

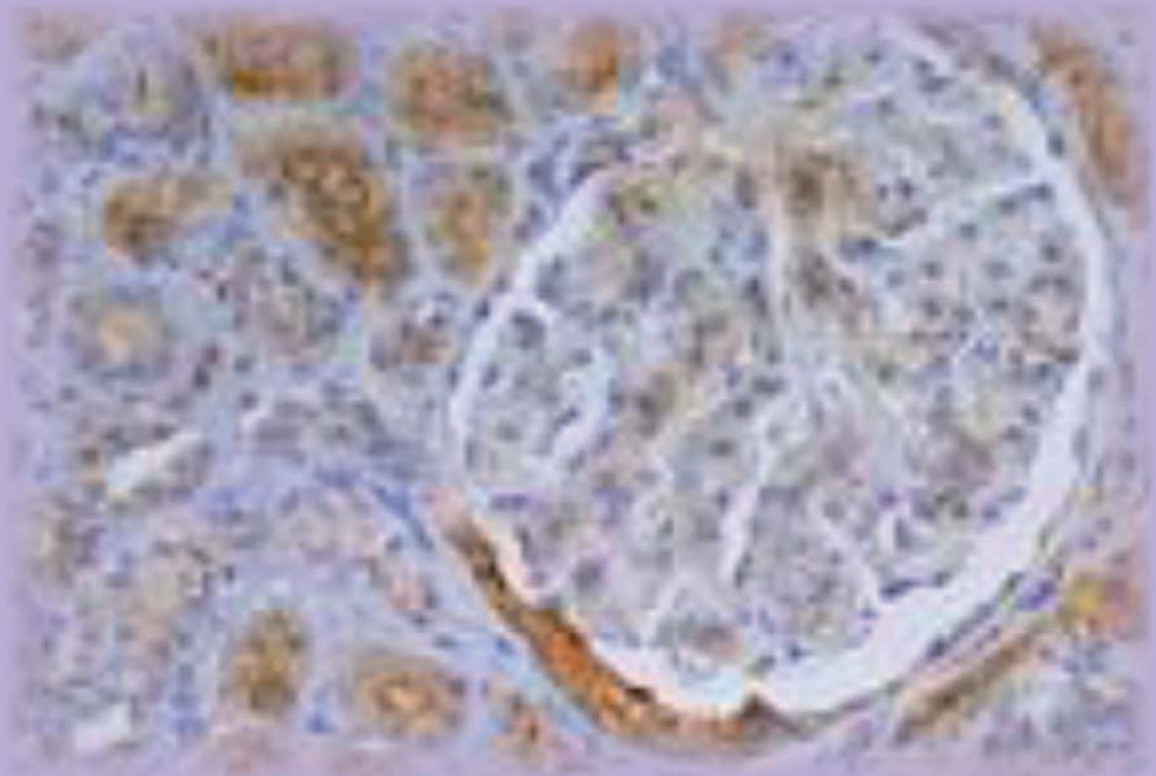


**Universitat Autònoma
de Barcelona**

**PROGRAMA DE DOCTORADO
EN MEDICINA**

TESIS DOCTORAL

Biomarcadores en la nefritis lúpica



María Teresa Torres Salido

Barcelona, 2016

En la actualidad, cuando los pacientes con LES presentan signos de afectación renal como proteinuria, actividad en el sedimento urinario, o un aumento de la creatinina sérica, que no pueden ser atribuidos a otras etiologías, se les realiza una biopsia renal para confirmar el diagnóstico de nefritis lúpica [201, 228], pudiendo en ocasiones detectarse ya en este momento signos de cronicidad a nivel histológico [229].

Aunque la biopsia renal con aguja percutánea continua siendo el “Gold standard” para el diagnóstico de afectación renal en estos pacientes, en la actualidad se cuestiona su uso. En primer lugar se trata de un procedimiento que no está exento de complicaciones, teniendo un riesgo pequeño aunque significativo de sangrado pudiendo evolucionar en algunos casos a hematoma perirrenal requiriendo la realización de una transfusión sanguínea o de una arteriografía en los casos más graves, por lo cual no se trata de un procedimiento que pueda realizarse de forma repetida [230]. En segundo lugar el uso generalizado de MMF para el tratamiento de inducción de la NL, tanto de las formas proliferativas como membranosas, hace que al diagnóstico pueda no ser necesario conocer el tipo de nefritis para establecer un tratamiento habiendo sido difícil de demostrar que los resultados de la biopsia diagnóstica puedan ayudar a establecer un pronóstico a corto o largo plazo, ya que únicamente el índice de actividad tubular, los niveles de C3 y la tinción vascular por IF fueron predictivos de la duplicación de los niveles de Cr sérica [231].

La NL es una enfermedad tan intrínsecamente heterogénea y compleja que resulta muy difícil reflejar de forma adecuada las lesiones que presentan a nivel renal estos pacientes utilizando la actual clasificación histológica. La clasificación de la NL, divide las lesiones renales en 5 clases,

aunque no siempre las lesiones pueden identificarse con una única clase, pudiendo también variar esta durante la evolución de la enfermedad, distinguiéndose además en cada clase diferentes tipos dependiendo de la presencia de actividad, cronicidad o de una combinación de ambas y de si la afectación que presentan es global o segmentaria [151, 231].

En vista de la dificultad para poder diagnosticar de forma precisa el daño renal en estos pacientes mediante la clínica o usando los parámetros analíticos actuales, y teniendo en cuenta el riesgo inherente a la biopsia renal, en los últimos años se ha convertido en una prioridad la búsqueda de biomarcadores, no invasivos, que puedan utilizarse en el manejo clínico de los pacientes con NL [230], siendo el objetivo encontrar un biomarcador ideal que pueda ayudar a determinar el diagnóstico y el pronóstico en estos enfermos, evaluando la presencia o ausencia de lesiones a nivel renal y su gravedad [229].

Para que un biomarcador sea fiable y útil en la práctica clínica, debe cumplir las siguientes características: tener relevancia biológica y fisiopatológica, tener un uso sencillo en la práctica clínica, reflejar de forma adecuada el estado y los cambios en la actividad a nivel renal permitiendo monitorizar los cambios, y diferenciar a aquellos pacientes que presentan una respuesta parcial o completa durante la evolución de la enfermedad de forma más precisa que los niveles de proteinuria y creatinina sérica utilizados en la actualidad, ayudando de esta forma a individualizar el tratamiento [229, 232].

En los últimos años se ha centrado en la orina la búsqueda de nuevos biomarcadores, puesto que se piensa que su origen en muchos casos es renal pudiendo ser más útiles para la valoración del daño renal que la biopsia renal al evitar errores relacionados con la muestra y su tamaño [231]. Es difícil valorar si en el futuro los biomarcadores no invasivos podrán substituir a la biopsia renal en

la realización del diagnóstico de la NL aunque probablemente debido a la imposibilidad de realizar biopsias renales de forma repetida durante la evolución de la enfermedad si puedan tener una gran utilidad para monitorizar los cambios de actividad en estos pacientes permitiendo la realización de un diagnóstico precoz evitándose de este modo la aparición de cronicidad y de secuelas [229].

La validación clínica de los biomarcadores no invasivos para la NL no es un trabajo sencillo puesto que sus resultados deben ser comparados con los obtenidos en la biopsia. Diferentes investigaciones han demostrado que en los diagnósticos realizados mediante biopsia renal puede existir de un 10-20% de error en la clasificación de las lesiones glomerulares [231, 233- 234], debiendo considerarse este porcentaje de error también aceptable para los nuevos biomarcadores. Hasta el momento se han identificado varios biomarcadores no invasivos en la nefritis lúpica aunque ninguno de ellos ha cumplido todas las características deseadas centrándose las investigaciones en la actualidad en la búsqueda de un panel de biomarcadores que pueda ayudar en el manejo de estos enfermos.

La revisión de la literatura revela la existencia de un gran número de estudios transversales que establecen una relación entre biomarcadores urinarios, séricos e incluso histológicos, y la actividad de la nefritis lúpica. Algunos de ellos han mostrado resultados prometedores, aunque con frecuencia no se han podido validar los resultados obtenidos en las diferentes series en cohortes longitudinales.

El estudio transversal de nuestra investigación nos permitió determinar los niveles de cada biomarcador en los diferentes subgrupos incluidos en el estudio. La mayoría de biomarcadores urinarios (NGAL, TWEAK, APRIL y NRP-1) se encontraban más elevados en aquellos pacientes con NLA cuando se comparaban con los diferentes grupos del estudio. Estudios previos han

demostrado la asociación de los niveles urinarios de NGAL, TWEAK y MCP-1 con la actividad de la enfermedad e incluso con el grado de severidad [159- 160, 170, 182, 189, 235- 243]. La MCP-1 es uno de los biomarcadores más estudiados en la nefritis lúpica [167, 170, 244- 247] siendo considerado como un buen biomarcador diagnóstico de la NL [247] no existiendo acuerdo sobre si es o no una variable independiente de enfermedad renal en estos pacientes [244, 247]. En nuestro estudio, a diferencia de los realizados previamente los niveles urinarios de MCP-1 no permitieron diferenciar a los pacientes con brote extrarenal y renal, aunque estos últimos presentaron niveles más elevados.

En este estudio se evalúan por primera vez los niveles urinarios de APRIL y de NRP-1 como biomarcadores de nefritis lúpica activa. APRIL es una citoquina de la familia del TNF con un papel importante en el LES, estudios previos han demostrado una asociación de sus niveles séricos con la NLA [197- 198, 239] no habiéndose realizado estudios con sus niveles urinarios. En nuestro estudio los niveles urinarios nos permitieron diferenciar a los pacientes con NLA de aquellos con NL con RC o RP, LES inactivo y brote extrarenal. Al igual que sucedía con otros biomarcadores urinarios, en los pacientes con NLA se observó también un aumento de los niveles urinarios de NRP-1 que nos permitieron diferenciar de forma estadísticamente significativa el grupo con actividad renal del resto de grupos. Hasta el momento, existen pocos trabajos que hayan investigado el papel de la NRP-1 en el LES. La NRP-1, inicialmente fue caracterizada como un receptor neuronal de los miembros secretados de la familia de las semaforinas implicadas en el guiado axonal, descubriéndose posteriormente que se expresa también en las células endoteliales y tumorales actuando como receptor de la familia del VEGF [201, 206, 247, 248-249].

La NRP-1 tiene un papel importante en el desarrollo de la tolerancia periférica y en el mantenimiento de la homeostasis y la integridad de las células glomerulares endoteliales [201, 250]. Únicamente,

existe un trabajo realizado en pacientes con NL por Vadasz y colaboradores en el cual se describió un aumento de los depósitos de NRP-1 a nivel renal en los pacientes con NL respecto a los controles sanos y enfermos [250], no disponiéndose hasta la realización de nuestro estudio de datos de la asociación entre los niveles urinarios y séricos.

La evaluación, en nuestro estudio, de los niveles séricos de los diferentes biomarcadores demostró que en general no eran buenos marcadores para valorar la actividad renal. En este estudio únicamente los niveles séricos de NGAL y TWEAK permitieron diferenciar, respectivamente, a los pacientes con NLA de aquellos con LES inactivo o con NL que tras el tratamiento habían conseguido una RC. Estos resultados discrepan de los publicados previamente por Wang y colaboradores dónde los niveles séricos de TWEAK no permitieron distinguir a los pacientes con lupus y afectación renal de aquellos que no la presentaban [251]. A diferencia de algunos resultados publicados previamente [197- 198], no se objetivaron diferencias estadísticamente significativas en los niveles séricos de APRIL y NRP1 entre los pacientes afectos por NLA y el resto de grupos.

La principal diferencia metodológica de este estudio es que además de determinar los niveles urinarios y séricos de los biomarcadores también se calcularon también sus fracciones de excreción en relación a la fracción de excreción de la proteínas totales (ratio FE NGAL /FE proteína, ratio FE TWEAK/ FE proteína, ratio FE APRIL/ FE proteína, ratio FE MCP-1/ FE proteína, ratio FE NRP-1/ FE proteína). En los pacientes con NLA se observó una disminución estadísticamente significativa de los ratios de FE NGAL / FE proteína, FE APRIL/ FE Proteína, FE MCP-1/FE Proteína y FE NRP-1/FE Proteína respecto al resto de grupos, reflejando respectivamente el aumento de los niveles urinarios de NGAL, APRIL, MCP-1 y NRP-1, siendo mejores en algunas situaciones clínicas que los valores urinarios o séricos.

Al realizar la valoración de todos los biomarcadores del estudio para establecer cuál de ellos identificaba mejor a los pacientes con nefritis activa, dos de ellos, los niveles urinarios de NRP-1 y del ratio de FE NGAL/FE proteína mostraron las mejores curvas ROC. Los niveles urinarios de NRP-1 fueron los mejores para distinguir aquellos pacientes con nefritis activa de aquellos con pacientes con brote extrarrenal, LES inactivo o de aquellos que tras un brote renal habían conseguido una respuesta parcial. En los pacientes con nefritis lúpica, la evaluación de la respuesta parcial es un punto de especial interés, no aclarado, precisándose en la actualidad para determinar la etiología de la proteinuria persistente la realización de una biopsia renal. Los niveles urinarios de NRP-1 permitieron diferenciar los grupos con respuesta parcial y NLA en nuestro estudio, aunque su diseño hace difícil extraer conclusiones puesto que no se realizó a todos los pacientes con RP una nueva biopsia renal que permitiera determinar si el origen de la proteinuria era secundario a la presencia de actividad o una secuela de la NL.

El ratio FE NGAL / FE proteína mostró la mejor curva ROC del estudio para diferenciar a los pacientes con NLA de aquellos que habían tenido un brote renal y habían conseguido una RC, siendo esta proporción un buen biomarcador de enfermedad renal activa. Niveles de 2,350 % mostraron una sensibilidad del 89%, una especificidad del 86%, un VPP del 89% y un VPN del 86% para diferenciar ambos grupos.

El estudio transversal nos permitió también establecer correlaciones entre los biomarcadores estudiados y los parámetros utilizados en la actualidad para medir actividad en los pacientes con NL, confirmándose posteriormente las mismas correlaciones en el estudio longitudinal. Los niveles urinarios de NGAL, TWEAK y MCP-1 de los pacientes con NL correlacionaron significativamente con los niveles de creatinina sérica, el ratio de proteínas/creatinina urinario y el rSLEDAs tal y como había sido descrito en algunos estudios previamente [170, 189, 235, 237- 239, 241, 243]. Nuestros

resultados difieren de los obtenidos en un estudio piloto realizado por Schwartz y colaboradores en el que no se encontró relación entre los niveles urinarios de TWEAK y la proteinuria [160]. Al evaluar los parámetros utilizados en la práctica clínica para evaluar la actividad de enfermedad extrarenal se encontró al igual que había sido descrito previamente una correlación entre los niveles urinarios de TWEAK y los niveles de Acs. anti dsDNA [159]. Nuestro estudio además demostró por primera vez la utilidad como marcadores de actividad de los niveles urinarios de APRIL y del ratio de FE APRIL en relación con la fracción de excreción de proteínas totales (FE APRIL/FE proteína), al encontrarse una asociación significativa con el SLEDAI-2Ks global, respectivamente ($r = 0,52$, $p < 0,0001$) y ($r = 0,44$, $p < 0,0001$) que dependía principalmente de los componentes renales de la escala, puesto que la correlación se perdió o fue débil cuando se consideraron sólo las manifestaciones extrarenales (eSLEDAIs) ($r = 0,14$, ns) y ($r = 0,17$, $p = 0,02$), también se encontró correlación entre los niveles urinarios de NRP-1 con parámetros renales tales como la proteinuria ($r = -0,1876$, $p = 0,009$) y el rSLEDAIs ($r = 0,147$, $p = 0,041$).

Si los niveles urinarios de NGAL, TWEAK, APRIL, MCP-1 y NRP-1 pueden distinguir las diferentes clases histológicas de la NL está todavía por determinar. Suzuki y sus colaboradores [181] describieron en una cohorte de pacientes pediátricos con LES la asociación de los niveles de NGAL urinaria con la glomerulonefritis proliferativa difusa, Liu y colaboradores [232] demostraron una elevación de la expresión de TWEAK en las biopsias de los pacientes afectados por una glomerulonefritis lúpica tipo V en comparación con las de aquellos que estaban afectados por una glomerulonefritis tipo IV, ninguna de nuestras determinaciones permitió distinguir entre los diferentes tipos histológicos de la nefritis lúpica aunque nuestro estudio no posee el poder estadístico suficiente para responder a esta pregunta debido al pequeño número de pacientes con nefritis tipo V incluidos en el mismo.

Anteriormente se había publicado en diferentes estudios la correlación entre el índice de actividad

histológico en pacientes con NL y los niveles urinarios de NGAL y TWEAK y los séricos de APRIL [236, 239, 244], en nuestro estudio únicamente se encontró correlación con los niveles urinarios de NGAL y de TWEAK séricos.

No se encontró ninguna correlación entre los biomarcadores estudiados y el índice de cronicidad de la biopsia renal en nuestro estudio, a diferencia de lo publicado por Brunner y colaboradores [188]. En dicho trabajo se encontró una disminución de los niveles de NGAL urinarios en aquellos pacientes con semilunas, considerándose este hallazgo una buena prueba diagnóstica de la presencia de cronicidad de la enfermedad renal en combinación con la TFG y la determinación de los niveles urinarios de MCP-1.

El estudio longitudinal nos permitió determinar los niveles y el valor predictor de los biomarcadores en los pacientes con NL en diferentes situaciones clínicas (brote, RC y progresión de la enfermedad). El valor predictor de brote renal ya había sido estudiado para algunos de los biomarcadores en estudios longitudinales prospectivos realizados previamente habiéndose confirmado la utilidad de la determinación de los niveles urinarios de NGAL, TWEAK y MCP-1 como predictores de brote renal y de actividad de la enfermedad renal en pacientes con LES [160, 167, 170, 180, 182, 239, 244-246, 250]. Cuando se analizaron en nuestro estudio los niveles de los biomarcadores antes del brote se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de algunos de los biomarcadores en el momento del brote y los presentes en las visitas previas. Se analizaron únicamente los datos de los brotes proteinúricos debido al pequeño número de pacientes afectados por brotes nefríticos. Al igual que en otros estudios realizados previamente el nuestro confirmó que la NGAL urinaria es un predictor de brote renal [182, 244] superando en esta función a los Acs. anti-dsDNA [182], detectándose al igual que había sido descrito por Hinze y colaboradores previamente un aumento significativo de sus niveles en los 3 meses previos al brote

[180].

Nuestro estudio también detectó un aumento, ligero y progresivo de los niveles urinarios de APRIL que alcanzó sus valores máximos en el momento del brote coincidiendo esto con lo publicado anteriormente [200], aunque únicamente los cambios entre el momento del brote y los 6 meses previos (tiempos A y –A2) fueron estadísticamente significativos (tabla 13). En el momento del brote se detectó también un aumento de los niveles urinarios de MCP-1 mostrando la misma tendencia en el subtipo proteinúrico (tablas 14 y 15), aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas cuando se compararon con los valores presentes en los meses previos.

Durante el periodo de seguimiento también se observaron cambios de los niveles urinarios de TWEAK y NRP-1 en las visitas previas al brote pero ninguno de ellos fue estadísticamente significativo (tablas 10, 11, 16 y 17). Estos datos difieren de los datos publicados previamente por Schwartz y colaboradores en un estudio realizado con 13 pacientes en el cual demostraron un aumento significativo de los niveles urinarios de TWEAK durante el brote renal al compararlo con los valores presentes en los 4 y 6 meses previos y posteriores al brote [160].

Al valorar los niveles séricos de los biomarcadores en el brote renal existen resultados contradictorios, mientras Hinze y colaboradores [180] observaron un incremento significativo de los niveles de NGAL del 26%, en los 3 meses previos al empeoramiento de la actividad global y renal, en nuestro estudio, al igual que en el realizado por Suzuki y colaboradores [181] este incremento se produjo en un grado mucho menor y no fue estadísticamente significativo. A diferencia de lo publicado anteriormente [170] nuestros pacientes presentaron antes de ambos tipos de brote una disminución progresiva de sus niveles séricos que alcanzó sus niveles mínimos en el momento del brote (Tablas 14 y 15), siendo la diferencia estadísticamente significativa entre el momento del brote y la visita realizada 6 meses antes del mismo para el total de brotes ($p < 0.05$) (Tabla 14). Los

cambios detectados en los niveles séricos de TWEAK y NRP-1 no fueron estadísticamente significativos.

En nuestro estudio se objetivó un aumento de los valores del ratio de FE NGAL/FE proteína, entre los 6 y 3 meses antes del brote presentando posteriormente una disminución en el momento del brote, siendo ambas diferencias estadísticamente significativas, observándose la misma tendencia en los brotes proteinúricos. Asimismo, se observó una disminución del ratio de FE APRIL/FE proteína entre el momento del brote respecto a la visita previa que fue estadísticamente significativa (Tabla 13). No se detectaron diferencias estadísticamente significativas en los niveles del ratio FE TWEAK/FE proteína y FE MCP-1/FE proteína para ambos tipos de brotes.

Al comparar simultáneamente el valor predictivo de brote renal de los diferentes biomarcadores en estudio, el ratio FE NRP-1/FE Proteína mostró ser el mejor biomarcador del estudio para predecir la aparición de brote renal en los pacientes con LN en los meses previos a este. Los valores inferiores a 4.517 % mostraron la mejor curva ROC para predecir brote renal y los inferiores a 1.830 % mostraron una alta especificidad (75%) para el diagnóstico del brote proteinúrico (tabla 27).

Para valorar la capacidad de estos biomarcadores para predecir respuesta completa, se determinaron los valores que presentaban los pacientes en el momento del diagnóstico según la respuesta alcanzada tras la realización del tratamiento, así como los niveles de los biomarcadores en el momento de la consecución de la respuesta completa y en los meses previos. Anteriormente, se había descrito en pacientes con NL que la presencia de los Acs. anti- C1q y Acs. anti-ds DNA [252] junto a la disminución de los niveles urinarios de MCP-1 durante el tratamiento [166-167,170, 242] eran predictores de curación.

En nuestro estudio, los niveles de uNRP-1 fueron el mejor biomarcador para identificar en el momento del diagnóstico del brote renal a aquellos pacientes que conseguirían la RC. En nuestro

estudio los niveles urinarios de RNP-1 en el momento del diagnóstico mayores a 1.405 ng/mg Cr mostraron la mejor curva del estudio [ROC AUC de 0,856 (IC del 95%: 0,767- 0,946)] para predecir RC con una sensibilidad de 85% y una especificidad del 77% (tabla 30 y figura 20) describiéndose por primera vez su utilidad como predictor de RC.

Durante los meses previos a la RC se objetivó un aumento progresivo de los niveles del ratio FE NGAL /FE proteína que alcanzó sus niveles máximos en el momento de RC (Tabla 31), con un aumento aproximado de 4 veces respecto a la visita previa, siendo las diferencias entre las diferentes visitas estadísticamente significativas, niveles mayores a 26,54 % durante el seguimiento demostraron ser el mejor biomarcador del estudio para predecir RC (Tabla 41).

Durante la RC también se observó un aumento significativo del ratio FE APRIL/ /FE Proteína respecto a la visita previa ($p = 0.005$) (tabla 33), no evidenciándose ningún cambio estadísticamente significativo en los niveles de TWEAK, MCP-1 y NRP-1 (Tablas 32, 33 y 34).

En nuestro conocimiento, éste el primer estudio que demuestra la capacidad de NRP-1 y NGAL para predecir RC en la NL [253] siendo necesaria la realización de nuevos estudios prospectivos en cohortes independientes para la validación de nuestros resultados. En la actualidad no son bien conocido sus mecanismos de acción y si tienen algún papel regenerador que les permite ser biomarcadores de RC.

Inicialmente, la NRP-1 fue detectada a nivel neuronal [254, 255- 256] expresándose también en otros tejidos como el renal [254, 257-261] es un correceptor del factor de crecimiento vascular (VEGF) y de la semaforina que necesita la ayuda de los receptores de la familia tirosin kinasa (VEGFR1 o VEGFR2) para realizar sus múltiples funciones [262, 263- 267]. El VEGF tiene un papel esencial en la angiogénesis y en la reparación de los tejidos, conociéndose que la presencia predominante de factores proangiogénicos y su actuación precoz optimiza la curación de los tejidos

dañados [268].

En la actualidad no es conocida con exactitud la función de la NRP-1 a nivel renal aunque sí se sabe que está implicada en diferentes procesos como la adhesión y apoptosis podocitaria y en la migración celular [257] habiéndose demostrado en algunas enfermedades que su disminución se asocia a afectación renal y que es necesario un aumento de su expresión para que se produzca la recuperación a nivel renal [269- 270]. Los datos anteriormente expuestos sugieren que la NRP-1 a nivel renal mediante su relación con el VEGF puede estar implicada en el proceso de reparación. La producción de NGAL tiene un origen local y sistémico y actúa como un factor de crecimiento y de diferenciación en múltiples tipos celulares como el epitelio renal teniendo un papel reparador del daño renal, no siendo bien conocido el mecanismo implicado. Varias hipótesis han sido implicadas en su mecanismo de acción como: su capacidad para transportar hierro [190, 233] y el efecto sobre la expresión de NGAL y su receptor de diferentes citoquinas inflamatorias presentes a nivel renal [271-272].

Diferentes estudios han demostrado que algunos efectos biológicos de la NGAL pueden variar notablemente dependiendo si se encuentra unida (Holo-NGAL) o no al complejo sideróforo:hierro (Apo-NGAL) [273]. En la primera situación se libera el hierro dentro de la célula causando la regulación de genes relacionados con el hierro, como la ferritina y el receptor transferrina [273], teniendo un papel renoprotector e induciendo la transformación mesénquimo-epitelial en el tejido renal embrionario in vitro y protegiendo el riñón adulto del daño por isquemia reperfusión in vivo [272, 274].

Se ha demostrado también que las citoquinas inflamatorias están implicadas en la regeneración que sigue al daño renal mediada por NGAL, asociándose su presencia a una disminución de la regeneración celular inducida por NGAL [272]. Se cree que las citoquinas ejercen su acción sobre la NGAL probablemente mediante la regulación de la expresión de sus receptores [272].

En el presente estudio únicamente 7 (16%) pacientes progresaron a IRC y aunque se trata de un pequeño número, permitió demostrar, tal y como había sido descrito previamente, que la TFGe es el único marcador independiente de progresión de la enfermedad. En estos pacientes es de vital importancia la realización de una detección precoz del daño renal que permita enlentecer su progresión a enfermedad renal terminal. Durante el seguimiento los niveles urinarios de NRP-1 mayores de 206,97 ng/mg Cr mostraron mayor especificidad (82 y 79%) y VPP (60% y 47%) e igual sensibilidad (100 % y 100%) y VPN (100% y 100%) para predecir progresión a IRC que la tradicional TFGe.

La inflamación, la hipertensión, la proteinuria y la hiperlipidemia representan importantes factores de riesgo para la aparición de IRC en estos pacientes y aunque son modificables por sí solos no son suficientes para explicar de forma adecuada los resultados renales en la NL [275]. En estos pacientes se ha demostrado que los Acs. anti-dsDNA contribuyen a la fibrosis tubulo-intersticial induciendo en las células del epitelio renal tubular proximal la secreción de fibronectina y su depósito en la matriz extracelular, y el aumento de la síntesis de TGF- β 1 y colágeno tipo I produciendo una amplificación del proceso fibrótico [276]. Los pacientes con LN presentan niveles elevados de TGF- β 1 [236, 277] habiéndose demostrado que inducen la expresión de NRP-1 [253, 262, 278- 279] y de VEGF-A en los podocitos contribuyendo ambos a la progresión de la fibrosis [280].

Las principales fortalezas de nuestro estudio son: la descripción simultánea de un estudio transversal y uno longitudinal con un amplio número de participantes y de resultados en cada uno de ellos, la homogeneidad del estudio (que puede reducir el sesgo), la ausencia de pérdida de pacientes durante el seguimiento y la información disponible sobre un gran número de potenciales factores de confusión. Sin embargo, también deberían considerarse varias limitaciones al interpretar los resultados, la principal es la imposibilidad para realizar de forma seriada

correlaciones de los valores de los biomarcadores estudiados con la histología renal durante la evolución de la enfermedad debido el carácter invasor de la biopsia renal. En segundo lugar, la participación de un único centro en el estudio, un periodo de seguimiento relativamente corto en el estudio longitudinal y que solo un número escaso de pacientes que desarrollaran algunos de los resultados objeto de estudio como la progresión a la IRC. A pesar de todo, los diferentes resultados fueron alcanzados, y el modelo estadístico fue lo suficientemente poderoso como para establecer relaciones independientes entre los diferentes biomarcadores y los resultados clínicos. En tercer lugar, todos los pacientes incluidos eran caucásicos tratados con MMF como tratamiento de inducción y mantenimiento, no pudiendo descartarse resultados diferentes con otras etnias o con otros tratamientos de inducción y mantenimiento requiriéndose la realización de un estudio multicéntrico para validar estos resultados. Sin embargo, previamente no se habían publicado diferencias entre los valores obtenidos en pacientes de origen hispano y afroamericano [183]. En cuarto lugar, se utilizó la escala no validada del rSLEDAI-2Ks como standard externo alternativo para la evaluación de la LN, debido a que no fue posible la utilización del “Gold standard” por la dificultad para la realización de biopsias renales de forma seriada.

Estos resultados confirman que la determinación de los valores urinarios de NRP-1 y del ratio de la FE NGAL/FE proteína y FE NRP-1/FE proteína proporcionan un beneficio adicional a los tradicionales biomarcadores para estratificar los diferentes resultados durante la evolución de la LN confirmando su potencial utilidad como biomarcadores no invasivos en la NL. Este estudio permitió determinar la utilidad de cada uno de los biomarcadores en la NL en diferentes situaciones clínicas y generar un panel de biomarcadores con utilidad en el manejo clínico de estos pacientes, siendo necesarios nuevos estudios que permitan validar su uso en la práctica clínica, investigar la función de la NRP-1 en la NL, y su potencial utilidad terapéutica y continuar la búsqueda de nuevos biomarcadores.

Conclusiones

- 1.** En la actualidad, el uso de estos biomarcadores de nefritis lúpica no está validado en la práctica clínica aunque pueden ayudar en el manejo y tratamiento de estos enfermos.
- 2.** Los datos obtenidos en este estudio sugieren que sería de utilidad en la práctica clínica diaria el uso de un panel de biomarcadores en el diagnóstico y el seguimiento de estos pacientes
- 3.** La determinación de la NRP-1 urinaria fue de los biomarcadores analizados, el mejor para diferenciar la nefritis lúpica activa del brote extrarenal de la enfermedad, de la enfermedad lúpica sin actividad clínica y de aquellos pacientes con historia de nefritis lúpica que persistían con una respuesta parcial tras el tratamiento por lo cual podría ser utilizado como un biomarcador de identificación y diagnóstico precoz de brote renal.
- 4.** La determinación del ratio FE NGAL/ FE Proteína fue el mejor biomarcador para diferenciar a los pacientes con nefritis lúpica activa de aquellos pacientes con historia previa de nefritis pero en actual respuesta completa.
- 5.** Ninguno de los biomarcadores analizados se correlacionó con el tipo histológico o el grado de cronicidad de la biopsia renal. En nuestro estudio únicamente se

encontró correlación entre el índice de actividad histológico y los niveles urinarios de NGAL y séricos de TWEAK.

- 6.** Los valores del ratio FE NRP-1/FE Proteína fueron el mejor biomarcador para predecir brote renal en la cohorte longitudinal.
- 7.** Los niveles de NRP-1 en el momento del diagnóstico de la nefritis lúpica activa fueron el mejor predictor de respuesta completa después del tratamiento por lo que puede usarse como un biomarcador pronóstico.
- 8.** El aumento de los niveles del ratio FE NGAL/FE Proteína en los meses previos a la RC junto a una mejoría del SLEDAI renal fue el mejor predictor de RC y es por lo tanto un buen biomarcador para monitorizar la respuesta al tratamiento.
- 9.** El único predictor independiente de progresión a IRC fue la disminución del filtrado glomerular.
- 10.** De los biomarcadores analizados, los niveles elevados de uNRP-1 mostraron el mejor perfil para predecir progresión a IRC en estos pacientes.
- 11.** Los resultados de este trabajo han permitido al grupo de investigación del Profesor Josep Ordi-Ros registrar una patente que ya está aprobada y revisada con el título Neuropilina-1 (Nrp-1) urinaria como marcador pronóstico de nefritis lúpica (patente P201331051).

1. Doria A, Zen M, Bettio S, et al. Autoinflammation and autoimmunity: bridging the divide. *Autoimmun Rev* 2012; 12:22-30
2. Singh RP, Waldron RT, Hahn BH. Genes, tolerance and systemic autoimmunity. *Autoimmun Rev* 2012; 11:664-669
3. Hiraki LT, Feldman CH, Liu J, et al. Prevalence, incidence, and demographics of systemic lupus erythematosus and lupus nephritis from 2000 to 2004 among children in the US Medicaid beneficiary population. *Arthritis Rheum* 2012; 64:2669-2676
4. Mok CC, Kwok CL, Ho LY, Chan PT, Yip SF. Life expectancy, standardized mortality ratios, and causes of death in six rheumatic diseases in Hong Kong, China. *Arthritis Rheum* 2011; 63:1182-1189
5. Watson L, Leone V, Pilkington C, et al. Disease activity, severity, and damage in the UK juvenile-onset systemic lupus erythematosus cohort. *Arthritis Rheum* 2012; 64:2356-2365
6. Borchers AT, Keen CL, Shoenfeld Y, Gershwin ME. Surviving the butterfly and the wolf: mortality trends in systemic lupus erythematosus. *Autoimmun Rev* 2004; 3:423-453
7. Bernatsky S, Boivin JF, Joseph L, et al. Mortality in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2006; 54:2550-2557
8. Rabbani MA, Habib HB, Islam M, et al. Survival analysis and prognostic indicators of systemic lupus erythematosus in Pakistani patients. *Lupus* 2009; 18:848-855
9. Flower C, Hennis AJ, Hambleton IR, Nicholson GD, Liang MH. Systemic lupus erythematosus

in an Afro-Caribbean population: incidence, clinical manifestations and survival in the Barbados National Lupus Registry. *Arthritis Care Res* 2012; 64:1151-1158

10. Pons-Estel GJ, Serrano R, Plasin MA, Espinosa G, Cervera R. Epidemiology and management of refractory lupus nephritis. *Autoimmun Rev* 2011; 10:655-663

11. Borchers AT, Naguwa SM, Shoenfeld Y, Gershwin ME. The geoepidemiology of systemic lupus erythematosus. *Autoimmun Rev* 2010; 9: 277-287

12. Borchers AT, Leibushor N, Naguwa SM, Cheema GS, Shoenfeld Y, Gershwin ME. Lupus nephritis: A critical review. *Autoimmun Rev* 2012; 12(2):174-194

13. Rosner S, Ginzler EM, Diamond HS et al. A multicenter study of outcome in systemic lupus erythematosus. II. Causes of death. *Arthritis Rheum* 1982; 25: 612–617

14. Abdwani R, Rizvi SG, El-Nour I. Childhood systemic lupus erythematosus in Sultanate of Oman: demographics and clinical analysis. *Lupus* 2008; 17:683-686

15. Barron KS, Silverman ED, Gonzales J, Reveille JD. Clinical, serologic, and immunogenetic studies in childhood-onset systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1993; 36:348-354

16. 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* 1998; 57:456-459

17. Hiraki LT, Benseler SM, Tyrrell PN, Hebert D, Harvey E, Silverman ED. Clinical and laboratory characteristics and long-term outcome of pediatric systemic lupus erythematosus: a longitudinal study. *J Pediatr* 2008; 152:550-556

18. Hoffman IE, Lauwerys BR, De Keyser F, Huizinga TW, Isenberg D, Cebecauer L, et al.

Juvenile-onset systemic lupus erythematosus: different clinical and serological pattern than adult-

onset systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2009; 68: 412-415

19. Mahmoud SS, Bazaraa HM, Lotfy HM, Abd-El-Aziz DM. Renal involvement in childhood-onset systemic lupus erythematosus in Egypt. *Rheumatol Int* 2012; 32:47-51

20. 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* 1998; 17:468-77

21. Seligman VA, Lum RF, Olson JL, Li H, Criswell LA. Demographic differences in the development of lupus nephritis: a retrospective analysis. *Am J Med* 2002; 112:726-9

22. Mohan C, Putterman C. Genetics and pathogenesis of systemic lupus erythematosus and lupus nephritis. *Nat Rev Nephrol* 2015; 11: 329–341

23. Lisnevskaja L, Murphy G, Isenberg D. Systemic lupus erythematosus. *Lancet* 2014; 384(9957):1878-88

24. Rekvig OP, Van der Vlag J. The pathogenesis and diagnosis of systemic lupus erythematosus: still not resolved. *Semin Immunopathol* 2014; 36: 301–311

25. Muñoz LE, Lauber K, Schiller M, Manfredi AA, Herrmann M. The role of defective clearance of apoptotic cells in systemic autoimmunity. *Nat Rev Rheumatol* 2010; 6: 280–289

26. Seredkina N, Van Der Vlag J, Berden J, Mortensen E, Rekvig OP. Lupus nephritis: enigmas, conflicting models and an emerging concept. *Mol Med* 2013; 19:161-9

27. Kalaaji M, Mortensen E, Jørgensen L, Olsen R, Rekvig OP. Nephritogenic lupus antibodies recognize glomerular basement membrane-associated chromatin fragments released from apoptotic intraglomerular cells. *Am J Pathol* 2006; 168:1779–1792

28. Shao WH, Cohen PL. Disturbances of apoptotic cell clearance in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther* 2011; 13: 202-209
29. Garcia-Romo GS, Caielli S, Vega B, et al. Netting neutrophils are major inducers of type I IFN production in pediatric systemic lupus erythematosus. *Sci Transl Med* 2011; 3(73):73ra20.
30. Hakkim A, Fürnrohr BG, Amann K, et al. Impairment of neutrophil extracellular trap degradation is associated with lupus nephritis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107(21): 9813–9818.
31. Urbonaviciute V, Fürnrohr BG, Meister S, Munoz L, Heyder P, et al. Induction of inflammatory and immune responses by HMGB1- nucleosome complexes: implications for the pathogenesis of SLE. *J Exp Med* 2008; 205:3007–3018
32. Tian J, Avalos AM, Mao SY, et al. Toll-like receptor 9-dependent activation by DNA-containing immune complexes is mediated by HMGB1 and RAGE. *Nat Immunol* 2007; 8(5):487-96. Erratum in: *Nat Immunol* 2007 Jul;8(7):780
33. Knight JS, Kaplan MJ. Lupus neutrophils: 'NET' gain in understanding lupus pathogenesis. *Curr Opin Rheumatol* 2012; 24(5): 441–450
34. Krishnan C, Kaplan MH. Immunopathologic studies of systemic lupus erythematosus. II. Antinuclear reaction of gamma-globulin eluted from homogenates and isolated glomeruli of kidneys from patients with lupus nephritis. *J Clin Invest* 1967; 46:569–579
35. Deocharan B, Qing X, Lichauco J, Putterman C. Alpha-actinin is a cross-reactive renal target for pathogenic anti-DNA antibodies. *J Immunol* 2002; 168: 3072–3078
36. Sterner RM, Hartono SP, Grande JP. The Pathogenesis of Lupus Nephritis. *J Clin Cell Immunol* 2014; 5(2): 205

37. Botto M, Walport MJ. C1q, autoimmunity and apoptosis. *Immunobiology* 2002; 205: 395–406
38. Starke C, Frey S, Wellmann U, *et al.* High frequency of autoantibody-secreting cells and long-lived plasma cells within inflamed kidneys of NZB/W F1 lupus mice. *Eur J Immunol.* 2011 Jul; 41(7):2107-12
39. Arbuckle MR, McClain MT, Rubertone MV, *et al.* Development of autoantibodies before the clinical onset of systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2003; 349:1526–33
40. Isenberg DA, Manson JJ, Ehrenstein MR, Rahman A. Fifty years of anti-ds DNA antibodies: are we approaching journey's end?. *Rheumatology (Oxford)* 2007; 46(7):1052-1056
41. Chan TM, Leung JK, Ho SK, Yung S. Mesangial cell binding anti-DNA antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13:1219–29
42. Rahman A, Isenberg DA. Systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2008; 358:929–39
43. Hahn BH. Antibodies to DNA. *N Engl J Med* 1998; 338:1359–68
44. Jiang C, Foley J, Clayton N, Kissling G, *et al.* Abrogation of lupus nephritis in activation-induced deaminase-deficient MRL/lpr mice. *J Immunol* 2007; 178:7422–31
45. Jiang C, Zhao ML, Scearce RM, Diaz M. Activation-induced deaminase-deficient MRL/lpr mice secrete high levels of protective antibodies against lupus nephritis. *Arthritis Rheum* 2011; 63:1086–96
46. Rahman A. Autoantibodies, lupus and the science of sabotage. *Rheumatology (Oxford)* 2004; 43:1326–36.
47. Rahman A, Giles I, Haley J, Isenberg D. Systematic analysis of sequences of anti-DNA antibodies relevance to theories of origin and pathogenicity. *Lupus* 2002; 11:807–23
48. Waldman M, Madaio MP. Pathogenic autoantibodies in lupus nephritis. *Lupus* 2005; 14:19–24

49. Kalaaji M, et al. Glomerular apoptotic nucleosomes are central target structures for nephritogenic antibodies in human SLE nephritis. *Kidney Int* 2007; 71:664–72
50. Seredkina N, Rekvig OP. Acquired loss of renal nuclease activity is restricted to DNase1 and is an organ-selective feature in murine lupus nephritis. *Am J Pathol* 2011; 179(3):1120-8.
51. Fenton K, Fisman S, Hedberg A, *et al.* (2009) Anti-dsDNA antibodies promote initiation, and acquired loss of renal Dnase1 promotes progression of lupus nephritis in autoimmune (NZBxNZW)F1 mice. *PLoS One* 2009; 4(12):e8474.
52. Pang Y, Yang XW, Song Y, Yu F, Zhao MH. Anti-C1q autoantibodies from active lupus nephritis patients could inhibit the clearance of apoptotic cells and complement classical pathway activation mediated by C1q in vitro. *Immunobiology* 2014; 219(12): 980-989
53. Cunninghame Graham DS, Akil M, Vyse TJ. Association of polymorphisms across the tyrosine kinase gene, TYK2 in UK SLE families. *Rheumatology (Oxford)* 2007; 46: 927–930
54. Mevorach D. Clearance of dying cells and systemic lupus erythematosus: the role of C1q and the complement system. *Apoptosis* 2010; 15: 1114–1123
55. Leffler J, Bengtsson AA, Blom AM. The complement system in systemic lupus erythematosus: an update. *Ann. Rheum. Dis* 2014; 73: 1601–1606
56. Fenton K. The effect of cell death in the initiation of lupus nephritis. *Clin Exp Immunol* 2015; 179(1):11-16
57. Thiyagarajan D, Fisman S, Seredkina N, *et al.* Silencing of renal DNase1 in murine lupus nephritis imposes exposure of large chromatin fragments and activation of toll like receptors and the Clec4e. *PLoS One.* 2012; 7(3):e34080
58. Brown GD. Sensing necrosis with Mincle. *Nat. Immunol* 2008; 9:1099–100.

59. Yamasaki S, Ishikawa E, Sakuma M, Hara H, Ogata K, Saito T. Mincle is an ITAM-coupled activating receptor that senses damaged cells. *Nat Immunol* 2008; 9:1179–88.
60. Geijtenbeek TB, Gringhuis SI. Signalling through C-type lectin receptors: shaping immune responses. *Nat Rev Immunol* 2009; 9:465–79.
61. Magna M, Pisetsky D S. The role of HMGB1 in the pathogenesis of inflammatory and autoimmune diseases. *Mol Med* 2014; 20: 138–146
62. Cook HT, Botto M. Mechanisms of Disease: the complement system and the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Nat Clin Pract Rheumatol* 2006; 2: 330–337
63. Koscielska-Kasprzak K, Bartoszek D, Myszkka M, Zabińska M, Klinger M. The complement cascade and renal disease. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2014; 62:47–57
64. von Landenberg P, Bauer S. Nucleic acid recognizing Toll-like receptors and autoimmunity. *Curr Opin Immunol* 2007; 19: 606–610
65. Yazici MU, Orhan D, Kale G, Besbas N, Ozen S. Studying IFN-gamma, IL-17 and FOXP3 in pediatric lupus nephritis. *Pediatr Nephrol* 2014; 29:853–862
66. Means TK, Latz E, Hayashi F, Murali MR, Golenbock DT, Luster AD. Human lupus autoantibody–DNA complexes activate DCs through cooperation of CD32 and TLR9. *J Clin Invest* 2005; 115:407-17
67. Lee SB, Kalluri R. Mechanistic connection between inflammation and fibrosis. *Kidney Int Suppl* 2010; 78 (Suppl119):S22–6
68. Nath KA. Tubulointerstitial changes as a major determinant in the progression of renal damage. *Am J Kidney Dis* 1992; 20:1–17
69. Yung S, Zhang Q, Zhang CZ, Chan KW, Lui SL, Chan TM. Anti-DNA antibody induction of

protein kinase C phosphorylation and fibronectin synthesis in human and murine lupus and the effect of mycophenolic acid. *Arthritis Rheum* 2009; 60:2071–82

70. Nakapoulou I, Stefanaki K, Zeis PM, et al. The glomerular distribution of laminin and fibronectin in glomerulonephritis. *Histol Histopathol* 1993; 8:521–6.

71. Yung S, Zhang Q, Chau MK, Chan TM. Distinct effects of mycophenolate mofetil and cyclophosphamide on renal fibrosis in NZBWF1/J mice. *Autoimmunity* 2015:1–17

72. Qing X, Zavadil J, Crosby MB et al. Nephritogenic anti-DNA antibodies regulate gene expression in MRL/lpr mouse glomerular mesangial cells. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 2198–2210

73. Fisman S, Thiyagarajan D, Seredkina N, et al. Impact of the tumor necrosis factor receptor-associated protein 1 (Trap1) on renal DNase1 shutdown and on progression of murine and human lupus nephritis. *Am J Pathol* 2013; 182: 688–700

74. Border WA, Noble NA. Transforming growth factor beta in tissue fibrosis. *N Engl J Med* 1994; 331:1286–92

75. Liu Y. Renal fibrosis: new insights into the pathogenesis and therapeutics. *Kidney Int* 2006; 69:213–7

76. Illei GG, Tackey E, Lapteva L, et al. Biomarkers in systemic lupus erythematosus. II. Markers of disease activity. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 2048–2065

77. Illei GG, Tackey E, Lapteva L et al, Biomarkers in systemic lupus erythematosus. I. General overview of biomarkers and their applicability. *Arthritis Rheum* 2004; 50:1709–1720

78. Manoharan A, Madaio MP. Biomarkers in lupus nephritis. *Rheum Dis Clin North Am* 2010; 36(1):131-143

79. Misra R, Gupta R. Biomarkers in lupus nephritis. *Int J Rheum Dis* 2015; 18(2): 219- 232

80. Font J, Ramos- Casals M, Cervera R, et al. Cardiovascular risk factors and long-term outcome of lupus nephritis. *QJM* 2001; 94:19-26
81. Faurschou M, Starklint H, Halberg P, Jacobsen S. Prognostic factors in lupus nephritis: diagnostic and therapeutic delay increases the risk of terminal renal failure. *J Rheumatol* 2006; 33:1563-1569
82. Marks SD, Tullus K. Modern therapeutic strategies for paediatric systemic lupus erythematosus and lupus nephritis. *Acta Paediatr* 2010; 99(7):967-74.
83. Mok CC. Biomarkers for lupus nephritis: a critical appraisal. *J Biomed Biotechnol.* 2010; 2010
84. Canetta PA, Bomback AS, Radhakrishnan J. Treating lupus in the kidney: where are we now, and where are we going?. *Discov Med* 2011; 12(65):341-349
85. Cameron JS. Lupus nephritis. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10:413–424.
86. Balow JE. Clinical presentation and monitoring of lupus nephritis. *Lupus* 2005; 14:25–30
87. Gladman DD, Ibanez D, Urowitz MB. Systemic lupus erythematosus disease activity index 2000. *J Rheumatol* 2002; 29:288–291
88. Yee CS, Farewell V, Isenberg DA, et al. British Isles Lupus Assessment Group 2004 index is valid for assessment of disease activity in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2007; 56:4113–4119
89. Siedner MJ, Christopher-Stine L, Astor BC, Gelber AC, Fine DM. Screening for proteinuria in patients with lupus: a survey of practice preferences among American rheumatologists. *J Rheumatol* 2007; 34:973–977
90. Siedner MJ, Gelber AC, Rovin BH, et al. Diagnostic accuracy study of urine dipstick in relation to 24-hour measurement as a screening tool for proteinuria in lupus nephritis. *J Rheumatol* 2008;

35:84–90

91. Christopher-Stine L, Petri M, Astor BC, Fine D. Urine protein-to-creatinine ratio is a reliable measure of proteinuria in lupus nephritis. *J Rheumatol* 2004; 31:1557–1559
92. Ginsberg JM, Chang BS, Matarese RA, Garella S. Use of single voided urine samples to estimate quantitative proteinuria. *New Eng J Med* 1983; 309:1543–1546
93. Rodby RA, Rohde RD, Sharon Z, Pohl MA, Bain RP, Lewis EJ. The urine protein to creatinine ratio as a predictor of 24-hour urine protein excretion in type 1 diabetic patients with nephropathy. The Collaborative Study Group. *Am J Kidney Dis* 1995; 26:904–909
94. Molitch ME, DeFronzo RA, Franz MJ, et al. Nephropathy in diabetes. *Diabetes Care* 2004. January; 27 Suppl 1:S79–S83
95. Eknoyan G, Hostetter T, Bakris GL, et al. Proteinuria and other markers of chronic kidney disease: a position statement of the national kidney foundation (NKF) and the national institute of diabetes and digestive and kidney diseases (NIDDK). *Am J Kidney Dis* 2003; 42(4):617–22
96. American Diabetes Association. Standards of medical care for patients with diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2003; 26 (1):S33–S50
97. Levey AS, Coresh J, Balk E, et al. National Kidney Foundation practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Ann Int Med.* 2003; 139:137–147
98. Bauer JW, Baechler EC, Petri M, et al. Elevated serum levels of interferon-regulated chemokines are biomarkers for active human systemic lupus erythematosus. *PLoS Med* 2006; 3(12): 491
99. Yang CY, Chen FA, Chen CF, et al. Diagnostic Accuracy of Urine Protein/Creatinine Ratio Is Influenced by Urine Concentration. *PLoS One.* 2015; 10(9): e0137460
100. 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(2):421-32

101. Bose B, Silverman ED, Bargman JM. Ten common mistakes in the management of lupus nephritis. *Am J Kidney Dis* 2014; 63(4):667-76

102. Stevens LA, Coresh J, Greene T, Levey AS. Assessing kidney function--measured and estimated glomerular filtration rate. *N Engl J Med* 2006; 354: 2473-2483

103. McMurray JJ, Adamopoulos S, Anker SD, et al. ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur J Heart Fail* 2012; 14: 803-869

104. Ferguson MA, Waikar SS. Established and emerging markers of kidney function. *Clin Chem* 2012; 58: 680-689

105. Damman K, Voors AA, Navis G, van Veldhuisen DJ, Hillege HL. Current and novel renal biomarkers in heart failure. *Heart Fail Rev* 2012; 17: 241-250

106. Yap DY, Lai KN. Pathogenesis of renal disease in systemic lupus erythematosus--the role of autoantibodies and lymphocytes subset abnormalities. *Int J Mol Sci*. 2015 Apr 9; 16(4):7917-31.

107. Hahn BH, Tsao BP. Antibodies to DNA. In: Wallace DJ, Hahn BH, eds. *Dubois' lupus erythematosus*. Los Angeles: Lea & Febger, 1993: 195–201.

108. Esdaile JM, Abrahamowicz M, Joseph L, MacKenzie T, Li Y, Danoff D. Laboratory tests as predictors of disease exacerbations in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1996; 39:370–8.

109. Borg EJ, ter Horst G, Hummel EJ, Limburg PC, Kallenberg CGM. Measurement of increases in anti-double-stranded DNA antibody levels as a predictor of disease exacerbation in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1990;33: 634–43.
110. Bootsma H, Spronk PE, Derksen RHW, et al. Prevention of relapses in systemic lupus erythematosus. *Lancet* 1995; 345:1595–9.
111. 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. The European Working Party on Systemic Lupus Erythematosus. *Medicine (Baltimore)* 1993; 72(2):113-24
112. Aotsuka S, Okawa M, Ikebe K, Yokohari R. Measurement of anti-double-stranded DNA antibodies in major immunoglobulin classes. *J Immunol Methods* 1979; 28:149–62.
113. Hylkema MN, Huygen H, Kramers C, et al. Clinical evaluation of a modified ELISA, using photobiotinylated DNA, for the detection of anti-DNA antibodies. *J Immunol Methods* 1994; 170:93–102.
114. Swaak AJG, Smeenk RJT. Detection of anti-dsDNA as a diagnostic tool: a prospective study in 441 non-systemic lupus erythematosus patients with anti-dsDNA antibody (anti-dsDNA). *Ann Rheum Dis* 1985; 44:245–51
115. Petri M, Genovese M, Engle E, Hochberg M. Definition, incidence, and clinical description of flare in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1991; 34:937–44.
116. Sontheimer RD, Gilliam JN. DNA antibody class, subclass, and complement fixation in systemic lupus erythematosus with and without nephritis. *Clin Immunol Immunopathol* 1978;10:459–67.
117. Miner MF, Stollar BD, Agnello V. Reassessment of the clinical significance of native DNA antibodies in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1979;22:959–68.

118. Swaak AJG, Groenwold J, Bronsveld W. Predictive value of complement profiles and anti-dsDNA in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 1986;45:359–66
119. Ravirajan CT, Rowse L, MacGowan JR, Isenberg DA. An analysis of clinical disease activity and nephritis-associated serum autoantibody profiles in patients with systematic lupus erythematosus: a cross-sectional study. *Rheumatology* 2001; 40(12):1405–1412
120. Linnik MD, Hu JZ, Heilbrunn KR, et al. Relationship between anti-double-stranded DNA antibodies and exacerbation of renal disease in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis & Rheumatism* 2005; 52(4):1129–1137
121. Isenberg DA, Garton M, Reichlin MW, Reichlin M. Long-term follow-up of autoantibody profiles in black female lupus patients and clinical comparison with Caucasian and Asian patients. *Br J Rheumatol* 1997;36:229–33.
122. Okamura M, Kanayama Y, Amastu K et al. Significance of enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for antibodies to double stranded and single stranded DNA in patients with lupus nephritis: correlation with severity of renal histology. *Ann Rheum Dis* 1993;52:14–20.
123. Lloyd W, Schur PH. Immune complexes, complement and anti-dsDNA in exacerbations of systemic lupus erythematosus (SLE). *Medicine* 1981;60:208–17.
124. Moroni G, Quaglini S, Radice A, et al. The value of a panel of autoantibodies for predicting the activity of lupus nephritis at time of renal biopsy. *J Immunol Res* 2015; 2015
125. Font J, Cervera R, Ramos-Casals N et al. Clusters of clinical and immunologic features in systemic lupus erythematosus: analysis of 600 patients from a single center. *Semin Arthritis Rheum* 2004;33:217–30.

126. Cervera R, Khamashta MA, Font J et al. Morbidity and mortality in systemic lupus erythematosus during a 10-year period: a comparison of early and late manifestations in a cohort of 1,000 patients. *Medicine* 2003;82:299–308.
127. 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* 2002;11:152–60.
128. Alba P, Bento L, Cuadrado MJ et al. Anti-dsDNA, anti-Sm antibodies, and the lupus anticoagulant: significant factors associated with lupus nephritis. *Ann Rheum Dis* 2003;62:556–60.
129. 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 1,000 patients. European Working Party on systemic lupus erythematosus. *Medicine* 1999;78:167–75.
130. Cortes-Hernandez J, Ordi-Ros J, Labrador M et al. Antihistone and anti-double stranded deoxyribonucleic acid antibodies are associated with renal disease in systemic lupus erythematosus. *Am J Med* 2004;116:165–73.
131. Forger F, Matthias T, Oppermann M, Becker H, Helmke K. Clinical significance of anti-dsDNA antibody isotypes: IgG/IgM ratio of anti-dsDNA antibodies as a prognostic marker for lupus nephritis. *Lupus* 2004; 12:36–44.
132. Manger K, Manger B, Repp R et al. Definition of risk factors for death, end stage renal disease and thromboembolic events in a monocentric cohort of 338 patients with systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2002; 61:1065–70.
133. Esdaile JM, Abrahamovicz M, MacKenzie T, Hayslett JP, Kashgarian M. The time-dependence of long-term prediction in lupus nephritis. *Arthritis Rheum* 1994; 37:359–68.
134. MacGowan JR, Ellis S, Griffiths M, Isenberg DA. Retrospective analysis of outcome in a cohort

- of patients with lupus nephritis treated between 1977 and 1999. *Rheumatology* 2002; 41:981–7.
135. Walport MJ. Complement and systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res* 2002; 4(Suppl. 3):S279–93
136. Fremeaux-Bacchi V, Weiss L, Demouchy C, Blouin J, Kazatchkin MD.. Autoantibodies to the collagen-like region of C1q are strongly associated with classical pathway-mediated hypocomplementemia in systemic lupus erythematosus. *Lupus* 1996; 5: 216–220.
137. Trendelenburg M, Courvoisier S, Spath PJ, et al. Hypocomplementemic urticarial vasculitis or systemic lupus erythematosus? *Am. J. Kidney Dis* 1999; 34: 745–751.
138. Trendelenburg M, Lopez-Trascasa M, Potlukova E, et al. High prevalence of anti-C1q antibodies in biopsy-proven active lupus nephritis. *Nephrol Dialysis Transplant* 2006; 21: 3115–3121.
139. Trendelenburg M, Marfurt J, Gerber I, Tyndall A, Schifferli J. Lack of occurrence of severe lupus nephritis among anti-C1q autoantibody-negative patients. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 187–188
140. Marto N, Bertolaccini ML, Calabuig E, Hughes GRV, Khamashta MA. Anti-C1q antibodies in nephritis: correlation between titers and renal disease activity and positive predictive value in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2005; 64:444–8.
141. Horva'th L, Czirja'k L, Fekete B, Jakab L, Pozsonyi T, Kalabay L, 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* 2001; 19:667–72.
142. Trendelenburg M. Antibodies against C1q in patients with systemic lupus erythematosus. *Springer Semin Immunopathol* 2005; 27, 276–285.
143. Sinico RA, Rimoldi L, Radice A, Bianchi L, Gallelli B, Moroni G. Anti-C1q autoantibodies in

lupus nephritis. *Ann N Y Acad Sci* 2009; 1173, 47–51.

144. Siegert C, Daha M, Westedt ML, van der Voort E, Breedveld F. IgG autoantibodies against C1q are correlated with nephritis, hypocomplementemia, and dsDNA antibodies in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 1991; 18:230–4.

145. Bock M, Heijnen I, Trendelenburg M. Anti-C1q Antibodies as a Follow-Up Marker in SLE Patients. *PLoS One* 2015; 10(4): e0123572.

146. Siegert CE, Daha MR, Tseng CM, Coremans IE, van Es LA, Breedveld FC. Predictive value of IgG autoantibodies against C1q for nephritis in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 1993; 52:851–6. PMID: 8311534

147. Coremans IE, Spronk PE, Bootsma H, Daha MR, van der Voort EA, Kater L, et al. Changes in antibodies to C1q predict renal relapses in systemic lupus erythematosus. *Am J Kidney Dis* 1995; 26:595–601.

148. Saisoong S, Eiam-Ong S, Hanvivatvong O. Correlations between antinucleosome antibodies and anti-double-stranded DNA antibodies, C3, C4, and clinical activity in lupus patients. *Clin Exp Rheumatol* 2006; 24(1):51-8.

149. Birmingham DJ, Irshaid F, Nagaraja HN, et al. The complex nature of serum C3 and C4 as biomarkers of lupus renal flare. *Lupus*. 2010; 19(11): 1272–1280.

150. Gordon C, Jayne D, Pusey C, et al. European consensus statement on the terminology used in the management of lupus glomerulonephritis. *Lupus* 2009; 18(3):257-263

151. Weening JJ, D'Agati VD, Schwartz MM, et al. The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15(2):241-250

152. Gladman D, Ginzler E, Goldsmith C et al. The development and initial validation of the systemic

- lupus international collaborating clinics/American College of Rheumatology damage index for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1996; 39: 363–369
153. Lech M, Anders HJ. The pathogenesis of lupus nephritis. *J Am Soc Nephrol*. 2013; 24: 1357–66
154. Ortiz A, Sanz AB, Muñoz García B et al. Considering TWEAK as a target for therapy in renal and vascular injury. *Cytokine Growth Factor Rev* 2009; 20: 251–258
155. Kaplan MJ, Lewis EE, Shelden EA et al. The apoptotic ligands TRAIL, TWEAK, and Fas ligand mediate monocyte death induced by autologous lupus T cells. *J Immunol* 2002; 169: 6020–6029
156. Molano A, Lakhani P, Aran A, Burkly LC, Michaelson JS, Putterman C. TWEAK stimulation of kidney resident cells in the pathogenesis of graft versus host induced lupus nephritis. *Immunol Lett* 2009; 125: 119–128
157. Zhao Z, Burkly LC, Campbell S et al. TWEAK/Fn14 interactions are instrumental in the pathogenesis of nephritis in the chronic graft-versus-host model of systemic lupus erythematosus. *J Immunol* 2007; 179: 7949–7958
158. Schwartz N, Michaelson JS, Putterman C. Lipocalin-2, TWEAK, and other cytokines as urinary biomarkers for lupus nephritis. *Ann N Y Acad Sci* 2007; 1109: 265–274
159. Schwartz N, Su L, Burkly LC et al. Urinary TWEAK and the activity of lupus nephritis. *J Autoimmun* 2006; 27: 242–250
160. Schwartz N, Rubinstein T, Burkly LC et al. Urinary TWEAK as a biomarker of lupus nephritis: a multicenter cohort study. *Arthritis Res Ther* 2009; 11(5):143
161. Kim MJ, Tam FW. Urinary monocyte chemoattractant protein-1 in renal disease. *Clin Chim Acta* 2011; 412 (23-24):2022-2030

162. Hasegawa H, Kohno M, Sasaki M et al. Antagonist of monocyte chemoattractant protein ameliorates the initiation and progression of lupus nephritis and renal vasculitis in MRL/lpr mice. *Arthritis Rheum* 2003; 48, 2555–2566
163. Chan RW, Lai FM, Li EK et al. The effect of immunosuppressive therapy on the messenger RNA expression of target genes in the urinary sediment of patients with active lupus nephritis. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21: 1534–1540.
164. Rovin BH, Song H, Birmingham DJ et al. Urine chemokines as biomarkers of human systemic lupus erythematosus activity. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 467–473.
165. Zhang X, Jin M, Wu H et al. Biomarkers of lupus nephritis determined by serial urine proteomics. *Kidney Int* 2008; 74: 799–807.
166. Wada T, Yokoyama H, Su SB, et al. Monitoring urinary levels of monocyte chemotactic and activating factor reflects disease activity of lupus nephritis. *Kidney Int* 1996; 49(3):761–7.
167. Noris M, Bernasconi S, Casiraghi F, et al. Monocyte chemoattractant protein-1 is excreted in excessive amounts in the urine of patients with lupus nephritis. *Lab Invest* 1995; 73(6):804–809
168. Tian S, Li J, Wang L et al. Urinary levels of RANTES and M-CSF are predictors of lupus nephritis flare. *Inflamm Res* 2007; 56: 304–310
169. Skeoch S, Haque S, Pemberton P, Bruce I. Cell adhesion molecules as potential biomarkers of nephritis, damage and accelerated atherosclerosis in patients with SLE. *Lupus* 2014; 23; 819–824
170. Abujam B, Cheekatla S, Aggarwal A. Urinary CXCL-10/IP-10 and MCP-1 as markers to assess activity of lupus nephritis. *Lupus* 2013; 22: 614–623
171. Avihingsanon Y, Phumesin P, Benjachat T et al. Measurement of urinary chemokine and

growth factor messenger RNAs: a noninvasive monitoring in lupus nephritis. *Kidney Int* 2006; 69: 747–753

172. Enghard P, Humrich JY, Rudolph B et al. CXCR3 + CD4 + T cells are enriched in inflamed kidneys and urine and provide a new biomarker for acute nephritis flares in systemic lupus erythematosus patients. *Arthritis Rheum* 2009; 60:199–206

173. Enghard P, Rieder C, Kopetschke K et al. Urinary CD4 T cells identify SLE patients with proliferative lupus nephritis and can be used to monitor treatment response. *Ann Rheum Dis* 2014; 73: 277–283

174. Kiani AN, Wu T, Fang H et al. Urinary vascular cell adhesion molecule, but not neutrophil gelatinase associated lipocalin, is associated with lupus nephritis. *J Rheumatol* 2012; 39: 1231–1237

175. Singh S, Wu T, Xie C et al. Urine VCAM-1 as a marker of renal pathology activity index in lupus nephritis. *Arthritis Res Ther* 2012; 14:164

176. Abd-Elkareem MI, Al Tamimy HM, Khamis OA et al. Increased urinary levels of the leukocyte adhesion molecules ICAM-1 and VCAM-1 in human lupus nephritis with advanced renal histological changes: preliminary findings. *Clin Exp Nephrol* 2010; 14: 548–557

177. Bennett M, Dent CL, Ma Q et al. Urine NGAL predicts severity of acute kidney injury after cardiac surgery: a prospective study. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008; 3: 665–673

178. Haase M, Bellomo R, Devarajan P et al. Novel biomarkers early predict the severity of acute kidney injury after cardiac surgery in adults. *Ann Thorac Surg* 2009; 88: 124–130

179. Brunner HI, Mueller M, Rutherford C et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker of nephritis in childhood-onset systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 2577–2584

180. Hinze CH, Suzuki M, Klein-Gitelman M et al. Neutrophil gelatinase associated lipocalin is a predictor of the course of global and renal childhood-onset systemic lupus erythematosus disease activity. *Arthritis Rheum* 2009; 60: 2772–2781
181. Suzuki M, Wiers KM, Klein-Gitelman MS et al. Neutrophil gelatinase associated lipocalin as a biomarker of disease activity in pediatric lupus nephritis. *Pediatr Nephrol* 2008; 23: 403–412
182. Rubinstein T, Pitashny M, Levine B et al. Urinary neutrophil gelatinase associated lipocalin as a novel biomarker for disease activity in lupus nephritis. *Rheumatology (Oxford)* 2010; 49: 960–971
183. Pitashny M, Schwartz N, Qing X et al. Urinary lipocalin-2 is associated with renal disease activity in human lupus nephritis. *Arthritis Rheum* 2007; 56: 1894–1903
184. Hammad A, Mossad Y, Elhanbly S, et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a marker of severe lupus nephritis in children. *Lupus* 2013; 22: 486–491
185. Bolignano D, Lacquanti A, Coppolino G et al. Neutrophil gelatinase associated lipocalin reflects the severity of renal impairment in subjects affected by chronic kidney disease. *Kidney Blood Press Res* 2008; 31: 255–258
186. Bolignano D, Donato V, Coppolino G et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a marker of kidney damage. *Am J Kidney Dis* 2008; 52: 595–605
187. Bolignano D, Lacquanti A, Coppolino G et al. Neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL) and progression of chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4: 337–344
188. Brunner HI, Bennett MR, Mina R et al. Non-invasive renal protein biomarkers are associated with histological features of lupus nephritis. *Arthritis Rheum* 2012; 64: 2687–2697
189. Yang CC, Hsieh SC, Li KJ et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin is a potential biomarker for renal damage in patients with systemic lupus erythematosus. *J Biomed Biotechnol*

2012; 2012

190. Yang J, Goetz D, Li JY et al. An iron delivery pathway mediated by lipocalin. *Mol Cell* 2002; 10: 1045–1056
191. Mishra J, Mori K, Ma Q et al. Amelioration of ischemic acute renal injury by neutrophil gelatinase-associated lipocalin. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 3073–3082
192. Litinskiy MB, Nardelli B, Hilbert DM, et al. DCs induce CD40-independent immunoglobulin class switching through BLYS and APRIL. *Nat Immunol* 2002; 3:822-829
193. Mackay F, Woodcock SA, Lawton P, et al. Mice transgenic for BAFF develop lymphocytic disorders along with autoimmune manifestations. *J Exp Med* 1999; 190:1697-1710
194. Moore PA, Belvedere O, Orr A, et al. BLYS: member of the tumor necrosis factor family and B lymphocyte stimulator. *Science* 1999; 285:260-263
195. Stein JV, Lopez-Fraga M, Elustondo FA, et al. APRIL modulates B and T cell immunity. *J Clin Invest* 2002; 109:1587–1598
196. Zhao LD, Li Y, Smith MF Jr, et al. Expressions of BAFF/BAFF receptors and their correlation with disease activity in Chinese SLE patients. *Lupus* 2010; 19:1534–1549
197. Hegazy M, Darwish H, Darweesh H, et al. Raised serum level of APRIL in patients with systemic lupus erythematosus: correlations with disease activity indices. *Clin Immunol* 2010; 135:118–124
198. Koyama T, Tsukamoto H, Miyagi Y, et al. Raised serum APRIL levels in patients with systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2005; 64:1065–1067
199. Vallerskog T, Heimburger M, Gunnarsson I, et al. Differential effects on BAFF and APRIL levels in rituximab-treated patients with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Arthritis*

Res Ther 2006; 8:167

200. Parodis I, Zickert A, Sundelin B, et al. Evaluation of B lymphocyte stimulator and a proliferation inducing ligand as candidate biomarkers in lupus nephritis based on clinical and histopathological outcome following induction therapy. *Lupus Science & Medicine* 2015; 2: 61

201. Schramek H, Sarközi R, Lauterberg C, Kronbichler A, Pirklbauer M, Albrecht R, et al. Neuropilin-1 and neuropilin-2 are differentially expressed in human proteinuric nephropathies and cytokine-stimulated proximal tubular cells. *Laboratory Investigation* 2009; 89: 1304–1316

202. Gagnon ML, Bielenberg DR, Grechtman Z, et al. Identification of a natural soluble neuropilin-1 that binds vascular endothelial growth factor: in vivo expression and antitumor activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97:2573–2578

203. Vadasz Z et al. The involvement of immune semaphorins and neuropilin-1 in lupus nephritis. *Lupus* 2011; 20:1466-1473

204. Harley JB, Alarcon-Riquelme ME, Criswell LA et al. Genome-wide association scan in women with systemic lupus erythematosus identifies susceptibility variants in ITGAM, PTK, KIAA1542 and other loci. *Nat Genet* 2008; 40: 204–210

205. Rhodes B, Vyse T. The genetics of SLE: an update in the light of genome-wide association studies. *Rheumatology (Oxford)* 2008; 47: 1603–1611

206. Li Y, Fang X, Li QZ. Biomarker profiling for lupus nephritis. *Genom Proteom Bioinformat* 2013; 11: 158–165

207. Schaub S, Wilkins J, Weiler T, Sangster K, Rush D, Nickerson P. Urine protein profiling with surfaceenhanced laser-desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Kidney Int* 2004; 65: 323–332

208. Reyes-Thomas J, Blanco I, Putterman C. Urinary biomarkers in lupus nephritis. *Clin Rev Allergy Immunol* 2011; 40: 138–50
209. Wu T, Fu Y, Brekken D et al. Urine proteome scans uncover total urinary protease, prostaglandin D synthase, serum amyloid P, and superoxide dismutase as potential markers of lupus nephritis. *J Immunol* 2010; 184: 2183–2193
210. Mosley K, Tam FW, Edwards RJ, Crozier J, Pusey CD, Lightstone L. Urinary proteomic profiles distinguish between active and inactive lupus nephritis. *Rheumatology (Oxford)* 2006; 45: 1497–1504
211. Varghese SA, Powell TB, Budisavljevic MN et al. Urine biomarkers predict the cause of glomerular disease. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18: 913–922
212. Suzuki M, Ross GF, Wiers K et al. Identification of a urinary proteomic signature for lupus nephritis in children. *Pediatr Nephrol* 2007; 22: 2047–2057
213. Suzuki M, Wiers K, Brooks EB et al. Initial validation of a novel protein biomarker panel for active pediatric lupus nephritis. *Pediatr Res* 2009; 65: 530–536
214. Wallace DJ, Podell TE, Viener JM, Cox MB, Klinenberg JR, Forouzesh S. Lupus nephritis: experience with 230 patients in a private practice from 1950 to 1980. *Am J Med* 1982; 72: 209–220
215. Adler M, Chambers S, Edwards C, Neild G, Isenberg D. An assessment of renal failure in an SLE cohort with special reference to ethnicity, over a 25-year period. *Rheumatology (Oxford)* 2006; 45:1144-1147
216. Zuniga R, Markowitz GS, Arkachaisri T, Imperatore EA, D'Agati VD, Salmon JE. Identification of IgG subclasses and C-reactive protein in lupus nephritis: the relationship between the composition of immune deposits and FC receptor type IIA alleles. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 460–

217. Karassa FB, Trikalinos TA, Ioannidis JP. The Fc gamma RIIIA-F158 allele is a risk factor for the development of lupus nephritis: a meta-analysis. *Kidney Int* 2003; 63:1475-1482
218. Moroni G, Ventura D, Riva P, Panzeri P, Quaglini S, Banfi G. Antiphospholipid antibodies are associated with an increased risk for chronic renal insufficiency in patients with lupus nephritis. *Am J Kidney Dis* 2004; 43: 28-36
219. Dolf S, Berden JH, Bijl M. Treatment of lupus nephritis. *Expert Rev Clin Immunol* 2010; 6(6):901–911
220. Alshayeb H, Wall BM, Gosmanova EO. Treatment of proliferative and membranous lupus nephritis: review of key clinical trials. *Am J Med Sci* 2012; 343(1):86–90.
221. Zubair A, Frieri M. Lupus Nephritis: Review of the Literature. *Curr Allergy Asthma Rep* 2013; 13: 580–586
222. Fiehn C. Early diagnosis and treatment in lupus nephritis: how we can influence the risk for terminal renal failure. *J Rheumatol* 2006; 33: 1464–1466
223. Zappitelli M, Duffy CM, Bernard C et al. Evaluation of activity, chronicity and tubulointerstitial indices for childhood nephritis. *Pediatr Nephrol* 2008; 23: 83–91
224. Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 1725
225. Austin HA, Muenz LR, Joyce KM et al. Prognostic factors in lupus nephritis. Contribution of renal histologic data. *Am J Med* 1983; 75:382–391
226. Betsias GK, Tektonidou M, Amoura Z et al. Joint European League Against Rheumatism and European Renal association-European Dialysis and Transplant Association (EULAR/ERA-EDTA)

- recommendations for the management of adult and paediatric lupus nephritis. *Ann Rheum Dis* 2012; 71: 1771–1782
227. Cockcroft DW, Gult MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* 1976; 16: 31–41
228. Giannico G, Fogo AB. Lupus nephritis: is the kidney biopsy currently necessary in the management of lupus nephritis?. *Clin J Am Soc Nephrol* 2013; 8(1):138-45.
229. Monroy Trujillo JM, Fine DM. Lupus Nephritis in the Era of Biomarkers. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2016; 7: 11(1):4-5.
230. Chen TK, Estrella MM, Fine DM. Predictors of kidney biopsy complication among patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2012; 21(8):848-54
231. Rovin BH, Parikh S, Alvarado A. The Kidney Biopsy in Lupus Nephritis: Is it Still Relevant?. *Rheum Dis Clin North Am*. 2014; 40(3): 537-ix.
232. Liu CC, Manzi S, Ahearn JM. Biomarkers for systemic lupus erythematosus: a review and perspective. *Curr Opin Rheumatol* 2005;17(5):543-9.
233. Corwin HL, Schwartz MM, Lewis EJ. The importance of sample size in the interpretation of the renal biopsy. *Am J Nephrol*. 1988; 8(2):85-89.
234. Seron D, Moreso F, Fulladosa X, et al. Reliability of chronic allograft nephropathy diagnosis in sequential protocol biopsies. *Kidney international* 2002; 61(2):727-733.
235. Alharazy SM, Kong NC, Mohd M, Shah SA, Abdul Gafor AH, Ba'in A. The role of urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin in lupus nephritis. *Clin Chim Acta* 2013; 21 (425):163-8.
236. Susianti H, Iriane VM, Dharmanata S, Handono K, Widijanti A, Gunawan A, Kalim H. Analysis of urinary TGF- β 1, MCP-1, NGAL, and IL-17 as biomarkers for lupus nephritis. *Pathophysiology*

2015; 22(1):65-71.

237. Rubinstein T, Pitashny M, Putterman C. The novel role of neutrophil gelatinase-B associated lipocalin (NGAL)/Lipocalin-2 as a biomarker for lupus nephritis. *Autoimmunity Reviews* 2008; 7: 229–234.

238. Youssef EMI, Ali HAA, El-Khouly N. Study of Urinary Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin-2 (uNGAL) as a Marker in Renal Disease Activity with Systemic Lupus Erythematosus (Lupus Nephritis). *American Journal of Medicine and Medical Sciences* 2015; 5(4): 158-163.

239. Susianti H, Wijaya JW, Rastini A, Handono K, Gunawan A, Kalim H. Urinary Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin to Monitor Lupus Nephritis Disease Activity. *Biomarker Insights* 2015; 10: 81-7.

240. Xuejing Z, Jiazhen T, Jun L et al. Urinary TWEAK level as a marker of lupus nephritis activity in 46 cases. *J Biomed Biotechnol* 2012; 2012: 359647

241. El-Shehaby A, Darweesh H, El-KhatibM et al. Correlations of urinary biomarkers, TNF-like weak inducer of apoptosis (TWEAK), osteoprotegerin (OPG), monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), and IL-8 with lupus nephritis. *J Clin Immunol* 2011; 31: 848–856

242. Singh RG, Usha, Rathore SS, Behura SK, Singh NK. Urinary MCP-1 as diagnostic and prognostic marker in patients with lupus nephritis flare. *Lupus* 2012; 21: 1214–1218

243. Ghobrial EE, El Hamshary AA, Mohamed AG, Abd El Raheim YA, Talaat AA. Urinary Monocyte Chemoattractant Protein-1 as a Biomarker of Lupus Nephritis Activity in Children. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2015; 26(3):507-515

244. Torabinejad S, Mardani R, Habibagahi Z et al. Urinary monocyte chemotactic protein-1 and transforming growth factor- β in systemic lupus erythematosus. *Indian J Nephrol* 2012; 22(1): 5–12.

245. Kiani AN, Johnson K, Chen C, et al. Urine osteoprotegerin and monocyte chemoattractant protein-1 in lupus nephritis. *J Rheumatol* 2009; 36(10):2224-30.
246. Alharazy S, Kong NC, Mohd M, et al. Urine Monocyte Chemoattractant Protein-1 and Lupus Nephritis Disease Activity: Preliminary Report of a Prospective Longitudinal Study. *Autoimmune Dis* 2015;2015:962046.
247. Kolodkin AL, Levenson DV, Rowe EG, et al. Neuropilin is a semaphorin III receptor. *Cell* 1997; 90: 753–762.
248. Staton CA, Kumar I, Reed MW, et al. Neuropilins in physiological and pathological angiogenesis. *J Pathol* 2007; 212: 237–248.
249. Klagsbrun M, Takashima S, Mamluk R. The role of neuropilin in vascular and tumor biology. *Adv Exp Med Biol* 2002; 515: 33–48.
250. Vadasz Z, Ben-Izhak O, Bejar J, Sabo E, Kessel A, Storch S, Toubi E. The involvement of immune semaphorins and neuropilin-1 in lupus nephritis. *Lupus* 2011; 20(14):1466-73.
251. Wang C, Chen LL, Pan HF et al. Expression of human tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis in patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol* 2012; 31: 335–339.
252. Xiao-wei Y, Ying T, Feng Y, Ming-hui Z. Combination of anti-C1q and anti-dsDNA antibodies is associated with higher renal disease activity and predicts renal prognosis of patients with lupus nephritis. *Nephrol Dial Transplant* 2012; 27: 3552–3559
253. Torres-Salido MT, Cortés-Hernández J, Vidal X, Pedrosa A, Vilardell-Tarrés M, Ordi-Ros J. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker for lupus nephritis. *Nephrol Dial Transplant* 2014; 29 (9):1740-9.

254. Bondeva T, Wolf G. Role of Neuropilin-1 in Diabetic Nephropathy. *J Clin Med* 2015; 4:1293-1311
255. Takagi S, Kasuya Y, Shimizu M et al. Expression of a cell adhesion molecule, neuropilin, in the developing chick nervous system. *Dev Biol* 1995;170: 207–222.
256. Chen H, Chedotal A, He Z, Goodman CS, Tessier-Lavigne M. Neuropilin-2, a novel member of the neuropilin family, is a high affinity receptor for the semaphorins sema e and sema iv but not sema iii. *Neuron* 1997;19: 547–559.
257. Robert B, Zhao X, Abrahamson DR. Coexpression of neuropilin-1, flk1, and vegf(164) in developing and mature mouse kidney glomeruli. *Am J Physiol Ren Physiol* 2000; 279: 275–282.
258. Harper SJ, Xing CY, Whittle C et al. Expression of neuropilin-1 by human glomerular epithelial cells in vitro and in vivo. *Clin Sci (Lond)* 2001;101: 439–446.
259. Bondeva T, Ruster C, Franke S et al. Advanced glycation end-products suppress neuropilin-1 expression in podocytes. *Kidney Int* 2009; 75: 605–616.
260. Villegas G, Tufro A. Ontogeny of semaphorins 3a and 3f and their receptors neuropilins 1 and 2 in the kidney. *Mech Dev* 2002; 119 (Suppl. S1): 149–153.
261. Soker S, Takashima S, Miao HQ, Neufeld G, Klagsbrun M. Neuropilin-1 is expressed by endothelial and tumor cells as an isoform-specific receptor for vascular endothelial growth factor. *Cell* 1998; 92: 735–745.
262. Glinka Y, Stoilova S, Mohammed N, Prud'homme GJ. Neuropilin-1 exerts co-receptor function for tgf-beta-1 on the membrane of cancer cells and enhances responses to both latent and active tgf-beta. *Carcinogenesis* 2011; 32: 613–621.
263. Parker MW, Xu P, Guo HF, Vander Kooi CW. Mechanism of selective vegf-a binding by

- neuropilin-1 reveals a basis for specific ligand inhibition. *PLoS ONE* 2012; 7: e49177.
264. Lampropoulou A, Ruhrberg C. Neuropilin regulation of angiogenesis. *Biochem Soc Trans.* 2014; 42: 1623–1628.
265. Lanahan A, Zhang X, Fantin A, et al. The neuropilin 1 cytoplasmic domain is required for vegf-a-dependent arteriogenesis. *Dev Cell* 2013; 25: 156–168.
266. Rahimi N. Vascular endothelial growth factor receptors: Molecular mechanisms of activation and therapeutic potentials. *Exp Eye Res* 2006; 83: 1005–1016.
267. Teesalu T, Sugahara KN, Kotamraju VR, Ruoslahti E. C-end rule peptides mediate neuropilin-1-dependent cell, vascular, and tissue penetration. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106: 16157–16162.
268. Matthies AM¹, Low QE, Lingen MW, DiPietro LA. Neuropilin-1 participates in wound angiogenesis. *Am J Pathol.* 2002 Jan;160(1):289-96.
269. Loeffler I, Ruster C, Franke S, Liebisch M, Wolf G. Erythropoietin ameliorates podocyte injury in advanced diabetic nephropathy in the db/db mouse. *Am J Physiol Ren Physiol* 2013; 305: 911– 918.
270. Valdembri D, Caswell PT, Anderson KI et al. Neuropilin-1/gipc1 signaling regulates alpha5beta1 integrin traffic and function in endothelial cells. *PLoS Biol* 2009; 7:e25.
271. Yang J, Mori K, Li JY et al. Iron, lipocalin, and kidney epithelia. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003; 285: 9–18.
272. Vinuesa E, Sola A, Jung M et al. Lipocalin-2-induced renal regeneration depends on cytokines.

Am J Physiol Renal Physiol 2008; 295:1554–1562.

273. Schmidt-Ott KM, Mori K, Li JY, et al. Dual Action of Neutrophil Gelatinase–Associated Lipocalin. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2006 Jul;15(4):442-9.

274. Schmidt-Ott KM, Mori K, Kalandadze A, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin-mediated iron traffic in kidney epithelia. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2006 Jul;15(4):442-9.

275. Kent DM, Jafar TH, Hayward RA et al. Progression risk, urinary protein excretion, and treatment effects of angiotensin-converting enzyme inhibitors in non-diabetic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18:1959–1965

276. Yung S, Ng CY, Ho SK, et al. Anti-dsDNA antibody induces soluble fibronectin secretion by proximal renal tubular epithelial cells and downstream increase of TGF- β 1 and collagen synthesis. *J Autoimmun* 2015; 58:111-22.

277. Yamamoto K, Loskutoff DJ. Expression of transforming growth factor- β and tumor necrosis factor- β in the plasma and tissues of mice with lupus nephritis, *Lab Invest*. 2000; 80 (10): 1561–1570.

278. Glinka Y, Prud'homme GJ. Neuropilin-1 is a receptor for transforming growth factor beta-1, activates its latent form, and promotes regulatory t cell activity. *J Leukoc Biol* 2008, 84: 302–310.

279. Pellet-Many C, Frankel P, Evans IM, Herzog BM, Junemann-Ramirez M, Zachary IC. Neuropilin-1 mediates pdgf stimulation of vascular smooth muscle cell migration and signaling via p130cas. *Biochem J* 2011; 435: 609–618.

280. Lee HS. Paracrine role for TGF- β -induced CTGF and VEGF in mesangial matrix expansion in progressive glomerular disease. *Histol Histopathol* 2012; 27(9):1131-41.

NOMBRE:

Fecha: __/__/__

ÍNDICE DE ACTIVIDAD DEL LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO (SLEDAI-2Ks) Systemic lupus erythematosus disease activity index 2000			
Puntuación	SLEDAI	Descriptor	Definición
8		Convulsiones	De comienzo reciente. Excluir causas infecciosas, metabólicas y fármacos.
8		Psicosis	Habilidad alterada para la función diaria debido a alteración grave en la percepción de la realidad. Incluye alucinaciones, incoherencia, asociaciones ilógicas, contenido mental escaso, pensamiento ilógico, raro, desorganizado y comportamiento catatónico. Excluir I. renal y fármacos
8		Sdme. orgánico-cerebral	Función mental alterada con falta de orientación, memoria, u otras funciones intelectuales, de comienzo rápido y manifestaciones clínicas fluctuantes. Incluye disminución del nivel de conciencia con capacidad reducida para focalizar, e inhabilidad para mantener la atención en el medio, más, al menos dos de los siguientes: alteración de la percepción, lenguaje incoherente, insomnio o mareo matutino, o actividad psicomotora aumentada o disminuida. Excluir causas infecciosas, metabólicas y fármacos.
8		Alteraciones visuales	Retinopatía lúpica. Incluye cuerpos citoides, hemorragias retinianas, exudados serosos y hemorragias en la coroides, o neuritis óptica. Excluir HTA, infección o fármacos.
8		Alt. Pares craneales	De reciente comienzo, motor o sensitivo.
8		Cefalea lúpica	Grave, persistente; puede ser migrañosa pero no responde analgésicos narcóticos.
8		AVC	De reciente comienzo. Excluir arteriosclerosis.
8		Vasculitis	Ulceración, gangrena, nódulos dolorosos sensibles, infartos periungueales,

			hemorragias en astilla o biopsia o angiografía que confirme la vasculitis.
4		Miositis	Debilidad proximal/dolor asociado a elevación de las CPK/aldolasa o EMG sugestivo o miositis comprobada por biopsia.
4		Artritis	Más de dos articulaciones dolorosas y con signos inflamatorios.
4		Cilindros urinarios	Cilindros hemáticos o granulosos.
4		Hematuria	>5 hematíes/c. Excluir litiasis, infección u otras causas.
4		Proteinuria	> 5 g/24 h. De reciente comienzo o aumento de la proteinuria ya conocida en más de 0.5 g/24 h.
4		Piuria	> 5 leucocitos/c. Excluir infección.
2		Exantema nuevo	Comienzo reciente o recurrente. Exantema inflamatorio.
2		Alopecia	De comienzo reciente o recurrente. Pérdida difusa o en placas.
2		Úlceras bucales	De comienzo reciente o recurrente. Úlceras bucales o nasales.
2		Pleuritis	Dolor pleurítico con roce o derrame, o engrosamiento pleural.
2		Pericarditis	Dolor pericárdico con al menos uno de los siguientes: roce, derrame, cambios electrocardiográficos o confirmación ecocardiográfica.
2		Complemento	Descenso de C3, C4, CH50, por debajo del límite inferior del laboratorio.
2		Ac. anti DNA	> 25%. Técnica de Farr o por encima del valor habitual del laboratorio.
1		Fiebre	> 38°C. Excluir infección.
1		Trombopenia	< 100.000 plaquetas/mm ³ .
1		Leucopenia	< 3.000 células/mm ³ . Excluir fármacos
PUNTUACION TOTAL		Nota: puntúa en la escala SLEDAI si el descriptor está presente en el día de la visita o 10 días antes.	

NOMBRE: _____

Fecha: ___/___/___

Índice de daño acumulado en LES (SLICC/ACR DI) Systemic Lupus International Collaborating Clinics/ American College of Rheumatology Damage Index		
Órgano afectado	Valor	Definición
Ocular	1	Cataratas, cambios en la retina o atrofia óptica.
Neuropsiquiátrico	1	Déficit cognitivo (déficit de memoria, dificultad para el cálculo, concentración disminuida, dificultad para hablar o escribir) o psicosis mayor.
	1	Convulsiones necesitando tratamiento al menos 6 meses.
	1(2)	Accidente cerebrovascular (puntuación de 2 si más de 1 episodio).
	1	Neuropatía craneal o periférica (excluyendo óptica).
	1	Mielitis transversa.
Renal	1	Filtrado glomerular estimado o medido < 50%.
	1	Proteinuria ≥ 3,5 g/24h.
	3	Enfermedad renal terminal.
Pulmonar	1	Hipertensión pulmonar.
	1	Fibrosis pulmonar (examen físico o radiológico).
	1	Pérdida de volumen pulmonar (radiológico).
	1	Fibrosis pleural (radiológico).
	1	Infarto pulmonar (radiológico).
Cardiovascular	1	Angina o bypass coronario.
	1(2)	Infarto de miocardio (puntuación de 2 si más de 1 episodio).
	1	Miocardiopatía con disfunción ventricular.
	1	Valvulopatías (soplo diastólico o sistólico >3/6).
	1	Pericarditis con tratamiento > 6 meses o pericardiectomía.
Vascular periférico	1	Claudicación > 6 meses.
	1	Pérdida de tejido menor (ulceración de pulpa de los dedos) por mala circulación periférica.
	1(2)	Pérdida de tejido significativa (pérdida de dedos) por mala circulación periférica.
	1	Trombosis venosa con ulceración, inflamación o estasis venoso.

Gastrointestinal	1	Infarto o resección de parte del intestino, bazo, hígado o vesícula por cualquier causa.
	1	Angina mesentérica.
	1	Peritonitis crónica.
	1	Estenosis esofágica o cirugía del tracto gastrointestinal superior.
Musculoesquelético	1	Debilidad o atrofia muscular.
	1	Artritis erosiva o deformante.
	1	Osteoporosis con fractura o colapso vertebral.
	1(2)	Necrosis avascular (puntuación de 2 si más de 1 articulación).
Piel	1	Osteomielitis.
	1	Alopecia cicatricial.
	1	Cicatrices extensas o paniculitis distintas al cuero cabelludo o pulpejos
Fallo gonadal prematuro	1	Ulceración de la piel (excluyendo trombosis) por más de 6 meses.
	1	
Diabetes	1	O necesidad de tratamiento.
Cáncer	1(2)	Excluyendo displasia (puntuación de 2 si más de 1).
PUNTUACION TOTAL		

NOMBRE:

Fecha: __/__/__

Criterios diagnósticos de la ACR para la clasificación de LES	
1. Eritema malar	Eritema fijo, plano o elevado, sobre las eminencias malares, tendiendo a expandirse a los pliegues nasogenianos
2. Eritema discoide	Placas elevadas eritematosas con descamación queratósica adherente y taponamiento folicular. Pueden quedar cicatrices atróficas en lesiones antiguas.
3. Fotosensibilidad	Eritema en la piel como resultado de una reacción inusual a la luz solar.
4. Úlceras orales	Ulceración oral o nasofaríngea, normalmente sin dolor, observada por un especialista.
5. Artritis	Artritis no erosiva afectando a 2 o más articulaciones periféricas, caracterizadas por dolor, tumefacción o derrame.
6. Serositis	a) Pleuritis: historia convincente de dolor pleurítico o roce oído por un especialista; o evidencia de derrame pleural. b) Pericarditis: documentada por electrocardiograma, roce o evidencia de derrame pericárdico.
7. Alteración renal	a) Proteinuria persistente >0,5gr/día o >3+ si no se cuantifica. b) Cilindros celulares, granulares, tubulares o mixtos.
8. Alteración neurológica	a) Convulsiones. b) Psicosis. Ambos en ausencia de drogas o alteraciones metabólicas conocidas como uremia, cetoacidosis o alteraciones de electrolitos.

9. Alteración hematológica	<ul style="list-style-type: none"> a) Anemia hemolítica con reticulocitosis. b) Leucopenia <4.000/mL en 2 ó más ocasiones. c) Linfopenia <1.500/mL en 2 ó más ocasiones. d) Trombopenia <100.000/mL en ausencia de drogas.
10. Alteración inmunológica	<ul style="list-style-type: none"> a) Célula LE positiva. b) Anticuerpos anti-DNA nativo con un título anormal. c) Anticuerpos contra el antígeno nuclear Sm. d) Test falso positivo para sífilis, siendo positivo durante al menos seis meses y confirmado por inmovilización de treponema pallidum o test de absorción con anticuerpo treponémico fluorescente.
11. Anticuerpos antinucleares	Título anormal de anticuerpos antinucleares por inmunofluorescencia o una técnica equivalente, en cualquier momento y en ausencia de drogas asociadas a "lupus inducido por drogas".
Número de criterios clasificatorios presentes:	

