

Terapia delle nefriti proliferative lupiche; confronto degli schemi di associazione di farmaci citotossici più steroide rispetto al solo steroide: Linea Guida

P. Stratta, C. Canavese, A. Lupo, C. Pozzi, P. Passerini, L. Cagnoli, C. Manno, G.F.M. Strippoli

Treating lupus nephritis: guideline from the Italian Society of Nephrology

Background. The current 3rd edition of the Italian Society of Nephrology guidelines has been drawn up to summarize evidence of key intervention issues on the basis of systematic reviews (SR) of randomized trials (RCT) or RCT data only. In the present guideline, evidence of lupus nephritis (LN) treatment is presented.

Methods. SR of RCT and RCT on different therapeutic options for LN were identified referring to a Cochrane Library and Renal Health Library search (2005 update).

Results. One SR of 25 RCT and 6 further RCT were available to address this issue. Methodological quality of available RCT was suboptimal according to current methodological standards. In LN patients, combining cyclophosphamide (CyA) and steroids as induction therapy results in a reduced risk of serum creatinine doubling compared to steroids alone, although there is no evidence of significant survival advantage and risk of ovarian failure was demonstrated (evidence from SR). The association of azathioprine (Aza) and steroids significantly reduces the risk of all-cause mortality compared to steroids alone (evidence from SR). No significant survival advantages from the association of plasma exchange and CyA or Aza are proven (evidence from SR). No significant differences on renal and survival endpoints are demonstrated with different dosing of CyA (evidence from RCT).

Conclusion. In LN patients available evidence supports the hypothesis that immunosuppressive agents reduce the risk of all-cause mortality and the risk of progressive renal disease. Further studies are necessary to test new immunosuppressive agents such as mycophenolate mofetil in severe LN patients (*G Ital Nefrol* 2007; 24 (Suppl 37): S50-63)

KEY WORDS: Lupus nephritis, Cyclophosphamide, Azathioprine, Systematic reviews, Randomized trials

PAROLE CHIAVE: Nefrite lupica, Ciclofosfamide, Azatioprina, Revisioni sistematiche, Trials randomizzati controllati

LINEA GUIDA

L'associazione Ciclofosfamide (CICLO) + steroide nella fase di induzione è in grado di ridurre il rischio di raddoppio della creatinemia rispetto al solo steroide, ma non ha alcun impatto sulla mortalità (livello di evidenza 1). Tuttavia il rischio di insufficienza ovarica è significativamente aumentato (livello 1).

L'associazione Azatioprina (AZA) + steroide determina una riduzione del rischio di tutte le cause di morte rispetto al solo steroide (livello 1).

Non sono emersi ulteriori benefici con l'associazione del plasma *exchange* (PE) a CICLO o AZA per quanto riguarda la mortalità (livello 1).

Nel confronto tra dosi e diversi schemi di CICLO in fase di induzione, una paragonabile efficacia in termini di prognosi renale è stata dimostrata con le dosi minori (3 g endovena in tre mesi rispetto ad un massimo di 8 g endovena in 1 anno) (livello 2).

Una risposta precoce (riduzione della creatinemia e della proteinuria al 3° e 6° mese) è risultata un fattore prognostico favorevole per l'outcome renale (livello 2).

Premesse

Il **Lupus Erythematoses Sistemicus (LES)** è una malattia sistemica autoimmune in cui il rene è coinvolto attraverso almeno tre meccanismi patogenetici di danno: deposito tissutale di immunocomplessi costituiti da autoanticorpi contro antigeni endogeni (specialmente anti-DNA), formazione di immunocomplessi *in situ* o deposito di autoanticorpi rivolti verso specifici costituenti cellulari (1-3).

L'incidenza annuale del LES varia tra 5 e 120 nuovi casi ogni 100000 abitanti in rapporto alle diverse condizioni di rischio; nell'Europa Occidentale è indicata tra 6 e 40. È documentata una forte differenza di distribuzione sessuale, con una netta prevalenza femminile (rapporto 2:1 nell'infanzia, 10:1 nell'età adulta e nuovamente 2:1 in età senile), distribuzione razziale (maggiore nella razza nera, minore in quella caucasica e orientale), distribuzione geografica (3/100000 abitanti in India, 12.5/100000 in Inghilterra, 39/100000 in Finlandia, 129/100000 negli Stati Uniti). La prevalenza della condizione nella popolazione globale negli Stati Uniti recentemente è stata valutata intorno a 1500000-2000000 persone, con una frequenza nettamente più elevata nelle donne americane di razza nera (1 caso ogni 200 donne). Per quanto attiene la situazione italiana, stime attendibili indicano una prevalenza di 20/100000 abitanti (1, 2).

La manifestazione renale, presente nel 30-50% dei casi all'inizio della malattia, interviene in oltre il 70% dei pazienti entro 10 anni e peggiora la prognosi di malattia; con la biopsia il coinvolgimento del rene è presente anche nei pazienti senza anomalie urinarie evidenti. L'interessamento renale si manifesta con tutte le modalità di presentazione delle glomerulonefriti (GN): anomalie urinarie isolate, sindrome nefrosica, sindrome nefritica o insufficienza renale cronica (IRC); è rara l'insufficienza renale acuta (IRA) oligoanurica o il danno tubulo-interstiziale predominante (2-4). Il quadro istopatologico comprende, secondo la *World Health Organization* (WHO): a) classe I (rene normale); b) classe II (depositi mesangiali senza (II-A) o con (II-B) proliferazione mesangiale); c) classe III e IV (proliferative focali e diffuse); d) classe V (membranosa); e) classe VI (glomerulosclerosi cronica) (5). Il *National Institute of Health* (NIH) ha sviluppato criteri di attività e cronicità predittivi della risposta alla terapia, sulla cui riproducibilità, tuttavia, il consenso non è unanime (6, 7). Recentemente la classificazione WHO delle nefrite lupica è stata rivisitata, mantenendo la semplicità di quella iniziale, ma incorporando riferimenti selettivi agli indici di attività e di cronicità ed introducendo importanti modificazioni in relazione alle differenze quantitative e qualitative tra le lesioni di classe III e IV (8). Esiste un corrispettivo tra reperto anatomico-patologico e decorso clinico, anche se l'evoluzione può variare nell'ambito della stessa classe e non sono infrequenti le dissociazioni anatomico-cliniche. Dal punto di vista della gravità clinica, le classi III e IV, espressione di maggiore gravità del coinvolgimento

sistemico della malattia, sono sempre state accompagnate alla peggiore prognosi *quoad vitam*, con sopravvivenza a 5 anni senza trattamento del 17% negli anni 1953-69. Uno straordinario miglioramento si è osservato progressivamente nel corso degli anni, tanto che già agli inizi degli anni '90, la percentuale di sopravvivenza è salita all'82% e continua a migliorare. Per quanto attiene la sopravvivenza del rene, le forme proliferative si associano ad una più frequente progressione del danno, ad una maggiore attività sistemica con più elevata incidenza di riacutizzazioni e, se non trattate, possono sviluppare IRC entro 2 anni. La proporzione di pazienti che raggiunge entro 10 anni l'uremia terminale o "end stage renal disease" (ESRD) era particolarmente elevata negli anni '50-'60, risultava del 20% circa nei decenni '70-'80 ed era ancora valutabile intorno al 15% a metà degli anni '90, anche nei pazienti trattati con le associazioni farmacologiche (9).

Opzioni terapeutiche. L'affinamento diagnostico e l'adozione della terapia steroidea ad alte dosi hanno capovolto la prognosi del LES; nel tempo, sono state valutate le seguenti opzioni terapeutiche: a) i corticosteroidi (prednisone e metilprednisolone) per os a dosi di 1-2 mg/kg per 4-8 settimane nei quadri medio-gravi di GN proliferative (10). Queste dosi per periodi prolungati espongono al rischio di complicanze e non evitano il peggioramento della funzione renale nel 20-30% dei pazienti (11, 12); b) i boli endovenosi di metilprednisolone (0.5-1.0 g/die per 3 giorni consecutivi) nei quadri severi di GN lupica e di sintomi extrarenali in uno studio non controllato (13) e in uno controllato (14); vi è un forte razionale a favore di una più efficace azione immunosoppressiva, di una minore tossicità e di un effetto più rapido rispetto alle alte dosi di steroide per os (15, 16); raramente sono stati riportati effetti collaterali severi del bolo endovenoso, minimizzati dall'infusione lenta e per via periferica (17); c) i farmaci citotossici, ciclofosfamide (CICLO) ed azatioprina (AZA) in associazione agli steroidi; la maggiore efficacia dell'associazione nei confronti dello steroide da solo nel migliorare la prognosi renale, nel controllo della malattia e nel risparmio di cortisone, controversa negli studi controllati precedenti gli anni '80 (18-20), era invece affermata dagli studi dell'NIH (21-24) e da due meta-analisi (25, 26); d) il micofenolato mofetile (MMF), dopo l'esperienza positiva nei trapianti, è stato utilizzato nella nefrite lupica resistente alla terapia convenzionale (27, 28); e) il plasma-exchange (PE), dapprima utilizzato con successo nel LES con severa aggressività renale e sistemica (29, 30), non è risultato successivamente più efficace della terapia convenzionale nelle forme di media gravità (31, 32) e proliferative diffuse (33, 34) e, pertanto, secondo alcuni Autori, andrebbe riservata alle severe forme sistemiche, soprattutto neurologiche, e in quelle con microangiopatia trombotica o associate ad anticorpi antifosfolipidi (35, 36).

Allo scopo di uniformare le scelte terapeutiche, l'obiettivo di questa Linea Guida è quello di verificare, sulla base delle evidenze che derivano dalle revisioni sistematiche e

dagli studi randomizzati controllati (RCT), se la terapia immunosoppressiva a base di steroidi e farmaci citotossici è in grado di migliorare la prognosi della nefrite lupica, qual è il regime immunosoppressivo ottimale e, infine, quali sono i rischi e gli effetti collaterali rispetto ai benefici.

Strategie di ricerca bibliografica

La ricerca bibliografica degli studi di revisione sistematica e RCT sul trattamento della nefrite lupica è stato condotto utilizzando la **Renal Health Library 2005** (<http://www.update-software.com/Publications/renal/>) con il ricorso alle seguenti parole chiave: “*Lupus nephropathy*”. La *Renal Health Library* comprende il più aggiornato elenco delle revisioni sistematiche e degli RCT condotti in nefrologia, dialisi e trapianto di rene. Questi studi vengono individuati e schedati dai “*trial search coordinators*” del *Cochrane Renal Group* (<http://www.cochrane-renal.org>) attraverso la ricerca bibliografica costantemente aggiornata di *Medline* ed *Embase* e la ricerca bibliografica manuale degli Atti dei Congressi di interesse nefrologico internazionale, ed altre fonti.

Evidenza disponibile

Descrizione degli studi

Dall'analisi sopraindicata è stato possibile reperire una revisione sistematica *Cochrane* pubblicata nel 2003 da Flanc RS, et al. (37). Successivamente al termine cronologico della raccolta dei lavori analizzati nella revisione, sono stati reperiti 569 lavori scientifici, di cui 19 prevalentemente dedicati alla terapia; tra questi 6 RCT (38-43) sono stati analizzati, mentre gli altri 13 (44-56) sono stati scartati in quanto costituiti da revisioni, studi di *coorte*, studi pilota, *case reports* e citazioni della revisione *Cochrane*.

Qualità degli studi

La qualità degli studi è stata definita in base alla metodologia utilizzata dalla *Cochrane*, che prevede una valutazione del metodo di segretezza della randomizzazione (“*allocation concealment*”), dell'utilizzo del cieco (“*blinding*”), dell'analisi per intenzione al trattamento (“*intention-to-treat analysis*”) e delle perdite al follow-up (“*lost to follow-up*”).

Analisi statistica

L'analisi statistica ha valutato il rischio relativo [“*relative risk*” (RR)] con intervalli di confidenza (IC) al 95% e differenza di rischio per gli *outcomes* dicotomici e la differenza pesata tra le medie [“*weighted mean difference*” (WMD)] con IC al 95% per gli *outcomes* continui.

Risultati

Revisione Cochrane

Le fonti di ricerca utilizzate hanno individuato 920 pubblicazioni sulla terapia immunosoppressiva e PE nella nefrite lupica proliferativa diffusa; 887 sono state escluse in quanto non studi controllati o studi controllati relativi ad altri interventi terapeutici, studi di base o studi sperimentali sugli animali, revisioni, o infine assenza di valutazione della biopsia renale o dell'andamento della funzione renale a lungo termine. In ultima analisi sono state valutate 33 pubblicazioni relative a 25 RCT per un totale di 909 pazienti. Nella maggior parte degli studi è stato effettuato un confronto tra CICLO o AZA + steroidi verso gli steroidi da soli. L'analisi della qualità degli RCT mostrava che la segretezza della randomizzazione era adeguata nel 12%, non chiara nel 76% e inadeguata nel 12%; il cieco era utilizzato soltanto nell'8% degli RCT; il 56% era analizzato sulla base dell'*intention-to-treat analysis*; le perdite al *follow-up* variavano dallo 0 al 13.3%.

La meta-analisi ha mostrato i seguenti risultati: a) l'associazione steroidi + CICLO riduce il rischio di raddoppio della creatinemia basale (4 RCT, 228 pazienti; RR 0.59; IC 95% da 0.40 a 0.88) rispetto agli steroidi da soli (15 eventi evitati ogni 100 pazienti trattati con l'associazione), ma non ha alcun impatto sulla mortalità totale (5 RCT, 226 pazienti; RR 0.98; IC 95% da 0.53 a 1.82); inoltre il rischio di insufficienza ovarica è significativamente aumentato (3 RCT, 147 pazienti; RR 2.18; IC 95% da 1.10 a 4.34); b) l'associazione steroidi + AZA riduce il rischio di tutte le cause di morte (3 RCT, 78 pazienti; RR 0.60; IC 95% da 0.36 a 0.99) rispetto allo steroide da solo (27 morti evitate ogni 100 pazienti trattati con l'associazione), ma non modifica il rischio di ESRD (2 RCT, 54 pazienti; RR 0.66; IC 95% da 0.17 a 2.55); c) non sono dimostrati benefici aggiuntivi con l'uso del PE in aggiunta all'associazione steroidi + agenti citotossici sia sulla mortalità (2 RCT, 125 pazienti; RR 1.62; IC 95% da 0.64 a 4.09) che sul raddoppio della creatinemia (2 RCT, 51 pazienti; RR 0.17; IC 95% da 0.02 a 1.26) o sull'ESRD (3 RCT, 143 pazienti; RR 1.24; IC 95% da 0.60 a 2.57); d) nessuna terapia era inoltre associata ad un aumentato rischio di infezioni maggiori.

Tali risultati risultano senz'altro affidabili, in quanto la struttura dell'indagine meta-analitica appare corretta e rigorosa dal punto di vista metodologico. Gli stessi Autori tuttavia avanzano alcune riserve sulla qualità metodologica degli RCT, sul piccolo numero di pazienti in alcuni RCT, sulla disomogeneità delle classi istologiche nei diversi RCT (percentuali variabili di classe IV) e sulla notevole variabilità di durata del *follow-up*. Inoltre, la dissociazione tra la maggiore efficacia della associazione tra steroidi + AZA sulla sopravvivenza del paziente e quella dell'associazione steroidi + CICLO nel preservare la funzione renale, deve costituire un elemento di riflessione. Il confronto tra i due farmaci

citotossici è sempre indiretto, mentre nell'unico confronto diretto, non risulta una differenza sulla mortalità tra i due agenti (22). Ulteriori riserve sono da sottolineare per quanto riguarda la disomogeneità della fase terapeutica in cui i due farmaci citotossici sono stati impiegati nei diversi RCT. Gli stessi revisori affermano che l'associazione steroidi + CICLO va utilizzata nella fase di induzione, essendo più numerosi gli RCT che l'hanno studiata in questa fase clinica.

Analisi degli RCT successivi al termine cronologico della revisione Cochrane

Le caratteristiche dei 6 RCT analizzati sono riportati in Tabella I; 4 RCT effettuano un confronto tra il MMF e la terapia sequenziale CICLO/AZA, mentre 2 RCT analizzano due diversi schemi e posologie terapeutiche della CICLO. La qualità degli studi, riportata in Tabella II, ha mostrato che il metodo di randomizzazione è risultato adeguato soltanto in 2 RCT e che nessuno studio è stato condotto in doppio cieco. L'utilizzo dell'analisi per intenzione al trattamento era effettuato soltanto in un RCT. La percentuale di pazienti persi al *follow-up* era compresa fra lo zero e il 21.7%. I risultati dell'analisi statistica sono riportati come WMD con IC 95% per gli *outcomes* continui, quali proteinuria, creatininemia, fattori del complemento e antidsDNA (Tab. III), come RR con IC 95% e differenza di rischio per gli *outcomes* dicotomici, quali mortalità, effetti collaterali, ESRD, raddoppio o aumento del 50% della creatininemia basale (Tab. IV).

1. Contreras G, et al.: Sequential therapies for proliferative lupus nephritis. N Engl J Med 2004. Contreras G, et al. (38) hanno effettuato un RCT *open label* su 59 pazienti adulti con nefrite proliferativa lupica, randomizzati in 3 bracci per un periodo di osservazione di 36 mesi (nella fase di mantenimento dopo una fase di induzione comune di steroidi + CICLO endovena): 1) steroidi + AZA; 2) steroidi + CICLO endovena; 3) steroidi + MMF. I risultati dell'analisi univariata (curve di sopravvivenza di *Kaplan e Meier* e *log-rank test*) hanno mostrato che, a differenza dell'AZA, il MMF non era più efficace della CICLO sulla mortalità. La sopravvivenza renale era simile nei tre gruppi, mentre, utilizzando l'*end-point* combinato di morte del paziente e morte del rene, sia l'AZA sia il MMF erano più efficaci rispetto alla CICLO. Il MMF era più efficace della CICLO nel prevenire le recidive; infine sia l'AZA che il MMF erano migliori della CICLO per quanto riguarda le complicanze, quali amenorrea e infezioni. In conclusione, sebbene il calcolo del rischio relativo non raggiungesse la significatività statistica, lo studio suggerisce che il MMF e l'AZA sono più efficaci e più sicuri nella fase di mantenimento della terapia della nefrite lupica rispetto alla CICLO.

Commento

I risultati sono stati ottenuti con uno studio monocentrico (USA) rigoroso dal punto di vista metodologico (numero di pazienti accettabile e *follow-up* sufficientemente lungo).

Inoltre, i valori medi elevati di creatininemia all'inizio del periodo di osservazione (prima della terapia di induzione) dimostrano la severità e la grave compromissione funzionale renale dei casi trattati.

2. Yee CS, et al. EULAR randomised controlled trial of pulse cyclophosphamide and methylprednisolone versus continuous cyclophosphamide and prednisolone followed by azathioprine and prednisolone in lupus nephritis. Ann Rheum Dis 2004. Yee CS, et al. (39) hanno condotto un RCT multicentrico (Centro-Nord Europa) *open label* su 32 pazienti adulti con nefrite proliferativa lupica randomizzati in 2 bracci: 1) terapia intermittente con steroidi + CICLO a boli endovenosi e successivamente orali; 2) terapia continua con steroidi + CICLO per os per 3 mesi seguita da AZA per os. Il totale del *follow-up* aveva una durata di 2 anni. I risultati non hanno mostrato differenze sia per la sopravvivenza renale sia per gli altri *end-points* di abbandono, complicanze o morte del paziente.

Commento

Il lavoro è stato condotto con scadente metodologia. Non è chiaro se lo studio è stato effettuato nella fase di induzione o di mantenimento; è inoltre fonte di sospetti metodologici l'esclusione tardiva di 3 pazienti dal gruppo trattato con boli endovenosi per revisione dell'esame istologico della biopsia renale (attribuzione alla seconda classe). L'analisi statistica è infine incompleta.

3. Houssiau FA, 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 2004. Houssiau FA, et al. (40) hanno effettuato una prosecuzione di un RCT già pubblicato nel 2002 (*follow-up* di circa 40 mesi), ed ora aggiornato ad un *follow-up* di circa 70 mesi. Lo studio multicentrico (19 centri Europei) ha raccolto 90 pazienti prevalentemente di razza caucasica con classi istologiche III, IV e V, randomizzati in 2 gruppi con dosaggi diversi di CICLO nella fase di induzione associati a steroidi (3 boli di metilprednisolone 750 mg endovena, seguiti da 0.5 mg/kg/die per 4 settimane e poi a scalare): 1) 45 pazienti nel gruppo ad alte dosi (CICLO da 0.5 fino a 1.0 g/m² con cadenza mensile per 6 mesi e poi quadrimestrale); 2) 45 pazienti nel gruppo a basse dosi (CICLO 0.5 g/m² ogni 2 settimane per 3 mesi). In entrambi i gruppi la prosecuzione della terapia, è stata effettuata con AZA 2.0 mg/kg. L'*outcome* nefrologico, valutato come numero di pazienti che hanno sviluppato l'*endpoint* combinato dell'IRC (definita come aumento della creatininemia o raddoppio della creatininemia o ESRD) è risultato non significativamente diverso nei due gruppi. La risposta precoce (riduzione della creatininemia o della proteinuria entro 3 o 6 mesi) si configura come fattore significativamente predittivo di un buon *outcome* renale a lungo termine. I decessi sono stati in tutto 3 nel gruppo a basso dosaggio.

Commento

Il lavoro è metodologicamente rigoroso; una riserva è

TABELLA I - CARATTERISTICHE DEGLI RCT SUCCESSIVI ALLA REVISIONE COCHRANE

Autore ed anno	N. pazienti	Disegno dello studio	Setting	Caratteristiche partecipanti	Intervento sperimentale	Intervento di controllo	Follow-up	Commenti
Contreras G, 2004 (38)	59 (55 F)	RCT	Monocentrico (Miami, USA)	Adulti con nefrite lupica accertata con biopsia renale e lieve insufficienza renale: classe III: n. 12 classe IV: n. 46 classe Vb n. 1	Terapia di mantenimento: steroidi + MMF (500-3000 mg/die)	Terapia di mantenimento: 1) steroidi + AZA (1-3 mg/kg/die) 19 pazienti oppure 2) steroidi + CICLO ev 0.5-1.0 g/m ² trimestralmente	1-3 anni	La dose di MMF viene progressivamente ridotta fino a essere quasi dimezzata ogni anno
Yee CS, 2004 (39)	32 (26 F)	RCT	Multicentrico (Europa) Razza caucasica	Adulti con nefrite lupica accertata con biopsia renale (classe IV) lieve insufficienza renale	Terapia intermittente: CICLO ev 10 mg/kg ogni 3 settimane per 4 volte seguita dalla stessa dose per os una volta al mese per 2 anni + steroide 6.6 mg/kg ev o per os (boli ogni 3 settimane o mensili contemporanei ai boli di CICLO)	Terapia continua CICLO 2.0 mg/kg/die per 3 mesi seguita da AZA 1.5 mg/kg per 24 mesi + prednisolone 0.85 mg/kg a scalare fino a 0.11 mg/kg	24 mesi	Scadente metodologia statistica e confuso disegno dello studio (non è chiaro se l'intervento è fatto nella fase di induzione o di mantenimento). Non corretta l'esclusione tardiva di 3 pazienti per biopsia renale e attribuzione alla classe II
Houssiau FA, 2004 (40)	90	RCT	Multicentrico (Europa) Razza caucasica	Adulti con nefrite lupica accertata con biopsia renale: classe III, IV, Vc e Vd, proteinuria > 500 mg/die, insufficienza renale nel 22% dei casi	Terapia di induzione: CICLO 8 boli entro 1 anno (6 mensili e 2 ogni 4 mesi) 0.5-1.0 g/m ² , + 3 boli metilprednisolone 750 mg seguiti da 0.5 mg/kg (1.0 mg/kg in caso di maggiore gravità renale o extrarenale) e successiva riduzione	Terapia di induzione: CICLO 6 boli entro 1 anno 0.5 g/m ² , ogni 2 settimane +3 boli metilprednisolone 750 mg seguiti da 0.5 mg/kg per 4 settimane (1.0 mg/kg in caso di maggiore gravità renale o extrarenale) e successiva riduzione	73 mesi	Lavoro metodologicamente corretto; non viene effettuata tuttavia una <i>intention-to-treat analysis</i> (esclusione di 5 pazienti persi al <i>follow-up</i> : 1 e 4 per gruppo, rispettivamente)
	45 pazienti				Terapia di mantenimento: AZA 2.0 mg/kg/die	AZA 2.0 mg/kg/die	45 pazienti	

segue

TABELLA I - CARATTERISTICHE DEGLI RCT SUCCESSIVI ALLA REVISIONE COCHRANE (segue)

Autore ed anno	N. pazienti	Disegno dello studio	Setting	Caratteristiche partecipanti	Intervento sperimentale	Intervento di controllo	Follow-up	Commenti
Chan TM, 2005 (41)	64 (52 F)	RCT	Monocentrico (Hong-Kong, Asia) Razza asiatica	Adulti con nefrite lupica accertata con biopsia renale (classe IV) lieve insufficienza renale	1) Terapia di induzione: MMF 2.0 g/die per 6 mesi + prednisolone 0.8 mg/kg e successiva riduzione a 10 mg/die (3 boli di metilprednisolone 500 mg se semilune > 50%) 2) Terapia di mantenimento: MMF 1.0 g/die per 6 mesi sostituito con AZA 1.0-1.5 mg/kg per 12 mesi 33 pazienti	1) Terapia di induzione: CICLO per os 2.5 mg/kg per 6 mesi + prednisolone 0.8 mg/kg e successiva riduzione a 10 mg/die (3 boli di metilprednisolone 500 mg se semilune > 50%) 2) Terapia di mantenimento: AZA 1.5-2.0 mg/kg e riduzione a 1.0-1.5 mg/kg al 12 mese 31 pazienti	57.8 ± 18.7 mesi	Lavoro metodologicamente corretto; non viene tuttavia effettuata un <i>intention-to-treat analysis</i> (esclusione di un paziente per gruppo per effetti collaterali precoci)
Ong L, 2005 (42)	44	RCT	Multicentrico (Asia) Razza Asiatica	Adulti con nefrite lupica accertata con biopsia renale: classe III e IV	Terapia di induzione: MMF 2.0 g/die per 6 mesi + steroide 19 pazienti	Terapia di induzione: CICLO ev 0.75-1.0 g/m ² al mese per 6 mesi + steroide 25 pazienti	6 mesi	Periodo di osservazione troppo breve. Non chiaro il dosaggio dello steroide
Ginzler EM, 2005 (43)	140 (126 F)	RCT	Multicentrico (USA) Multietnico	140 pazienti adulti con nefrite lupica accertata con biopsia renale: classe III: n. 22 classe IV: n. 76 classe V: n. 27 Attività clinica: proteinuria > 0.5 g/die o creatinemia > 1 mg/dL	Terapia di induzione: MMF 1.0-3.0 g/die per 6 mesi + prednisone 1.0 mg/kg con progressiva riduzione 71 pazienti	Terapia di induzione: CICLO 0.5-1.0 g/m ² al mese per 6 mesi + prednisone 1.0 mg/kg con progressiva riduzione 69 pazienti	6 mesi	Notevole disomogeneità istologica (inclusione della classe V, seppure in maniera bilanciata). Periodo osservazione troppo breve. Troppi pazienti persi al <i>follow-up</i> . Troppi decessi

TABELLA II - QUALITÀ METODOLOGICA DEGLI RCT SUCCESSIVI ALLA REVISIONE COCHRANE

Autore ed anno	Metodo di segretezza della randomizzazione (<i>allocation concealment</i>)	Utilizzo del cieco (<i>blinding</i>)	Utilizzo analisi per intenzione al trattamento (<i>intention-to-treat analysis</i>)	Perdite al follow-up (%)
	Pazienti	Ricercatori	Medici che hanno valutato l' <i>outcome</i>	
Contreras G, 2004 (38)	No	No	No	0/59
Yee CS, 2004 (39)	No	No	No	3/32 (9.3%)
Houssiau FA, 2004 (40)	No	No	No	5/90 (5.5%)
Chan TM, 2005 (41)	No	No	No	2/64 (3.1%)
Ong LM, 2005 (42)	No	No	No	
Ginzler EM, 2005 (43)	No	No	Si	7/71 (9.9%) 15/69 (21.7%)

TABELLA III - RISULTATI DEGLI RCT SUCCESSIVI ALLA REVISIONE COCHRANE (VARIABILI CONTINUE)

Autore ed anno	Outcomes	Gruppo di intervento (numero pazienti, media, deviazione standard)	Gruppo di controllo (numero pazienti, media, deviazione standard)	Differenza tra le medie (intervallo di confidenza 95%)
Contreras G, 2004 (38)	No			
Yee CS, 2004 (39)	No			
Houssiau FA, 2004 (40)	No			
Chan TM, 2005 (41)	No			
Ong LM, 2005 (42)	No			
Ginzler EM, 2005 (43)	C3 C4 Anti-dsDNA (score) Creatinemia Proteinuria	71 pazienti 96.84 (29.93) mg/dL 21.08 (10.84) mg/dL 0.93 (1.03) 0.91 (0.25) mg/dL 2.03 (2.79) g/die	69 pazienti 91.87 (29.52) mg/dL 17.30 (9.02) mg/dL 0.88 (0.86) 0.85 (0.28) mg/dL 1.46 (1.27) g/die	4.97 (da -4.88 a 14.82) 3.87 (da 0.48 a 7.08) 0.05 (da -0.26 a 0.36) 0.06 (da -0.03 a 0.15) 0.57 (da -0.14 a 1.28)

nella presenza di pazienti con classe V e nell'assenza di un'analisi degli effetti collaterali.

4. Chan TM, et al. Long-term study of mycophenolate mofetil as continuous induction and maintenance treatment for diffuse proliferative lupus nephritis. J Am Soc Nephrol 2005. Chan TM, et al. (41) hanno effettuato un RCT monocentrico (Hong Kong), *open label* su 64 pazienti adulti con nefrite proliferativa lupica, randomizzati in 2 bracci di terapia di induzione: 1) steroide + MMF (33 pazienti); 2) steroide + CICLO per os seguiti da AZA (31 pazienti). Dopo un *follow-up* di circa 58 mesi, si osservava una remissione completa nel 72.7% (24/32) di pazienti del gruppo sperimentale trattato con MMF e nel 74.2% (23/30) nel gruppo di controllo. Inoltre non vi erano differenze significative per la comparsa di recidive e per la progressione verso l'insufficienza renale. Si osservava invece un miglior *outcome* nel gruppo MMF, sia per quanto concerne l'*end-point* combinato morte + ESRD (sebbene statisticamente non significativo), che per le infezioni totali e le infezioni maggiori (tali da richiedere una ospedalizzazione). I dati suggeriscono una equivalenza di efficacia per il MMF rispetto alla terapia sequenziale steroide + CICLO/AZA, ma con minore tossicità.

Commento

Il lavoro è metodologicamente corretto; sono da considerare alcune riserve principali: a) i risultati sono applicabili a razza non caucasica; b) i valori medi di creatininemia all'inizio della osservazione sono bassi e quindi il livello di compromissione funzionale moderata o assente; c) i dosaggi di CICLO per os sono elevati (2.5 mg/kg/die).

5. Ong LM, et al. Randomized controlled trial of pulse intravenous cyclophosphamide versus mycophenolate mofetil in the induction therapy of proliferative lupus nephritis. Nephrology 2005. Ong LM, et al. (42) hanno effettuato un RCT multicentrico in Malesia, *open label*, su 44 pazienti adulti con nefrite proliferativa lupica, randomizzati in 2 bracci di terapia di induzione: 1) steroide + MMF; 2) steroide + CICLO endovena. Dopo un *follow-up* di 6 mesi si osservava una remissione di malattia in un numero paragonabile di pazienti [11/19 (58%) *versus* 13/25 (52%)], e una remissione della nefrite lupica (26% *versus* 12%). Lo *score* di attività in 24 biopsie ripetute si riduceva in entrambi i gruppi.

Commento

Il campione è poco numeroso e il tempo di osservazione troppo breve; inoltre gli *end-points* sono deboli e quindi lo studio è statisticamente insoddisfacente.

6. Ginzler EM, et al. Mycophenolate mofetil or intravenous cyclophosphamide for lupus nephritis. N Engl J Med 2005. Ginzler EM, et al. (43) hanno effettuato un RCT multicentrico negli USA, *open label*, su 140 pazienti adulti con nefrite proliferativa lupica, randomizzati in 2 bracci di terapia di induzione per 6 mesi: 1) steroide + MMF (71 pazienti); 2) steroide + CICLO endovena (69 pazienti). Il confronto dei risultati mostrava una percentua-

le di remissione totali di malattia significativamente maggiore nel gruppo MMF [22.5% (16/71) *versus* 5.0% (4/69)], equivalenza di remissioni parziali e percentuale maggiore della sommatoria di remissioni totali e parziali (52.1% *versus* 30.4%) e di remissioni della nefrite lupica (26% *versus* 12%). La comparsa di recidive era paragonabile nei due gruppi, come pure la percentuale di mortalità dei pazienti.

Commento

Lo studio include anche pazienti con GN membranosa. Inoltre il periodo di osservazione è troppo breve, vi sono molte perdite al *follow-up* e la mortalità nel periodo d'osservazione successivo a 24 mesi è elevata.

Sintesi conclusiva dell'evidenza

1) Non ci sono più dubbi sulla minore efficacia dello steroide da solo rispetto alla associazione di citotossici + steroide sugli *end-points* forti quali la morte del paziente o l'ESRD. La revisione sistematica *Cochrane*, che analizza tutti i lavori pubblicati entro i primi mesi del 2003, conferma questa evidenza consolidata.

2) In particolare, la CICLO associata allo steroide nella fase di induzione riduce significativamente la perdita funzionale del rene ed offre un vantaggio superiore all'associazione di AZA e steroide in questa fase.

3) Il prezzo da pagare è costituito da un maggiore rischio di alterazioni della funzione ovarica nei pazienti trattati con lo schema CICLO + steroide.

4) L'associazione AZA + steroide determina una riduzione di tutte le cause di morte, al contrario dell'associazione CICLO + steroide; tuttavia l'unico confronto diretto (AZA *versus* CICLO) non dimostra differenze significative. Non esistono pertanto ragioni sufficienti per proporre, nella terapia di induzione, l'AZA in un ordine gerarchico superiore alla CICLO.

5) I punti meno chiari rimangono comunque i confronti degli schemi terapeutici suddivisi in rapporto alle diverse fasi di induzione e remissione, ed il confronto tra l'uso della CICLO per via endovenosa o per via orale.

6) Dopo le conclusioni raggiunte dalla revisione sistematica *Cochrane*, sarebbe inutile e non più etico proporre RCT di confronto del solo steroide verso associazioni di steroidi più citotossici. A rigore di logica, il compito della presente Linea Guida, finalizzata a rispondere alla domanda sul confronto tra steroide solo e steroide + citotossici nel trattamento della nefrite lupica proliferativa, potrebbe limitarsi all'analisi della revisione *Cochrane*. A scopo di completezza sono stati tuttavia analizzati anche 6 RCT successivi al 2003, che propongono il confronto tra associazioni di steroide con diversi tipi o dosaggi di farmaci citotossici. Due RCT confrontano diverse dosi di CICLO in fase di induzione (39, 40). Gli altri 4 RCT sono relativi al confronto di MMF associato a steroide

TABELLA IV - RISULTATI DEGLI RCT SUCCESSIVI ALLA REVISIONE COCHRANE (VARIABILI DICOTOMICHE)

Autore ed anno	Outcomes	Gruppo di intervento (n. pazienti con evento/ n. totale di pazienti in quel gruppo)	Gruppo controllo (n. pazienti con evento/ n. totale di pazienti in quel gruppo)	Rischio relativo (intervallo di confidenza 95%)	Differenza di rischio (%)
Contreras G, 2004 (38)	Mortalità totale	MMF: 1/20 (5%)	AZA: 0/19 CICLO: 4/20 (20%)	2.86 (da 0.12 a 66.11) 0.25 (da 0.03 a 2.05)	5 -15
	Insufficienza renale cronica (aumento stabile della creatinemia o raddoppio della creatinemia o ESRD con necessità di dialisi o trapianto)	MMF: 1/20 (5%)	AZA: 1/19 (5%) CICLO: 3/20 (15%)	0.95 (da 0.06 a 14.13) 0.33 (da 0.04 a 2.94)	0 -10
	Recidiva renale (raddoppio del rapporto proteinuria/creatinuria o aumento del 50% della creatinemia)	MMF: 3/20 (15%)	AZA: 6/19 (32%) CICLO: 8/20 (40%)	0.48 (da 0.14 a 1.63) 0.38 (da 0.12 a 1.21)	-17 -25
	Amenorrea	MMF: 6%	AZA: 8% CICLO: 32%		-2 -26
Yee CS, 2004 (39)	Infezioni	MMF: 32%	AZA: 29% CICLO: 77%		3 -45
	Sopravvivenza del rene (raddoppio della creatinemia o ESRD)	0/13	3/16 (19%)	0.17 (da 0.01 a 3.08)	-19
	Abbandono, infezioni e morte	Abbandono 7/13 (54%) Infezioni 5/13 (38%) Morte 2/13 (15%)	Abbandono 7/16 (44%) Infezioni 4/13 (31%) Morte 1/16 (6%)	1.23 (da 0.58 a 2.60) 1.25 (da 0.43 a 3.63) 0.92 (da 0.10 a 8.31)	10 7 9
Houssiau FA, 2004 (40)	Insufficienza renale cronica (aumento stabile della creatinemia o raddoppio della creatinina o ESRD)	10/44 (23%)	8/41 (19%)	1.16 (da 0.51 a 2.66)	4
	Mortalità totale	0/44	3/41 (7%)	0.13 (da 0.01 a 2.51)	-7
Chan TM, 2005 (41)	Remissione totale (proteinuria < 0.3 g/die, sedimento normale e funzione renale stabile o migliorata).	Remissione completa 24/32 (75%)	Remissione completa 23/30 (77%)	0.98 (da 0.74 a 1.30)	-2
	Remissione parziale (funzione renale stabile o migliorata con riduzione di proteinuria > 50% rispetto al basale)	Remissione parziale 24.2%	Remissione parziale 22.6%		1.6

segue

TABELLA IV - RISULTATI DEGLI RCT SUCCESSIVI ALLA REVISIONE COCHRANE (VARIABILI DICOTOMICHE) (segue)

Autore ed anno	Outcomes	Gruppo di intervento (n. pazienti con evento/ n. totale di pazienti in quel gruppo)	Gruppo controllo (n. pazienti con evento/ n. totale di pazienti in quel gruppo)	Rischio relativo (intervallo di confidenza 95%)	Differenza di rischio (%)
	Recidive	11/32 (34%)	9/30 (30%)	1.15 (da 0.55 a 2.37)	4
	Insufficienza renale (aumento della creatinemia o raddoppio della creatinemia basale o ESRD)	4/32 (12%)	3/30 (10%)	1.25 (da 0.30 a 5.13)	2
	Morte	0/32	2/30 (7%)	0.19 (da 0.01 a 3.76)	-7
	Morte + ESRD	0/32	4/30 (13%)	0.10 (da 0.01 a 1.86)	-13
	Infezioni	4/32 (12%)	12/30 (40%)	0.31 (da 0.11 a 0.86)	-28
	Infezioni che richiedono ospedalizzazione	2/32 (6%)	9/30 (30%)	0.21 (da 0.05 a 0.89)	-24
	Remissione di malattia	11/19 (58%)	13/25 (52%)	1.11 (da 0.65 a 1.91)	6
	Remissione completa della nefrite lupica	26%	12%		14
	Risposta precoce a 12 settimane (miglioramento del 30% di almeno 1 di 2 parametri renali alterati, o in 2 su 3)	56/71 (79%)	42/69 (61%)	1.30 (da 1.04 a 1.62)	18
	Remissione completa (normalizzazione della creatinemia, proteinuria e sedimento)	16/71 (22%)	4/69 (6%)	3.89 (da 1.37 a 11.05)	16
	Remissione parziale (miglioramento del 50% di tutte le alterazioni renali senza peggioramento entro il 10% di ogni parametro)	21/71 (30%)	17/69 (25%)	1.20 (da 0.69 a 2.07)	5
	Remissione totale più parziale	37/71 (52%)	21/69 (30%)	1.71 (da 1.12 a 2.61)	22
	Mortalità totale	0/71	3/71 (4%)	0.14 (da 0.01 a 2.72)	-4
	Infezioni maggiori	1/71 (1%)	6/71 (8%)	0.17 (da 0.02 a 1.35)	-7
	Follow-up a distanza di 24 mesi (Terapia di mantenimento)				
	Recidiva	8/71 (11%)	8/69 (12%)	0.97 (da 0.39 a 2.44)	-1
	Morte	4/71 (6%)	8/69 (12%)	0.49 (da 0.15 a 1.54)	-6
	Insufficienza renale cronica	4/71 (6%)	7/69 (10%)	0.56 (da 0.17 a 1.81)	-4

segue

TABELLA V - COSA DICONO LE ALTRE LINEE GUIDA

Linea Guida	Nazione	Anno	Raccomandazione
<i>American College of Rheumatology</i> (66)	USA	1999	<p>Forme proliferative:</p> <p>a) lievi</p> <ul style="list-style-type: none"> - induzione: corticosteroidi (alte dosi) da soli o con AZA - mantenimento: riduzione graduale delle dosi <p>b) moderate</p> <ul style="list-style-type: none"> - induzione: corticosteroidi (alte dosi) con MMF o AZA o boli ev trimestrali di CICLO - mantenimento: riduzione graduale delle dosi o boli ev trimestrali di CICLO <p>c) gravi</p> <ul style="list-style-type: none"> - induzione: boli ev mensili di CICLO; nei non responsivi MMF o rituximab - mantenimento: boli ev trimestrali di CICLO o AZA o MMF <p>Membranosa:</p> <p>a) lieve</p> <ul style="list-style-type: none"> - induzione: corticosteroidi (alte dosi) da soli o con AZA - mantenimento: riduzione graduale delle dosi <p>b) mod.-grave</p> <ul style="list-style-type: none"> - induzione: boli ev di CICLO o ciclosporina o corticosteroidi con MMF - mantenimento: corticosteroidi a basse dosi da soli o con AZA
<i>Indian Society of Rheumatology</i> (67)	India	2002	<p>la terapia immunosoppressiva non è indicata</p> <p>la terapia immunosoppressiva non è indicata</p> <p>Prednisolone 20 mg/die per 6-12 settimane e successivo <i>tapering</i> se: proteinuria > 1 g/die, C3 ridotto e alti titoli di anti-DNA</p> <p>Classe I:</p> <p>Classe II a:</p> <p>Classe II b:</p> <p>Classe III e IV:</p> <p>Prednisolone 40-60 mg/die e boli ev mensili di CICLO per 6 mesi e successivamente ogni 3 mesi per 2 anni; in alternativa, boli di corticosteroidi e CICLO o AZA per <i>os</i> (2 mg/kg/die)</p> <p>Classe V:</p> <p>Prednisolone 1 mg/kg/die fino ad un massimo di 6 settimane; non indicazioni per farmaci citossici</p>
<i>National Glearringhouse Guidelines</i> (68)	Finlandia	2004	<p>Il trattamento deve essere sempre individualizzato e non basato solo sui dati immunologici.</p> <p>In presenza di grave glomerulonefrite, trombocitopenia e anemia emolitica, devono essere utilizzati corticosteroidi ad alte dosi e altri farmaci immunosoppressivi (grado A)</p>

rispetto all'associazione di steroide con citotossici convenzionali somministrati in sequenza (CICLO/AZA): due RCT in fase di induzione (42, 43), uno sia in fase di induzione che mantenimento (41) e, infine l'ultimo in fase di mantenimento (38).

7) Per quanto concerne la CICLO i risultati orientano verso la minore dose cumulativa utilizzando schemi più aggressivi in fase di induzione e più leggeri in fase di mantenimento (39, 40). Infine, la presenza in questi studi di pazienti quasi tutti di razza caucasica selezionati in 27 Centri Europei rende verosimile l'applicabilità al contesto italiano per omogeneità di razza ed area geografica.

8) Per quanto riguarda invece gli RCT sul MMF, il risultato meno convincente è quello della maggiore efficacia del MMF rispetto alla CICLO nella fase di induzione (42, 43). Gli altri due RCT, più corretti metodologicamente, dimostrano la pari efficacia di MMF e CICLO per os (fase di induzione) e AZA (fase di mantenimento); gli effetti collaterali sono sovrapponibili all'AZA, ma inferiori rispetto alla CICLO (38, 41).

9) Non sono state prodotte, al momento, evidenze sufficienti relativamente all'impiego di altri farmaci (57-65).

Implicazioni per la pratica clinica

1) L'insieme delle evidenze disponibili conferma la validità, per la nefrite proliferativa lupica, di uno schema terapeutico sequenziale, **diviso nelle fasi di induzione, di remissione e mantenimento e consolidamento di remissione**, con l'obiettivo di utilizzare protocolli più aggressivi nella prima fase e più leggeri nella seconda, in quanto l'entità di una risposta precoce condiziona un buon esito a distanza.

2) Lo schema di induzione prevede boli endovenosi di metilprednisolone (500-1000 mg) per 3 giorni consecutivi in rapporto alla gravità dei sintomi renali ed extrarenali ed al peso delle controindicazioni, quali età, diabete, ipertensione, vasculopatia. La prosecuzione prevede una dose variabile di prednisone per via orale (0.5-1.0 mg/kg/die per 4-8 settimane in dose unica mattutina per favorire il ritmo circadiano) e successiva riduzione di 5-10 mg ogni due settimane fino ad un dosaggio di 0.2-0.4 mg/kg/die al sesto mese.

3) Al momento attuale l'uso della CICLO associata allo steroide nella fase di induzione del trattamento rimane la migliore opzione per preservare la funzione renale nella nefrite lupica proliferativa diffusa. La dose utilizzata dovrebbe essere quella minima efficace e per il minor tempo possibile ai fini di contenere la tossicità gonadica. Ci si può orientare per uno di 12 settimane per una dose cumulativa totale di 3 g (sia nella formulazione endovenosa sia nella somministrazione per os), con eventuale estensione del trattamento fino a 6 mesi nelle forme più gravi e meno responsive. Non ci sono, al momento, evidenze che privilegino la somministrazione endovenosa rispetto a quella orale.

4) Lo schema della terapia di mantenimento comprende l'AZA a dosi di 1-2 mg/kg/die per 6-12 mesi o, in alternativa, il MMF (1-2 g/die); sono state prodotte le prime evidenze di equivalenza di efficacia tra MMF e AZA.

5) Uno degli obiettivi attuali cui tendere è la sospensione completa dello steroide che può essere proposta con attenta monitoraggio dopo almeno due anni di completa quiescenza clinica e laboratoristica.

Applicabilità

Sulla base delle considerazioni sopra esposte, non emergono ostacoli maggiori all'applicabilità delle conclusioni sovraesposte nella realtà italiana. L'applicabilità prevede naturalmente la diffusione tramite pubblicazione delle Linee Guida di indirizzo e la loro implementazione con strumenti quali *audit*, riunioni scientifiche e convegni di formazione promossi dalla Società Italiana di Nefrologia.

Implicazioni per la ricerca

I problemi del trattamento della nefrite lupica proliferativa nascono oggi fundamentalmente dalla terapia della fase di mantenimento ove sono necessari ulteriori RCT a lungo termine in relazione all'evoluzione della funzione renale.

Altre implicazioni per la ricerca sono: a) una valutazione comparativa sull'andamento a lungo termine della nefrite lupica tra schemi di CICLO per via endovenosa o per via orale a dosaggi sovrapponibili; b) ulteriori RCT che valutino la sospensione o meno dello steroide sulla prognosi a lungo termine.

Altre Linee Guida

La letteratura scientifica sull'argomento contiene numerose indicazioni terapeutiche nell'ambito di revisioni, di opinioni degli Autori, che riuniscono evidenze ed impressioni personali. Le Linee Guida basate sulle evidenze non sono molte, e soprattutto non prodotte da Società Nefrologiche. Si accludono 3 Linee Guida basate sulle evidenze (Tab. V): a) la prima prodotta dall'*American College of Rheumatology* nel 1999 (66); b) la seconda dalla Società Reumatologica Indiana nel 2002 (67); c) la terza dalla Società Reumatologica Finnica nel 2004 (68).

Indirizzo degli Autori:

Prof. Piero Stratta
S.C.D.U. Nefrologia e Trapianto
Azienda Ospedaliera Maggiore della Carità
Università del Piemonte Orientale
Via Solaroli, 17
28100 Novara
e-mail: stratta@med.unipmn.it

Bibliografia

1. Cameron JS. Systemic Lupus Erythematosus. In: Immunologic renal disease, edited by Nielson EG, Couser WG. Philadelphia, Lippincott Raven 2001; 1057-104.
2. Cockwell P. Systemic Lupus Erythematosus. *BMJ* 1997; 314: 292-5.
3. Berden JH. Lupus nephritis. *Kidney Int* 1997; 52: 538-58.
4. Wallace DJ. The clinical presentation of systemic lupus erythematosus. In: Dubois' Lupus Erythematosus, edited by Wallace DJ, Hahn BH, Baltimore, Williams and Wilkins, 1996, 627.
5. Churg J, Bernstein J, Glasscock RJ. Lupus nephritis. In: Renal Diseases classification and Atlas of glomerular diseases, edited by Churg J, Bernstein J, Glasscock RJ, New York, Igaku-Shoin 1995, 151.
6. Balow JE, Austin HA, Muenz LR. Effect of treatment on the evolution of renal abnormalities in lupus nephritis. *N Engl J Med* 1984; 311: 491-5.
7. Wernick RM, Smith DL, Houghton DC, et al. Reliability of histologic scoring for lupus nephritis: a community-based evaluation. *Ann Intern Med* 1993; 119: 805-11.
8. Weening JJ, D'Agati V, Schwartz MM, et al. on behalf of the International Society of Nephrology and Renal Pathology Society Working Group on the classification of nephritis. The classification of glomerulonephritis in Systemic Lupus Erythematosus Revisited. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 241-50.
9. Austin HA, Boumpas DT, Vaughan EM, Balow JE. Predicting renal outcomes in severe lupus nephritis: contributions of clinical and historical data. *Kidney Int* 1994; 45: 544-50.
10. Pollak VE, Pirani CL, Schwartz FD. The natural history of the renal manifestations of systemic lupus erythematosus. *J Lab Clin Med* 1964; 63: 537-50.
11. Rubin IA, Urowitz MB, Gladman DD. Mortality in systemic lupus erythematosus: the bimodal pattern revisited. *Q J Med* 1985; 216: 87-98.
12. Pollak VE, Kant KS, Hariharan S. Diffuse and focal proliferative lupus nephritis: treatment approaches and results. *Nephron* 1991; 59: 177-93.
13. Ponticelli C, Zucchelli P, Banfi G, et al. Treatment of diffuse proliferative lupus nephritis by intravenous high-dose methylprednisolone. *Q J Med* 1982; 31: 16-24.
14. Kimberly RP. Pulse methylprednisolone in SLE. *Clin Rheum Dis* 1982; 8: 267-78.
15. Ponticelli C, Zucchelli P, Moroni G, Cagnoli L, Banfi G, Pasquali S. Long-Term prognosis of diffuse lupus nephritis. *Clin Nephrol* 1987; 28: 263-71.
16. Austin HA, Boumpas DT. Treatment of lupus nephritis. *Semin Nephrol* 1996; 16: 527-35.
17. Ponticelli C. Current treatment recommendations for lupus nephritis. *Drugs* 1990; 40: 19-30.
18. Hahn BH, Kantor OS, Osterland CK. Azathioprine plus prednisone compared with prednisone alone in the treatment of systemic lupus erythematosus: report of a prospective controlled trial in 24 patients. *Ann Intern Med* 1975; 83: 597-605.
19. Donadio JV, Holley VE, Ferguson RH, Ilstrup DM. Progressive lupus glomerulonephritis: treatment with prednisone and cyclophosphamide. *Mayo Clin Proc* 1976; 51: 484-94.
20. Stejnbock M, Steward A, Diamond H, Kaplan D. Azathioprine in the treatment of systemic lupus erythematosus: a controlled trial. *Arthritis Rheum* 1971; 14: 639-45.
21. Dinant HJ, Decker JL, Klippel JH, Balow JE, Plotz PH, Steinberg AD. Alternative mode of cyclophosphamide and azathioprine therapy in lupus nephritis. *Ann Intern Med* 1982; 96: 728-36.
22. Austin HA, Klippel JH, Balow JE, et al. Therapy of lupus nephritis: controlled trial of prednisone and cytotoxic drugs. *N Engl J Med* 1986; 314: 614-9.
23. Steinberg AD, Steinberg SC. Long-Term preservation of renal function in patients with lupus nephritis receiving treatment that includes cyclophosphamide versus those treated with prednisone alone. *Arthritis Rheum* 1991; 34: 945-50.
24. Boumpas DT, Austin HA, Vaughan EM, et al. Controlled trial of pulse methylprednisolone with two regimens of pulse cyclophosphamide in severe lupus nephritis. *Lancet* 1992; 2: 741-5.
25. Felson T, Anderson J. Evidence for the superiority of immunosuppressive drugs and prednisone over prednisone alone in lupus nephritis. *N Engl J Med* 1984; 311: 1528-33.
26. Bansal VK, Beto JA. Treatment of lupus nephritis: a meta-analysis of clinical trials. *Am J Kidney Dis* 1997; 29: 193-9.
27. Glicklich D, Acharya A. Mycophenolate mofetil therapy for lupus nephritis refractory to intravenous cyclophosphamide. *Am J Kidney Dis* 1998; 32: 318-22.
28. Chan TM, Li FK, Tang CS, et al. Efficacy of mycophenolate mofetil in patients with diffuse proliferative lupus nephritis. *N Engl J Med* 2000; 343: 1156-62.
29. Clark WF, Lindsay RM, Cattran DC, Chodirker WB, Barnes CC, Linton AL. Monthly plasmapheresis for systemic lupus erythematosus with diffuse proliferative glomerulonephritis: a pilot study. *Can Med Assoc J* 1981; 125: 171-4.
30. Jones JV, Robinson MF, Parcianny RK, Layter LF, McLeod B. Therapeutic plasmapheresis in systemic lupus erythematosus: effects on immune complexes and antibodies to DNA. *Arthritis Rheum* 1984; 24: 1113-20.
31. Euler HH, Schroeder JO. Plasmapheresis for lupus nephritis. *N Engl J Med* 1992; 327: 1028.
32. Wei N, Huston DP, Lawley TJ, et al. Randomised trial of plasma exchange in mild systemic lupus erythematosus. *Lancet* 1983; 1/8: 17-21.
33. Lewis E, Lachin JM, for The Lupus Nephritis Collaborative Study Group. Primary outcomes in the controlled trial of plasmapheresis in severe lupus nephritis. *Kidney Int* 1987; 31: 208-12.
34. Lewis E, Hunsicker LG, Shy-Pihg I, Rohde R, Lachin JM, for The Lupus Nephritis Collaborative Study Group. A controlled trial of plasmapheresis in severe lupus nephritis. *N Engl J Med* 1992; 326: 1373-9.
35. Kincaid-Smith P, Fairley KF, Kloss M. Lupus anticoagulant associated with renal thrombotic microangiopathy and pregnancy-related renal failure. *QJM* 1988; 69: 795-815.
36. Furlan M, Robles R, Morselli B, Sandoz P, Lammle B. Recovery and half-life of von Willebrand factor-cleaving protease after plasma therapy in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Thromb Haemost* 1999; 81: 8-13.
37. Flanc RS, Roberts MA, Strippoli GF, Chadban SJ, Kerr PG, Atkins RC. Treatment of diffuse proliferative lupus nephritis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Kidney Dis* 2004; 43: 197-208.
38. Contreras G, Pardo V, Leclercq B, et al. Sequential therapies for proliferative lupus nephritis. *N Engl J Med* 2004; 350: 971-80.
39. Yee CS, Gordon C, Dostal C, et al. EULAR randomised controlled trial of pulse cyclophosphamide and methylprednisolone versus continuous cyclophosphamide and prednisolone followed by azathioprine and prednisolone in lupus nephritis. *Ann Rheum Dis* 2004; 63: 525-9.
40. 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* 2004; 50: 3934-40.
41. Chan TM, Tse KC, Tang CS, Mok MY, Lif K, for The Hong Kong Nephrology Study Group. Long-term study of mycophenolate mofetil as continuous induction and maintenance treatment for diffuse proliferative lupus nephritis. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 1076-84.
42. Ong LM, Hooi LS, Lim TO, et al. Randomized controlled trial of pulse intravenous cyclophosphamide versus mycophenolate mofetil in the induction therapy of proliferative lupus nephritis. *Nephrology* 2005; 10: 504-10.
43. Ginzler EM, Dooley MA, Aranow C, et al. Mycophenolate mofetil or intravenous cyclophosphamide for lupus nephritis. *N Engl J Med* 2005; 353: 2219-28.

44. Mok CC, Wong RW, Lai KN. Treatment of severe proliferative lupus nephritis: the current state. *Ann Rheum Dis* 2003; 62: 799-804.
45. Mok CC, Ying KY, Lau CS, et al. Treatment of pure membranous lupus nephropathy with prednisone and azathioprine: an open-label trial. *Am J Kidney Dis* 2004; 43: 269-76.
46. Lehman TJ, Edelheit BS, Onel KB. Combined intravenous methotrexate and cyclophosphamide for refractory childhood lupus nephritis. *Ann Rheum Dis* 2004; 63: 321-3.
47. Balow JE, Austin HA. Maintenance therapy for lupus nephritis - something old, something new. *N Engl J Med* 2004; 350: 1044-6.
48. Spetie DN, Tang Y, Rovin BH, et al. Mycophenolate therapy of SLE membranous nephropathy. *Kidney Int* 2004; 66: 2411-5.
49. Chan TM, Tse KC, Tang CS, Lai KN, Li FK. Long-term outcome of patients with diffuse proliferative lupus nephritis treated with prednisolone and oral cyclophosphamide followed by azathioprine. *Lupus* 2005; 14: 265-72.
50. Cross J, for Renal Association Clinical Trials Subcommittee. Mycophenolate mofetil for remission induction in severe lupus nephritis. *Nephron Clin Pract* 2005; 10: 92-100.
51. Contreras G, Tozman E, Nahar N, Metz D. Maintenance therapies for proliferative lupus nephritis: mycophenolate mofetil, azathioprine and intravenous cyclophosphamide. *Lupus* 2005; 14 (Suppl. 1): 33-8.
52. Gonzalez B, Hernandez P, Olguin H, et al. Changes in the survival of patients with systemic lupus erythematosus in childhood: 30 years experience in Chile. *Lupus* 2005; 14: 918-23.
53. Contreras G, Pardo V, Cely C, et al. Factors associated with poor outcomes in patients with lupus nephritis. *Lupus* 2005; 14: 890-5.
54. Pisoni CN, Sanchez FJ, Karim Y, et al. Mycophenolate mofetil in systemic lupus erythematosus: efficacy and tolerability in 86 patients. *J Rheumatol* 2005; 32: 1047-52.
55. Flores-Suarez LF. Remission of severe relapsing or persistent lupus nephritis using mycophenolate mofetil. *Arch Med Res* 2006; 37: 68-73.
56. Renal Disease Subcommittee of the American College of Rheumatology. Ad Hoc Committee on Systemic Lupus Erythematosus Response Criteria. The American College of Rheumatology response criteria for proliferative and membranous renal disease in systemic lupus erythematosus clinical trials. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 421-32.
57. Tanaka H, Suzuki K, Nakahata T, Tsugawa K, Ito E, Waga S. Mizoribine oral pulse therapy for patients with disease flare of lupus nephritis. *Clin Nephrol* 2003; 60: 390-4.
58. Hu W, Liu Z, Shen S, et al. Cyclosporine A in treatment of membranous lupus nephropathy. *Chin Med J* 2003; 116: 1827-30.
59. Lambotte O, Durbach A, Kotb R, Ferlicot S, Delfraissy JF, Goujard C. Failure of rituximab to treat a lupus flare-up with nephritis. *Clin Nephrol* 2005; 64: 73-7.
60. Yumura W, Suganuma S, Uchida K, et al. Effects of long-term treatment with mizoribine in patients with proliferative lupus nephritis. *Clin Nephrol* 2005; 64: 28-34.
61. Coelho A, Souto MI, Cardoso CR, et al. Long-term thalidomide use in refractory cutaneous lesions of lupus erythematosus: a 65 series of Brazilian patients. *Lupus* 2005; 14: 434-9.
62. Fujinaga S, Kaneko K, Ohtomo Y, et al. Induction therapy with low-dose intravenous cyclophosphamide, oral mizoribine, and steroids for severe lupus nephritis in children. *Pediatr Nephrol* 2005; 20: 1500-3.
63. Mok CC, Tong KH, To CH, Siu YP, Au TC. Tacrolimus for induction therapy of diffuse proliferative lupus nephritis: an open-label pilot study. *Kidney Int* 2005; 68: 813-7.
64. Toubi E, Kessel A, Shoenfeld Y. High-dose intravenous immunoglobulins: an option in the treatment of systemic lupus erythematosus. *Hum Immunol* 2005; 66: 395-402.
65. Marmont AM, Gualandi F, van Lint MT, Guastoni C, Bacigalupo A. Long term complete remission of severe nephrotic syndrome secondary to diffuse global (IV-G) lupus nephritis following autologous, haematopoietic peripheral stem (CD34+) cell transplantation. *Lupus* 2006; 15: 44-6.
66. American College of Rheumatology: Guidelines recommended for Lupus Nephritis. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 1785.
67. Kumar A. Indian Guidelines on the Management of SLE. *J Indian Rheumatol Assoc* 2002; 10: 80-96.
68. Glearinghouse Guidelines: Gripenbrg-Gahmberg M. Systemic lupus erythematosus. In: EBM Guidelines Evidence-Based Medicine. Helsinki, Finland: Duodecim Medical Publications Ltd; 2004 Aug 12.