la necesidad de revisar la planilla de datos elaborada para este estudio que lo identifica a Ud. por su nombre al igual que el informe del consentimiento firmado que serán guardados por el médico investigador.

Los resultados de este estudio podrán ser presentados en congresos o publicaciones científicas, de todos modos su identidad no será revelada en dichas presentaciones.

#### Intereses comerciales

No existen intereses comerciales, ni económicos ni financieros. No se espera que Ud. ni su familia, ni los investigadores reciban pago alguno.

#### **Consentimiento:**

**Firma del Voluntario**

**Aclaración**

**Fecha**

**Firma de testigo**

**Aclaración**

**Fecha**

**Firma del Investigador**

**Aclaración**

**Fecha**



## **FE DE ERRATA**

1. En la página 51, renglón 8, palabra 14 dice “218” y debe decir “219”.