

Patrícia Andrade de Macêdo

**Anticorpo anti-P ribossomal em pacientes com
glomerulonefrite lúpica: marcador de
melhor sobrevida renal?**

Tese apresentada a Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título
de Doutor em Ciências

Programa de Ciências Médicas

Área de concentração: Processos Imunes e
Infecciosos

Orientadora: Profa. Dra. Eloísa Silva Dutra de
Oliveira Bonfá

**São Paulo
2013**

Patrícia Andrade de Macêdo

**Anticorpo anti-P ribossomal em pacientes com
glomerulonefrite lúpica: marcador de
melhor sobrevida renal?**

Tese apresentada a Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título
de Doutor em Ciências

Programa de Ciências Médicas

Área de concentração: Processos Imunes e
Infecciosos

Orientadora: Profa. Dra. Eloísa Silva Dutra de
Oliveira Bonfá

**São Paulo
2013**

DEDICATÓRIAS

Dedico esta tese a:

Meu marido Henrique e minha filha Beatriz:

O estímulo e companheirismo diários e meu amor incondicional.

Meus Pais: Antônio Macêdo e Maria do Carmo:

Presença constante na minha formação e exemplos a serem seguidos.

Meus irmãos Rógeris e Lívia:

Irmãos, amigos.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar à profa. Eloísa Silva Dutra de Oliveira Bonfá, titular da Disciplina de Reumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), pela oportunidade concedida, dedicação, paciência e ensino na preparação deste trabalho. Sem o seu incentivo e persistência, os objetivos não teriam sido alcançados.

Ao Dr. Eduardo Borba Ferreira Neto, professor adjunto e livre docente da disciplina de reumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, por sua dedicação e ajuda na realização deste trabalho.

A equipe do LIM-17 e, em especial, a Dra. Vilma Santos Trindade Viana, pela disponibilidade e realização das amostras laboratoriais, mesmo em situações adversas.

À disciplina de Nefrologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em especial ao Dr. Rui Toledo Barros, médico assistente da disciplina de Nefrologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, por permitir a inclusão de pacientes acompanhados no serviço de Nefrologia do Hospital das Clínicas da FMUSP.

À Disciplina de Reumatologia, em especial aos assistentes, que com sua excelência profissional e sua dedicação, foram imprescindíveis para minha formação como médica reumatologista.

Aos funcionários do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, sempre presentes no ambulatório e enfermaria de reumatologia, que viabilizam nosso cuidado com os pacientes, aprimorando a formação médica daqueles que por ali passam.

Às funcionárias da secretaria da disciplina de reumatologia pela atenção e disponibilidade sempre que necessário.

Aos colegas e amigos da residência médica em reumatologia – Carolina, Levy, Monique, Rafael, Zilcem, Juliane, Luciana – pelo apoio e amizade durante o período da residência e da realização deste trabalho.

A amiga Gabriela, por sua amizade e por compartilhar as novas experiências no âmbito da pesquisa científica.

A minha família – pais, irmãos, esposo e filha – por estarem presente em todos os momentos da minha vida.

Normatização adotada

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referencias: adaptado de International Committee of Medical Journals Editors
(Vancouver)

Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina, Divisão de Bibliografia e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valeria Vilhena. 3 ed. São Paulo: divisão de biblioteca e documentação, 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com List of Journals Indexed in Index Medicus.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas

Resumo

Summary

1.INTRODUÇÃO.....01

2.OBJETIVOS05

3. MÉTODOS

3.1.Pacientes08

3.2.Biópsia renal/Patologia08

3.3.Avaliação dados clínicos09

3.4. Avaliação laboratorial

3.4.1.Dados laboratoriais09

3.4.2. Anti-P ribossomal e Anti-dsDNA09

3.5. Análise estatística10

4. RESULTADOS

4.1. Anti-P+/Anti-dsDNA- vs. Anti-P-12

4.2. Anti-P+/Anti-dsDNA- vs. Anti-P-/Anti-dsDNA+18

4.3. Anti-P+/Anti-dsDNA- vs. Anti-P-/Anti-dsDNA- +23

5. DISCUSSÃO28

6. CONCLUSÃO	32
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34
8. APENDICE	40

ABREVIATURAS

Anti-dsDNA+ - anticorpo anti-dsDNA positivo

Anti-dsDNA- - anticorpo anti-dsDNA negativo

Anti-P+ - anticorpo anti-P ribossomal positivo

Anti-P- - anticorpo anti-P ribossomal negativo

Anti-P+/anti-dsDNA- - grupo de pacientes com positividade sérica para anticorpo anti-P ribossomal e sem positividade sérica para anticorpo anti-dsDNA

Anti-P-/anti-dsDNA+ - grupo de pacientes sem positividade sérica para anticorpo anti-P ribossomal e com positividade sérica para anticorpo anti-dsDNA

Anti-P-/anti-dsDNA- - grupo de pacientes sem positividade sérica para anticorpo anti-P ribossomal e anti-dsDNA

DP – Desvio Padrão

dsDNA – ácido desoxirribonucleico de dupla hélice

ELISA – *“enzyme-linked immunosorbent assay”*

IFI – imunofluorescência indireta

ISN-RPS – Sociedade Internacional de Nefrologia e Sociedade de Patologia Renal

LES – Lúpus Eritematoso Sistêmico

SLEDAI – systemic lupus erythematosus disease activity index

USP – Universidade de São Paulo

RESUMO

Macedo PA. *Anticorpo anti-P ribossomal em pacientes portadores de glomerulonefrite lúpica: marcador para melhor sobrevida renal?* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2013.

O anticorpo anti-proteína P ribossomal é um dos marcadores sorológicos do lúpus eritematoso sistêmico, previamente associado a glomerulonefrite lúpica classe V (ISN-RPS). Neste trabalho foi avaliado o prognóstico renal em pacientes que possuem positividade para este anticorpo. Sessenta pacientes foram avaliados para parâmetros de sobrevida renal. Onze pacientes (18%) apresentaram positividade sorológica exclusiva para anticorpo anti-P ribossomal e vinte e oito pacientes (47%) para anti-dsDNA. Ao final do período de seguimento, foi observado que os pacientes anti-P positivos apresentaram uma maior sobrevida renal ($11,0 \pm 4,5$ vs. $9,2 \pm 4,5$ anos, $p=0,03$) quando comparados aqueles anti-P negativos, assim como menor frequência de necessidade de terapia substitutiva renal (0 vs. 35% $p=0,025$). Pacientes anti-P positivos apresentaram também maior frequência de classe V (91% vs. 31%, $p<0,001$) e menor incidência de alterações proliferativas (45% vs. 82%, $p=0,021$) na avaliação da biópsia renal quando comparados aos pacientes sem a positividade para este anticorpo. Os dados reforçam a hipótese de que o anticorpo anti-P é um marcador útil de um melhor prognóstico renal em pacientes portadores de lúpus eritematoso sistêmico.

Descritores: Lúpus eritematoso sistêmico; Glomerulonefrite; Autoanticorpos/sangue; Autoanticorpos/imunologia; Marcadores biológicos; Proteínas ribossômicas/imunologia; Análise de sobrevida.

SUMMARY

Macedo PA. *Antibodies to ribosomal P proteins in lúpus nephritis: a surrogate marker for a better renal survival?* [teses]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2013.

Antibodies to ribosomal P proteins are one of the serologic markers of systemic lupus erythematosus, previously described as associated to class V lupus glomerulonephritis (ISN-RPS). Our study assessed renal prognosis in patients with anti-P antibodies. Sixty consecutive SLE patients with biopsy-proven nephritis (2004 ISN/RPS) were evaluated for renal survival parameters. Eleven patients (18%) had exclusive anti-P positivity and 28 (47%) patients anti-dsDNA. The post-biopsy follow-up analysis demonstrated that anti-P positive patients disclosed better renal survival (11.0 ± 4.5 vs. 9.2 ± 4.5 years, $p=0.03$) as well as lower frequency of patients requiring dialysis (0 vs. 35% $p=0.025$). The frequency of class V nephritis was higher in anti-P positive patients (91% vs. 31%, $p<0.001$) and the occurrence of proliferative lesions at biopsy was lower in these patients (45% vs. 82%, $p=0.021$). Our data supports the notion that anti-P antibody is a valuable marker to predict a better long-term renal outcome in lupus patients.

Descriptors: Lupus erythematosus, systemic; Glomerulonephritis; Autoantibodies/blood; Autoantibodies/immunology; Biological markers; Ribosomal proteins/immunology; Survival analysis.

1. INTRODUÇÃO

O Lúpus Eritematoso Sistêmico é doença autoimune caracterizada por períodos de exacerbação e remissão. Sua prevalência global é estimada entre 0,04% a 0,2%, dependendo da etnia¹.

A doença acomete múltiplos órgãos, com perfil clínico variado com formas leves e outras consideradas graves. Todos os sistemas podem ser envolvidos incluindo hematológico, osteomuscular, neurológico, cardíaco, respiratório e renal. Fatores genéticos, ambientais, hormonais entre outros, parecem contribuir para o desenvolvimento da doença.

O envolvimento renal é o maior preditor de mau prognóstico em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico, com 5 a 10% de progressão para insuficiência renal terminal e 8% com evolução para óbito apesar de imunossupressão adequada². Até o momento, o anticorpo anti-dsDNA é, provavelmente, o melhor marcador para nefrite lúpica, dado que tem boa correlação com atividade renal, mau prognóstico e gravidade histológica¹. A habilidade do anticorpo anti-dsDNA em induzir glomerulonefrite e proteinúria foi, inicialmente, atribuída a sua reatividade cruzada com antígenos glomerulares como alpha-actina e laminina³. Estudos recentes, no entanto, concluíram que o acúmulo de fragmentos de cromatina na membrana basal glomerular e sua alta afinidade pelos anticorpos anti-dsDNA, e não a reatividade cruzada anteriormente descrita, parece ser o fator determinante

da patogenicidade do anti-dsDNA^{4,5}. Alguns pacientes, no entanto, desenvolvem glomerulonefrite com evolução para insuficiência renal terminal na ausência deste anticorpo. O anti-dsDNA não é um achado universal em pacientes com nefrite lúpica existindo a necessidade de procurar outros marcadores de prognóstico a longo prazo.

Nesse sentido, o anticorpo anti-P ribossomal surgiu como um possível marcador para a glomerulonefrite lúpica em 1996^{6,7,8}. Seus níveis parecem flutuar em paralelo com atividade renal^{8,9,10,11} e sistêmica^{12,13,14,15,16}. Foi ainda descrito a maior prevalência de acometimento renal em pacientes lúpicos anti-P positivos quando comparados àqueles anti-P negativos⁹ e confirmou-se achados anteriores de que a flutuação dos níveis de anti-P estava associada com períodos de atividade renal⁸.

A possível participação do anti-P ribossomal na patogênese da doença renal foi evidenciada pela demonstração de que o eluato de tecido renal, de paciente com glomerulonefrite lúpica, estava enriquecido com anticorpos anti-P ribossomal quando comparado com outros tecidos, demonstrando que existe uma deposição específica do anticorpo nesse órgão¹⁰.

De fato, a presença de epítipo similar a porção carboxiterminal da proteína P ribossomal foi demonstrada nas superfícies de uma variedade de células como hepatócitos, células de neuroblastoma, fibroblastos e células endoteliais¹⁷. A presença de possíveis autoantígenos correlacionados a proteína P ribossômica, fortalece a hipótese da patogenicidade do anticorpo anti-P ribossomal. Nesse sentido, foi descrito na nefrite lúpica anticorpos

contra células endoteliais em um paciente portador de nefrite, cujos títulos apresentaram correlação com o anticorpo anti-dsDNA e com doença renal. O peso molecular descrito para esse autoantígeno foi de 38-40kDa que é semelhante ao descrito para a proteína P ribossomal P0 e sugere que o anticorpo é provavelmente o anti-P ribossomal¹⁸.

Alguns autores sugerem ainda que a associação do anti-P e anti-dsDNA, e não a positividade isolada de cada anticorpo, seria o fator determinante imunológico da nefrite lúpica, justificando um maior poder nefritogênico da associação^{19,20,21}. Inclusive, nestas condições de dupla positividade ainda foi visto que, em pacientes portadores de anti-P, os títulos séricos de anti-dsDNA foram maiores naqueles portadores de doença renal, quando comparados aqueles não portadores de nefrite²¹. Nós confirmamos e ampliamos os achados de dupla positividade demonstrando que a presença de ambos auto-anticorpos discrimina um subgrupo de pacientes com quadro de glomerulonefrite membranosa mais grave e associada a lesões proliferativas²².

Por outro lado, foi descrito que o achado de anti-P na ausência de anti-DNA identifica um subgrupo de pacientes com nefrite lúpica classe V isolada²² levantando a possibilidade de que esta especificidade do auto-anticorpo possa refletir um melhor prognóstico renal a longo prazo no LES. Estudos disponíveis de prognóstico são, no entanto, retrospectivos⁹, transversais^{10,11,14,20} ou de curto prazo⁸, ou seja, avaliações que não são aceitas como medidas de desfecho clínico para o lúpus renal²³. Além disso,

suas metodologias não foram baseadas na especificidade do anticorpo anti-P ribossomal^{9,11,20}.

Nosso estudo tem por objetivo realizar uma avaliação de longo prazo do valor prognóstico do anticorpo (anti-P) como marcador sorológico do envolvimento renal do LES em pacientes com esse anticorpo positivo e sem anti-DNA no momento de atividade renal e com nefrite lúpica confirmada por biópsia renal (2004 ISN/RPS) .

2. OBJETIVOS

2.1. Determinar o prognóstico renal de pacientes com glomerulonefrite lúpica e anticorpo anti-P ribossomal.

2.2. Comparar o prognóstico renal de pacientes com glomerulonefrite lúpica e anticorpo anti-P ribossomal com pacientes com glomerulonefrite lúpica e negativos para este anticorpo.

2.3. Comparar o prognóstico renal de pacientes com glomerulonefrite lúpica e anticorpo anti-P ribossomal com pacientes com glomerulonefrite lúpica e anticorpo anti-dsDNA.

3. MÉTODOS

3.1. PACIENTES

Oitenta e um pacientes com lúpus eritematoso sistêmico, segundo os critérios de classificação do Colégio Americano de Reumatologia – ACR²⁴, regularmente acompanhados entre os anos de 1999-2004 no Ambulatório de Reumatologia ou Nefrologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo foram selecionados e submetidos à biópsia renal. Critérios de inclusão foram: pacientes com LES e com biópsia renal realizada no período entre 1999 e 2004; pacientes com pelo menos uma amostra de soro no momento da biópsia e durante o seguimento até 2008. Critérios de exclusão foram a presença concomitante de anti-P e anti-dsDNA em qualquer momento durante o seguimento (n = 12); lesão renal devido à hipertensão, diabetes ou medicamentos (n = 2) e aqueles que não puderam apresentar-se para o seguimento do estudo (n = 7). O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética local.

3.2. BIÓPSIA RENAL / PATOLOGIA

As lâminas de biópsia renal destes pacientes arquivadas no Departamento de Patologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP, com espécimes disponíveis e que preencheram os critérios de inclusão na pesquisa foram utilizadas. Todas as amostras de biópsia foram analisadas, de forma cega, pelo mesmo patologista renal e os

achados histológicos foram avaliados de acordo com a classificação de glomerulonefrite lúpica proposta pela Sociedade Internacional de Nefrologia 2004 e de Patologia Renal (ISN-RSP) revisitado em 2004^{25,26}.

3.3. AVALIAÇÃO DOS DADOS CLÍNICOS

Os prontuários dos pacientes foram extensivamente revisados pelo mesmo reumatologista para coleta de dados demográficos, terapêuticos, clínicos e laboratoriais. Foi utilizada também uma base de dados de prontuário eletrônico estabelecida na Reumatologia em 1999 que incluía os parâmetros utilizados nessa pesquisa. O início da doença autoimune e acometimento renal, assim como suas durações foram definidos de acordo com o momento do diagnóstico estabelecido pelos critérios de classificação do LES²⁴. Atividade clínica foi medida de acordo com o índice de atividade de lúpus eritematoso sistêmico (SLEDAI)²⁷. O desfecho final do estudo foi definido como óbito (devido ao envolvimento renal ou outras causas) ou doença renal terminal. Doença renal terminal foi definida como a necessidade de terapia de substituição renal com duração mínima de três meses ou transplante renal²⁸.

3.4. AVALIAÇÃO LABORATORIAL

3.4.1. Dados laboratoriais

A creatinina plasmática e a proteinúria de 24 horas foram registrados durante o acompanhamento, a cada 6 meses, até 2008. A atividade e a remissão renal foram definidos de acordo com os critérios da Subcomissão

Renal de Insuficiência Renal do Colégio Americano de Reumatologia²⁸. A função renal normal foi arbitrariamente definida como creatinina <1,3 mg/dl.

3.4.2. Anti-P ribossomal e Anti-dsDNA

O ensaio Imunoenzimático (ELISA), utilizando proteína P2 recombinante humano purificado como antígeno, foi utilizado para detecção de anticorpos anti-proteína P ribossomal. A *E. coli*, cepa RRI, transformada geneticamente para produzir polipeptídeo P2 humano, foi gentilmente cedida pelo Dr. K. ELKON da Universidade de Washington, Seattle²². A reatividade de anticorpos em todos os soros foi confirmada pela técnica de *Western blotting* usando fração ribossômica purificada de hepatócitos de rato como substrato²⁹.

O anticorpo anti-DNA de fita dupla (dsDNA) foi detectado por imunofluorescência indireta (IFI), utilizando *Chritidia luciliae* como substrato³⁰. Todos os soros foram também testados por ELISA utilizando preparações de DNA de dupla hélice de timo de bezerro (Sigma Chem Co., EUA). Os resultados acima do valor médio de 12 soros normais \pm 5 desvios padrão foram considerados positivos. Para excluir a reatividade dos soros a DNA de hélice simples (ssDNA) presentes na amostra e garantir a especificidade de anticorpos para dsDNA, os soros positivos foram posteriormente conferidos em placas sensibilizadas e tratadas por 1h a 37⁰C com S1 nuclease (500 UI / ml) (Sigma Chem. Co., St. Louis, EUA)²².

3.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados são apresentados como a média \pm desvio padrão (DP) para variáveis contínuas e número percentual (%) para variáveis categóricas. Os dados foram comparados pelo teste t, teste de Mann-Whitney U ou Wilcoxon rank sum em variáveis contínuas para avaliar as diferenças entre os grupos. As diferenças para as variáveis categóricas foram avaliadas por Pearson Chi-quadrado ou teste exato de Fisher. As análises de sobrevida renal, da duração do tempo até doença renal terminal ou morte relacionada a doença renal e de sobrevida geral do paciente foram realizadas utilizando a curva de Kaplan-Meier e teste log-rank. A significância estatística foi definida como $P < 0,05$.

4. RESULTADOS

4.1. Comparação dos pacientes anti-P positivos (Anti-P+/Anti-dsDNA com pacientes sem esse anticorpo (Anti-P-)

Sessenta pacientes com glomerulonefrite lúpica foram avaliados de acordo com os critérios de inclusão e exclusão previamente estabelecidos. A frequência de anti-P positivo isoladamente na atividade renal foi de 18% (n=11) compreendendo o grupo anti-P+/anti-dsDNA-. Os 49 pacientes restantes (grupo anti-P-) foram persistentemente negativos para este anticorpo durante o seguimento. A frequência de anti-dsDNA no grupo avaliado foi 47% (n=28).

No momento da biópsia, a avaliação demográfica dos 11 pacientes com e 49 sem anticorpos anti-P ribossomal demonstrou não haver diferença entre os grupos nos quesitos gênero (p=0,58) e raça (p=0,74) (Tabela 1). A idade média no momento da biópsia renal também foi semelhante em ambos os grupos (p=0,86). Além disso, pacientes com e sem anticorpos anti-P tiveram duração média de doença renal comparável ($2,4 \pm 4,9$ vs. $1,7 \pm 2,7$ anos, p= 0,57), apesar de uma maior duração do lúpus no grupo anti-P+ ($6,4 \pm 6,9$ vs. $2,8 \pm 3,5$ anos, p = 0,04) (Tabela 1).

Tabela 1 - Dados demográficos e clínicos de 60 pacientes com glomerulonefrite lúpica com e sem anticorpos anti-P ribossomal			
	anti-P+/anti-dsDNA- (n=11)	anti-P - (n=49)	p
Sexo feminino, n(%)	11 (100)	43(88)	0,58
Raça branca, n(%)	6 (54)	30 (61)	0,74
Idade (anos)	31,8 ± 10,0	32,1 ± 10,3	0,86
Duração do LES (anos)	6,4 ± 6,9	2,8 ± 3,5	0,04
Duração doença renal (anos)	2,4 ± 4,9	1,7 ± 2,7	0,57

Ainda considerando o momento de entrada no presente estudo (biópsia renal), pacientes anti-P+/anti-dsDNA- apresentaram níveis séricos de creatinina significativamente menor em relação aos pacientes anti-P negativos ($0,9 \pm 0,3$ vs. $2,3 \pm 1,6$ mg/dl, $p < 0,01$), enquanto níveis de proteinúria 24h ($5,9 \pm 3,1$ vs. $6,0 \pm 5,9$ g/24hs, $p= 0,30$) e escore de atividade SLEDAI ($10,4 \pm 3,9$ vs. $9,0 \pm 4,3$, $p= 0,16$) foram semelhantes entre os grupos (Tabela 2).

Tabela 2 - Dados da avaliação renal no momento da entrada no estudo de 60 pacientes com glomerulonefrite lúpica com e sem anticorpos anti-P ribossomal			
	anti-P+/anti-dsDNA- (n=11)	anti-P - (n=49)	p
Creatinina, mg/dl	0,9 ± 0,3	2,3 ± 1,6	< 0,01
Proteinúria, g/24hs	5,9 ± 3,1	6,0 ± 5,9	0,30
SLEDAI	10,4 ± 3,9	9,0 ± 4,3	0,16

A frequência de lesões proliferativas na biópsia renal foi menor nos pacientes com anti-P positivo em relação ao outro grupo (45% vs. 82%, $p=0,02$). Além disso, a frequência de nefrite classe V foi maior no grupo anti-P+/ anti-dsDNA- (91% vs. 31%, $p < 0,01$) enquanto que a frequência da classe IV foi menor em comparação com o anti-P- (18% vs. 67%, $p < 0,01$) (Tabela 3).

Tabela 3 - Análise da histologia renal de 60 pacientes com glomerulonefrite lúpica com e sem anticorpos anti-P ribossomal			
	anti-P+/anti-dsDNA- (n=11)	anti-P- (n=49)	p
Classe II, n(%)	0 (0)	1 (2)	1,0
Classe III, n(%)	3 (27)	7 (14)	0,37
Classe IV, n(%)	2 (18)	33 (67)	<0,01
Classe V, n(%)	10 (91)	15 (31)	<0,01
Lesões proliferativas, n(%)	5 (45)	40 (82)	0,02

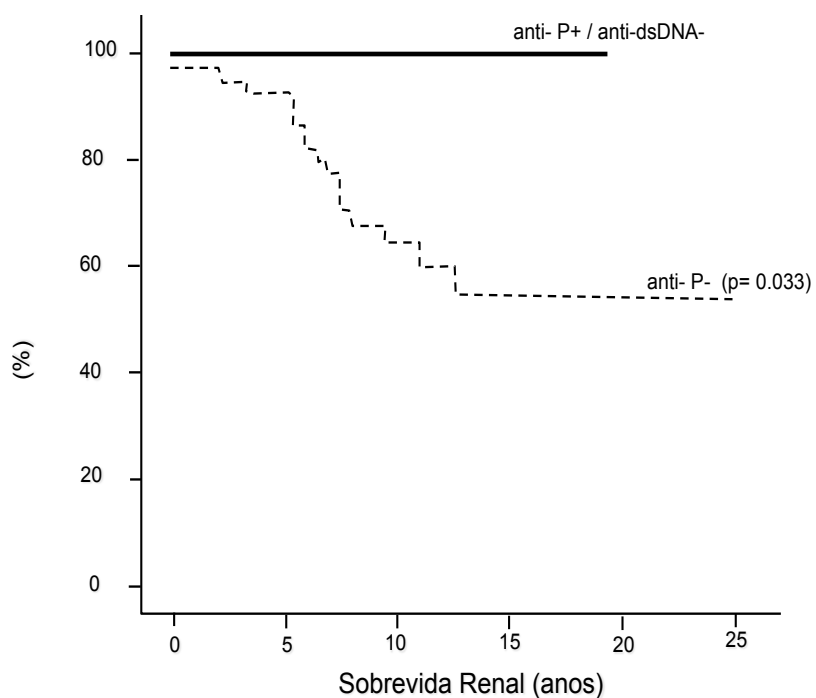
A análise do seguimento pós-biópsia demonstrou que ambos os grupos tiveram um período de observação semelhante até 2008 ($6,3 \pm 2,5$ vs. $6,8 \pm 2,4$ anos, $p=0,36$). A avaliação renal, ao final do seguimento revelou uma maior frequência de função renal normal no grupo anti-P+ /anti-dsDNA- (91% vs. 53%, $p = 0,03$) e uma tendência de menores níveis de creatinina ($0,9 \pm 0,3$ vs. $2,3 \pm 2,1$ mg / dl, $p = 0,07$) com níveis de proteinúria 24h semelhantes ($1,0 \pm 1,6$ vs. $2,5 \pm 4,5$ g/24h, $p=0,11$) (Tabela 4).

Tabela 4 - Avaliação renal ao final do seguimento de 60 pacientes com glomerulonefrite lúpica com e sem anticorpos anti-P ribossomal			
	anti-P+/anti-dsDNA- (n=11)	anti-P- (n=49)	p
Tempo de seguimento (anos)	$6,3 \pm 2,5$	$6,8 \pm 2,4$	0,36
Creatinina final, mg/dl	$0,9 \pm 0,3$	$2,3 \pm 2,1$	0,07
Proteinúria final, g/24hs	$1,0 \pm 1,6$	$2,5 \pm 4,5$	0,11

Em relação ao desfecho final do nosso estudo, nenhum dos pacientes anti-P+/anti-dsDNA- necessitou de terapia substitutiva renal enquanto que mais de um terço dos pacientes anti-P- necessitaram de diálise (0% vs. 35%, $p = 0,02$) (Tabela 5). A sobrevida renal, aferida a partir do diagnóstico da doença, foi significativamente maior no grupo anti-P+/anti-dsDNA- comparado ao outro grupo ($11,0 \pm 4,5$ vs. $9,2 \pm 4,5$ anos, $p = 0,03$) (Figura 1), apesar de um sobrevida global dos pacientes comparável em ambos os grupos ($13,6 \pm 6,1$ vs. $11,5 \pm 4,6$ anos, $p = 0,23$) (Tabela 5).

Tabela 5 - Desfecho final de 60 pacientes com glomerulonefrite lúpica com e sem anticorpos anti-P ribossomal			
	anti-P+/anti-dsDNA- (n=11)	anti-P - (n=49)	p
Função renal normal, n(%)	10 (91)	26 (53)	0,03
Diálise, n(%)	0 (0)	17 (35)	0,02
Sobrevida total, anos	13,6 ± 6,1	11,5 ± 4,5	0,23
Sobrevida renal, anos	11,0 ± 4,5	9,2 ± 4,5	0,03
Óbitos (doença renal), n(%)	0 (0)	6 (12)	0,58

Figura 1 - Análise de sobrevida renal (Kaplan-Meier) como desfecho final comparando pacientes anti-P+/anti-dsDNA- com anti-P- (p = 0,03)



Não foram detectadas diferenças significativas entre os pacientes anti-P+/anti-dsDNA- e anti-P- em relação ao tratamento com ciclofosfamida (54% vs. 69%, $p = 0,48$) ou micofenolato mofetil (27% vs. 8%, $p = 0,10$) (Tabela 6).

Tabela 6 - Tratamento da lesão renal em 60 pacientes com glomerulonefrite lúpica com e sem anticorpos anti-P ribossomal			
	anti-P+/anti-dsDNA- (n=11)	anti-P - (n=49)	<i>p</i>
Ciclosporina, n(%)	1 (9%)	3 (6%)	0,56
Ciclofosfamida, n(%)	6 (55%)	34 (70%)	0,48
Azatioprina, n(%)	1 (9%)	3 (6%)	0,56
Micofenolato de Mofetil, n(%)	3 (27%)	4 (8%)	0,10

4.2. Comparação dos pacientes com anti-P positivos (Anti-P+/Anti-dsDNA-) com pacientes anti-dsDNA positivos (Anti-P-/Anti-dsDNA+)

A comparação dos pacientes Anti-P+/Anti-dsDNA- (n=11) com os pacientes Anti-P-/Anti-dsDNA+ (n=28) revelou não existir diferença entre os grupos em relação a gênero (100% vs. 86%, $p=0,31$), raça (54% vs. 57%, $P=1,0$) ou idade ($31,8 \pm 10$ vs. $30,7 \pm 8,5$ anos, $p=0,54$). O tempo de seguimento se mostrou semelhante, assim como a duração da doença autoimune sistêmica e duração do acometimento renal (Tabela 7).

Tabela 7 - Dados demográficos e clínicos de 39 pacientes com glomerulonefrite lúpica com anticorpos anti-P ou anti-dsDNA

	anti-P+/anti-dsDNA- (n=11)	anti-P-/anti-dsDNA+ (n=28)	p
Sexo feminino, n(%)	11 (100)	24(86)	0,31
Raça branca, n(%)	6 (54)	16 (57)	1,0
Idade (anos)	31,8 ± 10	30,7 ± 8,5	0,54
Duração do LES (anos)	6,4 ± 6,9	2,6 ± 2,9	0,09
Duração doença renal (anos)	2,4 ± 4,9	1,8 ± 2,6	0,86

No momento da biópsia renal, os pacientes anti-P+/anti-dsDNA- apresentaram menores níveis de creatinina quando comparados aos indivíduos Anti-P-/Anti-dsDNA+ ($0,9 \pm 0,3$ vs. $2,4 \pm 1,6$ mg/dL, $p < 0,01$), apesar de níveis semelhantes de proteinúria 24h ($5,9 \pm 3,1$ vs. $5,1 \pm 4,3$ g/24h, $p = 0,18$) (Tabela 8).

Tabela 8 - Avaliação renal no momento da entrada no estudo de 39 pacientes com glomerulonefrite lúpica com anticorpos anti-P ou anti-dsDNA

	anti-P+/anti-dsDNA- (n=11)	anti-P-/anti-dsDNA+ (n=28)	p
Creatinina, mg/dl	$0,9 \pm 0,3$	$2,4 \pm 1,6$	<0,01
Proteinúria, g/24hs	$5,9 \pm 3,1$	$5,1 \pm 4,3$	0,18
SLEDAI	$10,4 \pm 3,9$	$9,6 \pm 4,6$	0,41

Com relação ao resultado da biópsia renal, os pacientes anti-P+/anti-dsDNA- possuíam uma frequência menor de Classe IV e um predomínio de Classe V (Tabela 9) comparado com o grupo anti-P-/anti-dsDNA+. A frequência de lesões proliferativas na biópsia renal foi inferior no grupo com anticorpo Anti-P quando comparados aos pacientes Anti-dsDNA positivos (Tabela 9).

Tabela 9 - Análise da histologia renal de 39 pacientes com glomerulonefrite lúpica com anticorpos anti-P ou anti-dsDNA			
	anti-P+/anti-dsDNA- (n=11)	anti-P-/anti-dsDNA+ (n=28)	p
Classe II, n(%)	0	1 (4)	1,0
Classe III, n(%)	3 (27)	4 (14)	0,38
Classe IV, n(%)	2 (18)	20 (71)	<0,01
Classe V, n(%)	10 (91)	8 (29)	<0,01
Lesões proliferativas, n(%)	5 (45)	24 (83)	0,01

Ao final do estudo, ambos os grupos apresentaram tempo de acompanhamento semelhante ($6,3 \pm 2,5$ vs. $6,7 \pm 2,7$ anos, $p=0,41$). Pacientes anti-P+/anti-dsDNA- apresentaram menores níveis de creatinina ($0,9 \pm 0,3$ vs. $2,6 \pm 2,3$ mg / dl, $p = 0,03$), porém com níveis semelhantes de proteinúria 24h ($1,0 \pm 1,6$ vs. $2,4 \pm 4,5$ g/24h, $p=0,11$) (Tabela 10). Concomitantemente, pacientes anti-P+/anti-dsDNA- apresentaram maior frequência de função renal normal (91% vs. 43%, $p <0,01$), menor frequência

de diálise (0% vs. 43%, $p < 0,01$) (Tabela 11), e maior sobrevida renal ($11,0 \pm 4,5$ vs. $8,7 \pm 4,7$ anos, $p = 0,01$) (Figura 2). Não existiram diferenças entre a terapêutica imunossupressora (Tabela 12).

Tabela 10 - Avaliação renal ao final do seguimento de 39 pacientes com glomerulonefrite lúpica com anticorpos anti-P ou anti-dsDNA

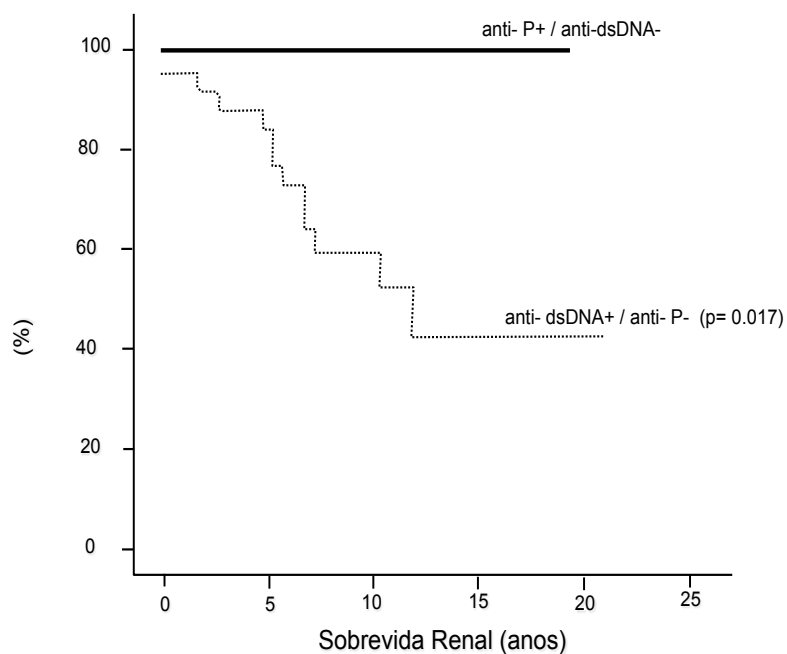
	anti-P+/anti-dsDNA- (n=11)	anti-P-/anti-dsDNA+ (n=28)	P
Tempo de seguimento (anos)	6,3 ± 2,5	6,7 ± 2,7	0,41
Creatinina final, mg/dl	0,9 ± 0,3	2,6 ± 2,3	0,03
Proteinúria final, g/24hs	1,0 ± 1,6	2,4 ± 4,5	0,11

Tabela 11. Desfecho final de 39 pacientes com glomerulonefrite lúpica com anticorpos anti-P ou anti-dsDNA

	anti-P+/anti-dsDNA- (n=11)	anti-P-/anti-dsDNA+ (n=28)	P
Função renal normal, n(%)	10 (91)	12 (43)	<0,01
Diálise, n(%)	0 (0)	12 (43)	<0,01
Sobrevida total, anos	13,6 ± 6,1	11,0 ± 4,6	0,20
Sobrevida renal, anos	11,0 ± 4,5	8,7 ± 4,7	0,01
Óbitos (doença renal), n(%)	0 (0)	4 (14)	0,31

Tabela 12 - Tratamento de 39 pacientes com glomerulonefrite lúpica com anticorpos anti-P ou anti-dsDNA			
	anti-P+/anti-dsDNA- (n=11)	anti-P-/anti-dsDNA+ (n=28)	p
Ciclosporina, n(%)	1 (9)	0(0)	0,28
Ciclofosfamida, n(%)	6 (55)	21(75)	0,26
Azatioprina, n(%)	1 (9)	2 (7)	1,0
Micofenolato de Mofetil, n(%)	3 (27)	2 (7)	0,12

Figura 2 - Análise de sobrevida renal (Kaplan-Meier) como desfecho final comparando 39 pacientes com glomerulonefrite lúpica com anticorpos anti-P ribossomal ou anti-dsDNA



4.3. Comparação dos pacientes anti-P positivos (anti-P+/anti-dsDNA-) com pacientes duplo negativos (anti-P-/anti-dsDNA-)

A análise subsequente dos pacientes anti-P+/anti-dsDNA- e 21 pacientes anti-P-/anti-dsDNA- (ausência dos anticorpos anti-P e anti-dsDNA) revelou ao início do estudo, similaridade entre os grupos quanto a gênero, raça e idade (Tabela 13). A média de creatinina no momento da biópsia foi significativamente menor no grupo anti-P+/anti-dsDNA- quando comparada ao grupo anti-P-/anti-dsDNA- ($0,9 \pm 0,3$ vs. $2,2 \pm 1,7$ mg/dL, $p < 0,01$), ao contrário dos níveis de proteinúria 24h que se mostraram semelhantes ($5,9 \pm 3,1$ vs. $7,2 \pm 7,6$ g/24h, $p = 0,66$) (Tabela 14).

Tabela 13 - Dados demográficos e clínicos de 32 pacientes com glomerulonefrite lúpica com anticorpos anti-P ou pacientes com ausência de anti-P/anti-dsDNA			
	anti-P+/anti-dsDNA- (n=11)	anti-P-/anti-dsDNA- (n=21)	p
Sexo feminino, n(%)	11 (100)	19 (91)	0,53
Raça branca, n(%)	6 (54)	14 (67)	0,7
Idade (anos)	$31,8 \pm 10$	$34 \pm 12,2$	0,69
Duração do LES (anos)	$6,4 \pm 6,9$	$3,1 \pm 4,3$	0,07
Duração doença renal (anos)	$2,4 \pm 4,9$	$1,5 \pm 2,9$	0,48

Tabela 14 - Dados da avaliação renal no momento da entrada no estudo de 32 pacientes com glomerulonefrite lúpica com anticorpos anti-P ou pacientes com ausência de anti-P/anti-dsDNA			
	anti-P+/anti-dsDNA- (n=11)	anti-P-/anti-dsDNA- (n=21)	p
Creatinina, mg/dl	0,9 ± 0,3	2,2 ± 1,7	<0,01
Proteinúria, g/24hs	5,9 ± 3,1	7,2 ± 7,6	0,66
SLEDAI	10,4 ± 3,9	8,2 ± 4,0	0,09

A avaliação da biópsia renal revelou que pacientes com anti-P apresentaram maior frequência de classe V na biópsia renal (91% vs. 33%, $p < 0,01$) enquanto que os pacientes Anti-P-/anti-dsDNA- apresentaram predomínio de classe IV (18% vs. 62%, $p = 0,03$). A presença de lesões proliferativas na biópsia renal foi semelhante entre os grupos (45% vs. 76%, $p = 0,12$), (Tabela 15).

Tabela 15 - Análise da histologia renal de 32 pacientes com glomerulonefrite lúpica com anticorpos anti-P ou pacientes com ausência de anti-P/anti-dsDNA			
	anti-P+/anti-dsDNA- (n=11)	anti-P-/anti-dsDNA- (n=21)	p
Classe II, n(%)	0	0	1,0
Classe III, n(%)	3 (27)	3 (14)	0,39
Classe IV, n(%)	2 (18)	13 (62)	0,03
Classe V, n(%)	10 (91)	7 (33)	<0,01
Lesões proliferativas, n(%)	5 (45)	16 (76)	0,12

Ao final do tempo de seguimento ($6,3 \pm 2,5$ vs. $7,0 \pm 2,1$ anos, $p=0,41$), a avaliação mostrou níveis semelhantes de creatinina ($0,9 \pm 0,3$ vs. $1,8 \pm 1,8$ mg/dL, $p=0,29$) e proteinúria 24h ($1,0 \pm 1,6$ vs. $2,7 \pm 4,6$ g/24h, $p=0,22$) (Tabela 16). Não houveram diferenças em relação a frequência de diálise (0 vs. 24%, $p=0,13$) ou função renal normal (91% vs. 67%, $p=0,21$) (Tabela 17). A frequência de uso de imunossupressores para o tratamento da nefrite lúpica foi semelhante nos dois grupos (Tabela 18). A sobrevida renal, no entanto, apresentou uma tendência a ser maior nos pacientes anti-P+/anti-dsDNA- ($11,0 \pm 4,5$ vs. $9,8 \pm 4,3$ anos, $p=0,09$) (Figura 3).

Tabela 16 - Avaliação renal ao final do seguimento de 32 pacientes com glomerulonefrite lúpica com anticorpos anti-P ou pacientes com ausência de anti-P/anti-dsDNA			
	anti-P+/anti-dsDNA- (n=11)	anti-P-/anti-dsDNA- (n=21)	<i>p</i>
Tempo de seguimento (anos)	$6,3 \pm 2,5$	$7,0 \pm 2,1$	0,41
Creatinina final, mg/dl	$0,9 \pm 0,3$	$1,8 \pm 1,8$	0,29
Proteinúria final, g/24hs	$1,0 \pm 1,6$	$2,7 \pm 4,6$	0,22

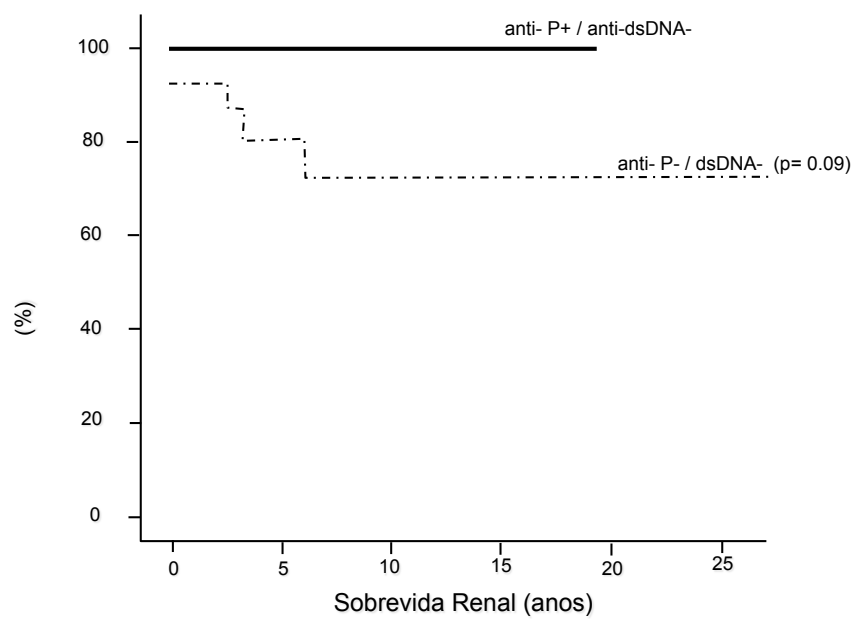
Tabela 17 - Desfecho final de 32 pacientes com glomerulonefrite lúpica com anticorpos anti-P ou pacientes com ausência de anti-P/anti-dsDNA

	anti-P+/anti-dsDNA- (n=11)	anti-P-/anti-dsDNA- (n=21)	p
Função renal normal, n(%)	10 (91)	14 (67)	0,21
Diálise, n(%)	0 (0)	5 (24)	0,13
Sobrevida total, anos	13,6 ± 6,1	12,1 ± 4,5	0,31
Sobrevida renal, anos	11,0 ± 4,5	9,8 ± 4,3	0,09
Óbitos (doença renal), n(%)	0 (0)	2 (10)	0,53

Tabela 18 - Tratamento da lesão renal em 32 pacientes com glomerulonefrite lúpica com anticorpos anti-P ou pacientes com ausência de anti-P/anti-dsDNA

	anti-P+/anti-dsDNA- (n=11)	anti-P-/anti-dsDNA- (n=21)	p
Ciclosporina, n(%)	1 (9)	3(14)	1,0
Ciclofosfamida, n(%)	6 (55)	13 (62)	0,72
Azatioprina, n(%)	1 (9)	1 (5)	1,0
Micofenolato de Mofetil, n(%)	3 (27)	2(10)	0,1

Figura 3 - Análise de sobrevida renal (Kaplan-Meier) como desfecho final comparando 32 pacientes com glomerulonefrite lúpica com anticorpos anti-P ou pacientes com ausência de anti-P/anti-dsDNA



5. DISCUSSÃO

Este é o primeiro estudo a identificar anticorpos anti-P ribossomal como um possível marcador sorológico de melhor sobrevida renal.

O seguimento a longo prazo é o aspecto mais importante do presente trabalho uma vez que a avaliação do prognóstico da glomerulonefrite lúpica só é fidedigna quando de longo prazo como demonstrado no estudo original do Instituto Nacional de Saúde dos Estados Unidos²³. A distribuição comparável entre os grupos quanto ao sexo é outro parâmetro importante, pois os dados acumulados ao longo dos anos comprovam a influência dos hormônios sexuais na maturação e seleção de células B²⁶, podendo contribuir para maior gravidade da nefrite lúpica em pacientes do sexo masculino²⁷. Da mesma forma, a distribuição equilibrada de raça minimiza o impacto descrito anteriormente na gravidade do LES²⁸.

A frequência de anti-P aqui observada é semelhante ao nosso relato anterior¹⁶ e inferior à observada em crianças²⁹, orientais^{30,31}, e populações afro-americanas portadoras de LES³¹. É ainda relevante que todos os pacientes positivos para anti-P tinham esta reatividade em períodos de atividade renal, reforçando os achados anteriores de que este anticorpo está associado com doença em atividade^{4,5,6,7,30}.

A duração equivalente da doença renal entre os grupos é uma questão importante tendo em consideração o dano cumulativo ao longo do tempo³², permitindo um período de exposição semelhante para pacientes com anti-P (anti-P+/anti-dsDNA-) e aqueles sem esse anticorpo. Da mesma

forma a duração do seguimento pós-biópsia foi semelhante em ambos os grupos, demonstrando que os parâmetros renais foram significativamente melhores em pacientes com anti-P isolado (anti-P+/anti-dsDNA-). Na avaliação final, a grande maioria teve função renal normal e nenhum paciente deste grupo foi submetido a diálise.

Reforçando esses achados, pacientes com anticorpos anti-P (anti-P+/anti-dsDNA-), durante períodos de atividade renal, quando comparados àqueles com anti-dsDNA isolado (anti-dsDNA+/anti-P-) tem ainda um melhor prognóstico renal. Confirmamos ainda achados anteriores de que o anti-dsDNA é um marcador de gravidade do lúpus na biópsia renal e de pior prognóstico a longo prazo¹. O tratamento não influenciou esses resultados comparativos uma vez que não foi detectada diferença entre os grupos na frequência de uso de imunossupressores. Por outro lado, demonstramos que o bom prognóstico associado com anti-P isolado (anti-P+/anti-dsDNA-) não é simplesmente relacionado a ausência de anticorpos anti-dsDNA, uma vez que o grupo de pacientes sem os 2 anticorpos (anti-P-/anti-dsDNA-) tem uma tendência a pior sobrevida renal quando comparado aos pacientes portadores de anti-P isolado (anti-P+/anti-dsDNA-).

O papel protetor dos auto-anticorpos na patogênese da nefrite lúpica raramente tem sido relatado na literatura para outros anticorpos, sendo limitada a alguns estudos que propuseram que a positividade do fator reumatoide foi associada à formação de precipitados imunológicos com menor possibilidade de deposição em glomérulos renais. Estes dados, no entanto, ainda são controversos^{33,34}. No presente estudo, os pacientes com

anti-P isolado (anti-P+/anti-dsDNA-) foram selecionados para estudo a partir do envolvimento renal excluindo, portanto, qualquer consideração a respeito de um efeito protetor para o desenvolvimento de nefrite.

Nossa observação anterior de que a positividade do anticorpo anti-P ribossomal foi associada a classe histológica V (2004 ISN-RSP) poderia sugerir que a explicação mais provável para o bom resultado observado neste estudo foi a baixa frequência de progressão para a fase final da doença renal observada em pacientes com nefrite lúpica membranosa^{35,36}. No entanto, aproximadamente metade dos pacientes com classe V possuíam achados patológicos adicionais de nefrite lúpica classe III ou IV associada e portanto a presença de envolvimento endocapilar na biópsia renal, isoladamente não foi capaz de determinar o mal prognóstico renal de longo prazo.

Nós confirmamos que a creatinina sérica no momento da biópsia renal é um fator de risco significativo para insuficiência renal terminal^{1,37,38}, e que o anticorpo anti-P ribossomal foi determinante para identificar o prognóstico renal mais favorável, uma vez que entre os três pacientes anti-P+/anti-dsDNA- com altos níveis de creatinina da biópsia, dois evoluíram com melhora da função renal e um permaneceu com creatinina estável. Em qualquer caso, a positividade isolada do anticorpo anti-P (anti-P+/anti-dsDNA-) no momento da biópsia renal, em pacientes persistentemente negativos para anticorpos anti-dsDNA, parece constituir um parâmetro relevante para identificação de pacientes com excelente sobrevida renal.

6. CONCLUSÃO

6.1. Nossos dados reforçam a hipótese de que o anticorpo anti-P na ausência de anti-dsDNA, durante períodos de atividade renal, é um marcador útil para prever um bom prognóstico renal em pacientes portadores de lúpus eritematoso sistêmico.

6.2. O prognóstico renal dos pacientes portadores de glomerulonefrite lúpica e com positividade para o anticorpo anti-P ribossomal é melhor quando comparado àqueles pacientes com glomerulonefrite lúpica e negativos para este anticorpo.

6.3. O prognóstico renal dos pacientes portadores de glomerulonefrite lúpica e com positividade para o anticorpo anti-P ribossomal é melhor quando comparado àqueles pacientes com glomerulonefrite lúpica e anticorpo anti-dsDNA.

7. REFERÊNCIAS

- [1] Dooley M.A. Clinical and laboratory features of lupus nephritis, in: D.J. Wallace, B.H. Hahn (Eds.), *Dubois' Lupus Erythematosus*, 7th ed., Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2007, chapter 56, pp. 1112-1130.
- [2] Houssiau FA, Vasconcelos C, D'Cruz, et al. The 10-year follow-up data of the Euro-Lupus Nephritis Trial comparing low-dose and high-dose intravenous cyclophosphamide. *Ann Rheum Dis*. 2010;69(1):61-4.
- [3] Deocharan B, Qing X, Lichauco J, Putterman C. Alpha-actinin is a cross-reactive renal target for pathogenic anti-DNA antibodies. *J Immunol*. 2002;15;168(6):3072-8.
- [4] 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(6):1779-92.
- [5] Kalaaji M, Sturfelt G, Mjelle JE, Nossent H, Rekvig OP. Critical comparative analyses of anti-alpha-actinin and glomerulus-bound antibodies in human and murine lupus nephritis. *Arthritis Rheum*. 2006;54(3): 914-26.
- [6] Toubi E, Shoenfeld Y. Clinical and biological aspects of anti-P-ribosomal protein autoantibodies. *Autoimmun Rev*. 2007;6(3):119-125.
- [7] Kiss E, Shoenfeld Y. Are anti-ribosomal P protein antibodies relevant in systemic lupus erythematosus? *Clin Rev Allergy Immunol*. 2007;32(1):37-46.

- [8] Martin AL, Reichlin M. Fluctuations of antibody to ribosomal P proteins correlate with appearance and remission of nephritis in SLE. *Lupus*. 1996;5:22–29.
- [9] Chindalore V, Neas B, Reichlin M. The association between anti-ribosomal P antibodies and active nephritis in systemic lupus erythematosus. *Clin Immunol Immunopathol*. 1998;87:292-296.
- [10] Reichlin M, Wolfson-Reichlin M. Evidence for the participation of anti-ribosomal P antibodies in lupus nephritis. *Arthritis Rheum*. 1999;42:2728–2729.
- [11] Reichlin M, Broyles TF, Hubscher O, James J, Lehman TA, Palermo R, Stafford HA, Taylor-Albert E, Wolfson-Reichlin M. Prevalence of autoantibodies to ribosomal P proteins in juvenile-onset systemic lupus erythematosus compared with the adult disease. *Arthritis Rheum*. 1999;42(1): 69-75.
- [12] Bonfa E, Golombek SJ, Kaufman LD, Skelly S, Weissbach H, Brot N, Elkon KB. Association between lupus psychosis and anti-ribosomal P protein antibodies. *N Engl J Med*. 1987;317(5):265-271.
- [13] Tzioufas AG, Tzortzakis NG, Panou-Pomonis E, Boki KA, Sakarellos-Daitsiotis M, Sakarellos C, Moutsopoulos HM. The clinical relevance of antibodies to ribosomal-P common epitope in two targeted systemic lupus erythematosus populations: a large cohort of consecutive patients and patients with active central nervous system disease. *Ann Rheum Dis*. 2000;59(2):99-104.

- [14] Massardo L, Burgos P, Martínez ME, Pérez R, Calvo M, Barros J, González A, Jacobelli S. Antiribosomal P protein antibodies in Chilean SLE patients: no association with renal disease. *Lupus*. 2002;11(6):379-383.
- [15] Gerli R, Caponi L, Tincani A, Scorza R, Sabbadini MG, Danieli MG, De Angelis V, Cesarotti M, Piccirilli M, Quartesan R, Moretti P, Cantoni C, Franceschini F, Cavazzana I, Origgi L, Vanoli M, Bozzolo E, Ferrario L, Padovani A, Gambini O, Vanzulli L, Croce D, Bombardieri S. Clinical and serological associations of ribosomal P autoantibodies in systemic lupus erythematosus: prospective evaluation in a large cohort of Italian patients. *Rheumatology (Oxford)*. 2002;41(12):1357-1366.
- [16] Haddouk S, Marzouk S, Jallouli M, Fourati H, Frigui M, Hmida YB, Koubaa F, Sellami W, Baklouti S, Hachicha J, Bahloul Z, Masmoudi H. Clinical and diagnostic value of ribosomal P autoantibodies in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)*. 2009;48(8):953-957.
- [17] Koren E, Reichlin MW, Koscec M, Fugate RD, Reichlin M. Autoantibodies to the ribosomal P proteins react with a plasma membrane-related target on human cells. *J Clin Invest*. 1992; 89(4):1236-41.
- [18] Frampton G, Moriya S, Pearson JD, Isenberg DA, Ward FJ, Smith TA, Panayiotou A, Staines NA, Murphy JJ. Identification of candidate endothelial cell autoantigens in systemic lupus erythematosus using a molecular cloning strategy: a role for ribosomal P protein P0 as an

- endothelial cell autoantigen. *Rheumatology (Oxford)*. 2000; 39(10):1114-20.
- [19] Reichlin M. Serological correlations with nephritis in systemic lupus erythematosus. *Clin Immunol*. 2005;117:12–14.
- [20] Quintana G, Coral-Alvarado P, Aroca G, Patarroyo PM, Chalem P, Iglesias-Gamarra A, Ruiz AI, Cervera R. Single anti-P ribosomal antibodies are not associated with lupus nephritis in patients suffering from active systemic lupus erythematosus. *Autoimmun Rev*. 2010; 9(11):750-5.
- [21] Reichlin M, Wolfson-Reichlin M. Correlations of anti-dsDNA and anti-ribosomal P autoantibodies with lupus nephritis. *Clin Immunol*. 2003;108:69-72.
- [22] do Nascimento AP, Viana V dos S, Testagrossa L de A, Leon EP, Borba EF, Barros RT, Bonfá E. Antibodies to ribosomal P proteins: a potential serologic marker for lupus membranous glomerulonephritis. *Arthritis Rheum*. 2006;54:1568-1572.
- [23] Boumpas DT, Austin HA 3rd, Vaughn EM, Klippel JH, Steinberg AD, Yarboro CH, Balow JE. Controlled trial of pulse methylprednisolone versus two regimens of pulse cyclophosphamide in severe lupus nephritis. *Lancet*. 1992;340(8822):741-745.
- [24] Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 1997;40:1725.

- [25] Weening JJ, D'Agati VD, Schwartz MM, Seshan SV, Alpers CE, Appel GB, Balow JE, Bruijn JA, Cook T, Ferrario F, Fogo AB, Ginzler EM, Hebert L, Hill G, Hill P, Jennette JC, Kong NC, Lesavre P, Lockshin M, Looi LM, Makino H, Moura LA, Nagata M. The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited. *J Am Soc Nephrol.* 2004;15:241-250.
- [26] Weening JJ, D'Agati VD, Schwartz MM, Seshan SV, Alpers CE, Appel GB, Balow JE, Bruijn JA, Cook T, Ferrario F, Fogo AB, Ginzler EM, Hebert L, Hill G, Hill P, Jennette JC, Kong NC, Lesavre P, Lockshin M, Looi LM, Makino H, Moura LA, Nagata M; International Society of Nephrology Working Group on the Classification of Lupus Nephritis; Renal Pathology Society Working Group on the Classification of Lupus Nephritis. The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited. *Kidney Int.* 2004;65:521-530.
- [27] Bombardier C, Gladman DD, Urowitz MB, Caron D, Chang CH, and the committee on prognosis studies in SLE. Derivation of the SLEDAI. A disease activity index for lupus patients. *Arthritis Rheum.* 1992; 35: 630-640.
- [28] 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;54:421-432.

- [29] Gordon TP, Jovanovich SA, Sykes P, Bradley J, Roberts-Thomson PJ. Detection of autoantibodies to ribosomal P protein using recombinant autoantigen in a quantitative immunoassay. *Rheumatol Int.* 1990;10:99-102.
- [30] Aarden LA, de Groot ER, Feltkamp TE. Immunology of DNA. III. *Crithidia luciliae*, a simple substrate for the determination of anti-dsDNA with the immunofluorescence technique. *Ann N Y Acad Sci.* 1975;254:505-515.
- [31] Cohen-Solal JF, Jeganathan V, Hill L, Kawabata D, Rodriguez-Pinto D, Grimaldi C, Diamond B. Hormonal regulation of B-cell function and systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2008;17:528-532.
- [32] de Carvalho JF, do Nascimento AP, Testagrossa LA, Barros RT, Bonfá E. Male gender results in more severe lupus nephritis. *Rheumatol Int.* 2010;30:1311-1315.
- [33] Crosslin KL, Wiginton KL. The impact of race and ethnicity on disease severity in systemic lupus erythematosus. *Ethn Dis.* 2009;19:301-307.
- [34] Sato T, Uchiumi T, Ozawa T, Kikuchi M, Nakano M, Kominami R, Arakawa M. Autoantibodies against ribosomal proteins found with high frequency in patients with systemic lupus erythematosus with active disease. *J Rheumatol.* 1991;18:1681-1684.
- [35] Arnett FC, Reveille JD, Moutsopoulos HM, Georgescu L, Elkon KB. Ribosomal P autoantibodies in systemic lupus erythematosus. Frequencies in different ethnic groups and clinical and immunogenetic associations. *Arthritis Rheum.* 1996;39:1833-1839.

- [36] Heinlen LD, Ritterhouse LL, McClain MT, Keith MP, Neas BR, Harley JB, James JA. Ribosomal P autoantibodies are present before SLE onset and are directed against non-C-terminal peptides. *J Mol Med*. 2010;88(7):719-727.
- [37] Chambers SA, Allen E, Rahman A, Isenberg D. Damage and mortality in a group of British patients with systemic lupus erythematosus followed up for over 10 years. *Rheumatology (Oxford)*. 2009;48:673-675.
- [38] Tarkowski A, Westberg G. Rheumatoid factor isotypes and renal disease in systemic lupus erythematosus. *Scand J Rheumatol*. 1987;16:309-312.
- [39] Turner-Stokes L, Jones M, Addison I, Mansell M, Isenberg DA. Does rheumatoid factor protect lupus patients from the development of nephritis? *Ann Rheum Dis*. 1989;48:14-16.
- [40] Huong DL, Papo T, Beaufils H, Wechsler B, Bletry O, Baumelou A, Godeau P, Piette JC. Renal involvement in systemic lupus erythematosus. A study of 180 patients from a single center. *Medicine (Baltimore)*. 1999;78:148-166.
- [41] Mok CC. Prognostic factors in lupus nephritis. *Lupus*. 2005;14:39-44.
- [42] Donadio JV Jr, Hart GM, Bergstralh EJ, Holley KE. Prognostic determinants in lupus nephritis: a long-term clinicopathologic study. *Lupus*. 1995;4:109-115.
- [43] Korbet SM, Lewis EJ, Schartz MM, Reichlin M, Evans J, Rohde RD. Factors predictive of outcome in severe lupus nephritis. Lupus Nephritis Collaborative Study Group. *Am J Kidney Dis*. 2000;35:904-914.

8. APENDICE

ANTIBODIES TO RIBOSOMAL P PROTEINS IN LUPUS NEPHRITIS: A SURROGATE MARKER FOR A BETTER RENAL SURVIVAL?

Patrícia Andrade de Macedo ^a, Eduardo Ferreira Borba ^a, Vilma dos Santos Trindade Viana ^a, Elaine Pires Leon ^a, Leonardo de Abreu Testagrossa ^b, Rui Toledo Barros ^c, Ana Patrícia Nascimento ^a, Eloísa Bonfá ^{a*}.

a. Rheumatology Division, School of Medicine, University of São Paulo, São Paulo, Brazil

b. Pathology Department, School of Medicine, University of São Paulo, São Paulo, Brazil

c. Nephrology Division, School of Medicine, University of São Paulo, São Paulo, Brazil

* Corresponding author. Reumatologia, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Av. Dr. Arnaldo 455, 30 andar, Sala 3190, São Paulo, SP, Brazil. ZIP Code: 01246-903. Tel./fax: +55 11 30617490.
E-mail address: ebonfa@lim17.fm.usp.br (E. Bonfá).

ABSTRACT

Objective: To define if antibodies to ribosomal P proteins disclose a better lupus nephritis long-term survival. Methods: Sixty consecutive SLE patients with biopsy-proven nephritis (2004 ISN/RPS) were evaluated for renal survival parameters. Inclusion criteria were at least one serum sample at: renal flares, biopsy, and last follow-up until 2008. Anti-P was detected by ELISA/immunoblot and anti-dsDNA by indirect immunofluorescence/ELISA.

Results: Eleven patients (18%) with anti-P+ (without anti-dsDNA) during renal flare were compared to 49 (82%) persistently negative for anti-P throughout the study. At the final follow-up post-biopsy (6.3 ± 2.5 vs. 6.8 ± 2.4 years, $p = 0.36$), the comparison of anti-P+/anti-dsDNA- with anti-P- group revealed a trend to lower mean creatinine levels (0.9 ± 0.3 vs. 2.3 ± 2.1 mg/dl, $p = 0.07$), lower frequency of dialysis (0% vs. 35%, $p = 0.025$), and higher frequency of normal renal function (91% vs. 53%, $p = 0.037$). The overall renal survival was significantly higher in anti-P+/anti-dsDNA- compared to anti-P- (11.0 ± 4.5 vs. 9.2 ± 4.5 years, $p = 0.033$), anti-dsDNA+/anti-P- (vs. 8.7 ± 4.7 years, $p = 0.017$), and anti-P-/anti-dsDNA- (vs. 9.8 ± 4.3 years, $p = 0.09$) groups.

Conclusion: Our data supports the notion that anti-P antibody in the absence of anti-dsDNA during nephritis flares is a valuable marker to predict a better long-term renal outcome in lupus patients.

1. INTRODUCTION

Kidney involvement is a major predictor of poor outcome in systemic lupus erythematosus with 5–10% progression to end-stage renal disease in spite of immunosuppressive therapy¹. Currently, anti-dsDNA is probably the best available biomarker for lupus nephritis since it correlates well with renal activity, worse prognosis and histology severity¹. This antibody is not, however, a universal finding in patients with lupus nephritis and therefore we need to search for other surrogate markers for long-term outcomes.

Anti-ribosomal P antibodies have emerged as a possible parameter for lupus renal disease^{2,3} since its levels seems to fluctuate in parallel with renal flares^{4–7} and also with disease activity^{8–12}. Others have suggested that the immunological determinant of lupus nephritis seemed to be the concomitant occurrence of anti-P with anti-dsDNA antibodies rather than each autoantibody specificity alone^{13–15}. We have confirmed and extended this observation demonstrating that the mutual presence of both autoantibodies discriminated patients with membranous glomerulonephritis associated with proliferative lesions¹⁶.

On the other hand, we have reported that isolated anti-P identified a subgroup of patients with pure class V histopathologic pattern¹⁶ raising the possibility that this autoantibody specificity may have a better long-term renal prognosis in SLE. Available studies are, however, retrospective⁵, transversal^{6,7,10,15} or short-term⁴ evaluations which are not accepted outcome

measures for renal lupus¹⁷. Moreover, they have not focused in this single antibody specificity^{5,7,15}.

We therefore have performed a long-term evaluation of patients with biopsy-proven lupus nephritis and at least one serum sample anti-P positive at the time of renal flares and persistently negative for anti-dsDNA in order to verify if we could validate this single antibody specificity as an independent serological marker of good prognosis in renal involvement of SLE.

2. PATIENTS AND METHODS

2.1. Patients

Eighty-one consecutive SLE (ACR SLE classification criteria)¹⁸ patients who underwent renal biopsy regularly followed at the Lupus Outpatient Clinic from Rheumatology and Nephrology Divisions of São Paulo University Medical School from 1999 to 2004 were selected. All biopsies were reviewed in a blinded manner by the same expert renal pathologist and histological findings were recorded according to the 2004 International Society of Nephrology and the Renal Pathology Society (ISN- RSP) revisited lupus glomerulonephritis classification^{19,20}. Inclusion criteria were at least one serum sample at: time of renal flares, biopsy and the last follow-up until 2008. Exclusion criteria were the concomitant presence of anti-P and anti-dsDNA anytime during follow-up (n=12); renal injury due to hypertension, diabetes or medications (n=2); and those who were unable to present themselves for study follow-up (n=7). The Local Ethic Committee approved this study.

Patients' medical records were extensively reviewed for demographic, clinical, therapy, and laboratory data by the same rheumatologist using an ongoing electronic database established in 1999. Disease/nephritis onset and duration were defined according to the time of diagnosis established by the SLE classification criteria¹⁸. Overall clinical activity was measured according to the Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index (SLEDAI)²¹. The hard end point was defined by death (due to renal

involvement or other causes) or the need of chronic dialysis. Plasma creatinine and 24-hours proteinuria were recorded during follow-up. Renal status definitions were based on the Renal Subcommittee of Renal Insufficiency of the American College of Rheumatology²². Normal renal function was arbitrarily defined as creatinine ≤ 1.3 mg/dl. End-stage renal disease was defined as the need for dialysis therapy lasting at least 3 months or renal transplant²².

2.2. Methods

Enzyme-linked immunoassay (ELISA) using purified human recombinant P2 peptide as antigen was employed to detect anti-ribosomal P protein reactivity. *E. coli*, strain RRI, genetically transformed to produce human P2 polypeptide, was kindly provided by Dr. K. Elkon from the University of Washington, Seattle¹⁶. Antibody reactivity in all sera was confirmed by Western blot technique using purified ribosomal fraction isolated from rat hepatocytes as substrate²³.

Anti-double stranded DNA (dsDNA) antibody was detected by indirect immunofluorescence (IIF) using *Chritidia luciliae* as substrate²⁴. All sera were also tested by ELISA using dsDNA preparations from calf thymus (Sigma Chem Co., USA). Results above the mean value of 12 normal sera plus 5 SD were considered positive. To ensure the specificity of antibodies to dsDNA positive sera were further checked onto sensitized plates treated for 1 h at 37°C with S1 nuclease (500 UI/ml) (Sigma Chem. Co., St. Louis, USA) prior to the addition of serum samples¹⁶.

2.3. Statistical analysis

Results are presented as the mean \pm standard deviation (SD) for continuous and number (%) for categorical variables. Data were compared by t test, Mann–Whitney U tests or Wilcoxon rank sum tests in continuous variables to evaluate differences among groups. For categorical variables differences were assessed by Pearson Chi-Square or Fisher's Exact Test. Renal survival analysis – the length of time to ESRD or renal related death – and overall patient survival was performed using Kaplan–Meier procedure, and log-rank test statistics. Statistical significance was set as $p < 0.05$.

3. RESULTS

Sixty SLE patients with nephritis were evaluated according to the inclusion and exclusion criteria. The frequency of anti-P anytime during follow-up in renal flares was 18% (n = 11) comprising the anti-P+/anti-dsDNA- group. The remaining 49 patients (anti-P- group) were persistently negative for this antibody during the entire follow-up.

At the time of biopsy, demographic evaluation of SLE patients with and without anti-P antibodies revealed a similar female gender (p = 0.58) and white race (p = 0.74) distribution (Table 1). The mean age at biopsy was also alike in both groups (p=0.86). In addition, patients with and without anti-P antibodies had a comparable mean duration of renal disease (2.4 ± 4.9 vs. 1.7 ± 2.7 years, p = 0.57) in spite of a longer duration of lupus (6.4 ± 6.9 vs. 2.8 ± 3.5 years, p = 0.048) (Table 1). Anti-P+/anti-dsDNA- patients had a significant lower creatinine levels compared to anti-P negative patients (1.0 ± 0.3 vs. 2.3 ± 1.6 mg/dl, p=0.001), whereas proteinuria levels and SLEDAI scores were similar among groups (5.9 ± 3.1 vs. 6.0 ± 5.9 g/24h, p = 0.30 and 10.4 ± 3.9 vs. 9.0 ± 4.3 , p = 0.16; respectively). The frequency of proliferative lesions at biopsy was higher in patients with anti-P negative group compared to the other group (82% vs. 45%, p = 0.021). Moreover, the frequency of class V nephritis was higher in anti-P+/anti-dsDNA- group (91% vs. 31%, p<0.001) whereas the frequency of class IV was lower compared to the anti-P- (18% vs. 67%, p=0.005) (Table 1).

The post-biopsy follow-up analysis demonstrated that both groups had a similar period of observation until 2008 (6.3 ± 2.5 vs. 6.8 ± 2.4 years,

p=0.36). The renal assessment at this last follow-up revealed a higher frequency of normal renal function in the anti-P+/ anti-dsDNA- group (91% vs. 53%, p=0.037) and a trend of lower mean creatinine levels (0.9 ± 0.3 vs. 2.3 ± 2.1 mg/dl, p = 0.072). Reinforcing this finding, none of the anti-P+/anti-dsDNA- patients underwent dialysis while more than a third of the anti-P- required this treatment (0% vs. 35%, p=0.025) (Table 1). No significant differences were detected among anti-P+/anti-dsDNA- and anti-P- regarding treatment with cyclophosphamide (54% vs. 69%, p=0.48) or mycophenolate mofetil (27% vs. 8%, p=0.10). The overall renal survival from disease diagnosis was significantly longer in anti-P+/ anti-dsDNA- patients compared to other group (11.0 ± 4.5 vs. 9.2 ± 4.5 years, p=0.033) (Fig. 1) in spite of a comparable overall lupus survival from diagnosis in both groups (13.6 ± 6.1 vs. 11.5 ± 4.6 years, p=0.23) (Table 1).

The comparison of anti-P+/anti-dsDNA- patients with the 28 patients with positive anti-dsDNA and negative for anti-P disclosed that the former had at the final follow-up lower creatinine levels (0.9 ± 0.3 vs. 2.6 ± 2.3 mg/dl, p = 0.037), higher frequency of normal renal function (91% vs. 43%, p = 0.001), lower frequency of dialysis (0% vs. 43%, p = 0.009) (Table 2), and longer overall renal survival (11.0 ± 4.5 vs. 8.7 ± 4.7 years, p = 0.017) (Fig. 1).

The subsequent analysis of anti-P+/anti-dsDNA- patients and 21 patients double negative (absence of anti-P and anti-dsDNA) revealed a lower creatinine levels at the time of biopsy (1.0 ± 0.3 vs. 2.1 ± 1.7 mg/dl, p = 0.008) and a tendency of higher overall renal survival (11.0 ± 4.5 vs. $9.8 \pm$

4.3 years, $p = 0.09$) in the former group (Fig. 1).

The cumulative renal survival was significantly better in patients with anti-P+/anti-dsDNA- compared to patients without this antibody ($p=0.033$), patients with anti-dsDNA/anti-P- ($p=0.017$) and a tendency in patients with double negative antibodies (anti-P/anti-dsDNA-) ($p=0.09$) (Fig. 1).

4. DISCUSSION

This is the first study to identify anti-ribosomal P antibodies as a possible surrogate marker of a better long-term renal lupus survival.

The long-term follow-up using chronic renal impairment parameters is the foremost strength of the present report since these measures are accepted as a more relevant outcome assessment for lupus glomerulonephritis than short-term evaluations as demonstrated in the original National Institute of Health trials for renal involvement in lupus¹⁷. The comparable distribution among groups regarding gender is another important aspect since data accumulated during the years provided substantial evidence that sex hormones influence B cells maturation and selection²⁵ and may account for more severe lupus nephritis in male patients²⁶. Likewise, the balanced distribution of race minimized the previously described impact of race/ethnicity on SLE severity²⁷.

The frequency of anti-P observed herein is similar to our previous report¹⁶ and lower than that observed in children²⁸, oriental^{29,30}, and African American SLE populations³⁰. Of note, all patients positive for anti-P had this reactivity at renal flares, reinforcing previous finding that this antibody is associated with active disease^{4-7,29}.

The comparable renal disease duration is a relevant issue taking into consideration the accrual damage over time³¹ since it allowed a similar exposure period for patients with isolated anti-P (anti-P+/ anti-dsDNA-) and those without this antibody. Likewise the duration of the follow-up post-biopsy was also equivalent in both groups and revealed that renal parameters were

significantly better in patients with isolated anti-P (anti-P+/anti-dsDNA-). At the final evaluation, the great majority had normal function and none underwent dialysis.

Reinforcing these findings patients with single anti-P antibodies (anti-P+/anti-dsDNA-) during renal flare compared to those with isolated anti-dsDNA (anti-dsDNA+/anti-P-) have an even more impressive better renal outcome. Indeed, we have confirmed that anti-dsDNA antibody is able to discriminate lupus renal severity at biopsy and a worse long-term outcome [1]. Treatment did not influence these findings since no difference was detected among groups. On the other hand we have demonstrated that the good prognosis associated with isolated anti-P (anti-P+/anti-dsDNA-) is not simply related to the absence of anti-dsDNA, since the group of patients double negative (anti-P-/anti-dsDNA-) had also a tendency of worse renal survival than patients with isolated anti-P (anti-P+/anti-dsDNA-).

A protective role for autoantibodies in the pathogenesis of lupus nephritis has rarely been reported in the literature and is restricted to a few studies suggesting that the presence of rheumatoid factor was associated to the formation of more heavily sedimenting immune precipitates which would be less likely to deposit in the renal glomeruli but these data remain controversial^{32,33}. In the present study, patients with isolated anti-P (anti-P+/anti-dsDNA-) were selected for renal involvement excluding therefore any consideration regarding a protective effect.

In our previous observation that single anti-P antibodies reactivity was associated with 2004 ISN-RSP class V histological pattern might suggest

that the most likely explanation for the good outcome observed herein was merely the low frequency of progression to end-stage renal disease observed in patients with membranous lupus nephritis^{34,35}. On the contrary, approximately half of the patients displayed class V as an additional diagnosis in the setting of lupus nephritis class III or IV. In fact, the presence of endocapillary involvement at biopsy did not fully predict the long-term outcome.

We have confirmed that serum creatinine at biopsy is a significant risk factor for end-stage renal failure^{1,36,37} but anti-P was even more accurate to identify the more favorable prognosis, since among the three anti-P+/anti-dsDNA- patients with high creatinine levels at biopsy, two improved to normal renal function and one remained stable. In any case, isolated anti-P (anti-P+/anti-dsDNA-) at biopsy in patients persistently negative for anti-dsDNA seemed to constitute a relevant parameter of excellent renal survival.

5. CONCLUSION

Our data supports the notion that anti-P antibody in the absence of anti-dsDNA during nephritis flares is a valuable marker to predict a better long-term renal outcome in lupus patients.

Table 1

Demographics, clinical findings and follow-up of 60 lupus nephritis patients with and without anti-P antibodies.

	Anti-P+/anti-dsDNA- (n = 11)	Anti-P- (n = 49)	P
At biopsy			
Female, n(%)	11 (100)	43 (88)	0.58
White, n(%)	6 (54)	30 (61)	0.74
Age, years	31.8 ± 10.0	32.1 ± 10.3	0.86
SLE Disease duration, years	6.4 ± 6.9	2.8 ± 3.5	0.048
Renal disease duration, years	2.4 ± 4.9	1.7 ± 2.7	0.57
Creatinine, mg/dl	1.0 ± 0.3	2.3 ± 1.6	0.001
Proteinuria, g/24 h	5.9 ± 3.1	6.0 ± 5.9	0.30
Class IV, n(%)	2 (18)	33 (67)	0.005
Class V, n(%)	10 (91)	15 (31)	<0.001
Proliferative lesions, n(%)	5 (45)	40 (82)	0.021
SLEDAI	10.4 ± 3.9	9.0 ± 4.3	0.16
At follow-up			
Period of follow-up, years	6.3 ± 2.5	6.8 ± 2.4	0.36
Normal renal function, n(%)	10 (91)	26 (53)	0.037
Final creatinine, mg/dl	0.9 ± 0.3	2.3 ± 2.1	0.07
Dialysis, n(%)	0 (0)	17 (35)	0.025
Final proteinuria, g/24 h	1.0 ± 1.6	2.5 ± 4.5	0.11
Overall survival, years	13.6 ± 6.1	11.5 ± 4.5	0.23
Renal survival, years	11.0 ± 4.5	9.2 ± 4.5	0.033
Renal related death, n(%)	0 (0)	6 (12)	0.58

Values are expressed in mean ± SD or percentage.

Table 2

Demographics, clinical findings, and follow-up in patients with isolated anti-P and anti-dsDNA antibodies.

	Anti-P+/anti-dsDNA- (n = 11)	Anti-dsDNA+/anti-P- (n = 28)	P
At biopsy			
Female, n(%)	11 (100)	24 (86)	0.31
White, n(%)	6 (54)	16 (57)	1.00
Age, years	31.8 ± 10.0	30.7 ± 8.5	0.54
SLE disease duration, years	6.4 ± 6.9	2.6 ± 2.9	0.09
Renal disease duration, years	2.4 ± 4.9	1.8 ± 2.6	0.86
Creatinine, mg/dl	1.0 ± 0.3	2.4 ± 1.6	0.001
Proteinuria, g/24 h	5.9 ± 3.1	5.1 ± 4.3	0.18
Class IV, n(%)	2 (18)	20 (71)	0.004
Class V, n(%)	10 (91)	8 (29)	0.001
Proliferative lesions, n(%)	5 (45)	24 (83)	0.017
SLEDAI	10.4 ± 3.9	9.6 ± 4.6	0.41
At follow-up			
Period of follow-up, years	6.3 ± 2.5	6.7 ± 2.7	0.41
Normal renal function, n(%)	10 (91)	12 (43)	0.001
Final creatinine, mg/dl	0.9 ± 0.3	2.6 ± 2.3	0.037
Dialysis, n(%)	0 (0)	12 (43)	0.009
Final proteinuria, g/24 h	1.0 ± 1.6	2.4 ± 4.5	0.11
Overall survival, years	13.6 ± 6.1	11.0 ± 4.6	0.20
Renal survival, years	11.0 ± 4.5	8.7 ± 4.7	0.017
Renal related death, n(%)	0 (0)	4 (14)	0.31

Values are expressed in mean ± SD or percentage.

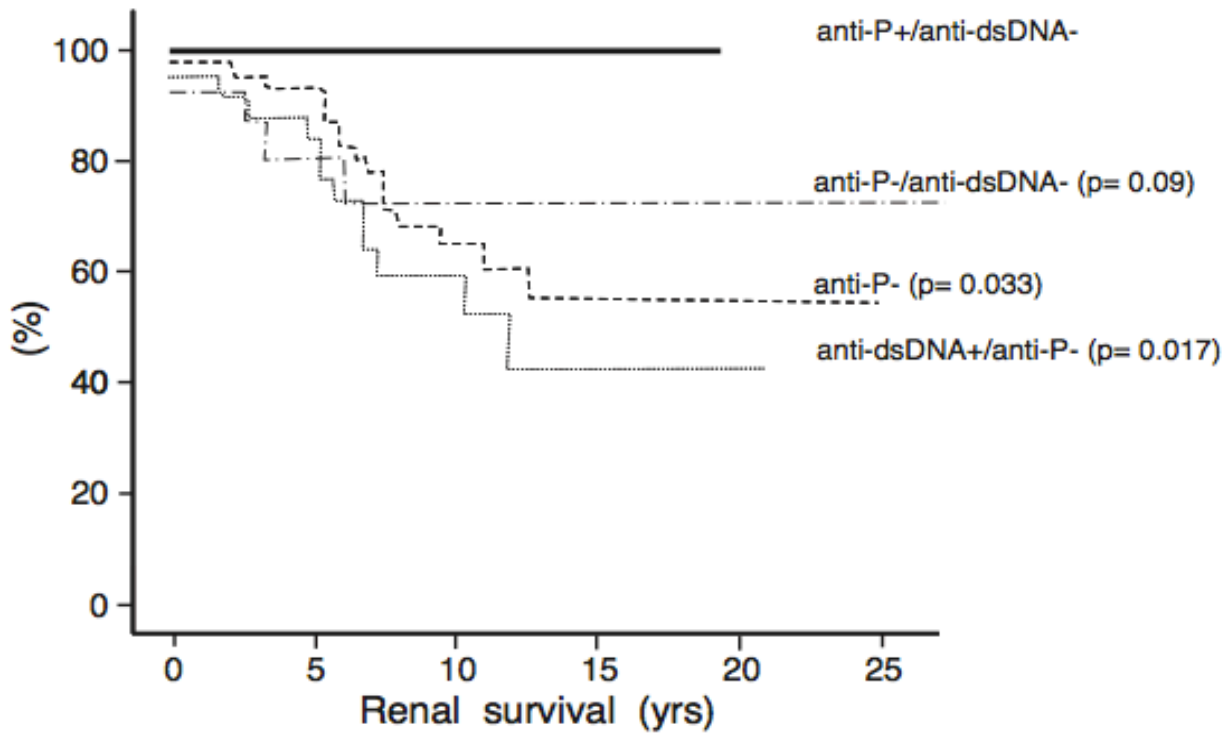


Fig. 1. Renal survival of SLE patients. Kaplan-Meier analysis of renal related death as the end point. Comparison of anti-P+/anti-dsDNA- with: anti-P- ($p = 0.033$); anti-dsDNA+/anti-P- ($p = 0.017$); anti-P-/anti-dsDNA- ($p = 0.09$).

6. REFERENCES

- [1] Dooley MA. Clinical and laboratory features of lupus nephritis. In: Wallace DJ, Hahn BH, editors. *Dubois' Lupus Erythematosus*. 7th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2007. p. 1112–30. chapter 56.
- [2] Toubi E, Shoenfeld Y. Clinical and biological aspects of anti-P-ribosomal protein autoantibodies. *Autoimmun Rev* 2007;6(3):119–25.
- [3] Kiss E, Shoenfeld Y. Are anti-ribosomal P protein antibodies relevant in systemic lupus erythematosus? *Clin Rev Allergy Immunol* 2007;32(1):37–46.
- [4] Martin AL, Reichlin M. Fluctuations of antibody to ribosomal P proteins correlate with appearance and remission of nephritis in SLE. *Lupus* 1996;5:22–9.
- [5] Chindalore V, Neas B, Reichlin M. The association between anti-ribosomal P antibodies and active nephritis in systemic lupus erythematosus. *Clin Immunol Immunopathol* 1998;87:292–6.
- [6] Reichlin M, Wolfson-Reichlin M. Evidence for the participation of anti-ribosomal P antibodies in lupus nephritis. *Arthritis Rheum* 1999;42:2728–9.
- [7] Reichlin M, Broyles TF, Hubscher O, James J, Lehman TA, Palermo R. Prevalence of autoantibodies to ribosomal P proteins in juvenile-onset systemic lupus erythematosus compared with the adult disease. *Arthritis Rheum* 1999;42(1):69–75.
- [8] Bonfa E, Golombek SJ, Kaufman LD, Skelly S, Weissbach H, Brot N, et al. Association between lupus psychosis and anti-ribosomal P protein

- antibodies. *N Engl J Med* 1987; 317(5): 265–71.
- [9] Tzioufas AG, Tzortzakis NG, Panou-Pomonis E, Boki KA, Sakarellos-Daitsiotis M, Sakarellos C, et al. The clinical relevance of antibodies to ribosomal-P common epitope in two targeted systemic lupus erythematosus populations: a large cohort of consecutive patients and patients with active central nervous system disease. *Ann Rheum Dis* 2000;59(2):99–104.
- [10] Massardo L, Burgos P, Martínez ME, Pérez R, Calvo M, Barros J, et al. Antiribosomal P protein antibodies in Chilean SLE patients: no association with renal disease. *Lupus* 2002;11(6):379–83.
- [11] Gerli R, Caponi L, Tincani A, Scorza R, Sabbadini MG, Danieli MG, et al. Clinical and serological associations of ribosomal P autoantibodies in systemic lupus erythematosus: prospective evaluation in a large cohort of Italian patients. *Rheumatology (Oxford)* 2002;41(12):1357–66.
- [12] Haddouk S, Marzouk S, Jallouli M, Fourati H, Frigui M, Hmida YB, et al. Clinical and diagnostic value of ribosomal P autoantibodies in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)* 2009; 48(8): 953–7.
- [13] Reichlin M, Wolfson-Reichlin M. Correlations of anti-dsDNA and anti-ribosomal P autoantibodies with lupus nephritis. *Clin Immunol* 2003; 108:69–72.
- [14] Reichlin M. Serological correlations with nephritis in systemic lupus erythematosus. *Clin Immunol* 2005; 117:12–4.
- [15] Quintana G, Coral-Alvarado P, Aroca G, Patarroyo PM, Chalem P, Iglesias-Gamarra A, et al. Single anti-P ribosomal antibodies are not

- associated with lupus nephritis in patients suffering from active systemic lupus erythematosus. *Autoimmun Rev* 2010; 9(11): 750–5.
- [16] do Nascimento AP, Viana V dos S, Testagrossa LdeA, Leon EP, Borba EF, Barros RT, et al. Antibodies to ribosomal P proteins: a potential serologic marker for lupus membranous glomerulonephritis. *Arthritis Rheum* 2006;54:1568–72.
- [17] Boumpas DT, Austin III HA, Vaughn EM, Klippel JH, Steinberg AD, Yarboro CH, et al. Controlled trial of pulse methylprednisolone versus two regimens of pulse cyclophosphamide in severe lupus nephritis. *Lancet* 1992; 340(8822): 741–5.
- [18] Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 1725.
- [19] Weening JJ, D'Agati VD, Schwartz MM, Seshan SV, Alpers CE, Appel GB, et al. The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15:241–50.
- [20] Weening JJ, D'Agati VD, Schwartz MM, Seshan SV, Alpers CE, Appel GB, et al. The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited. *Kidney Int* 2004; 65:521–30.
- [21] Bombardier C, Gladman DD, Urowitz MB, Caron D, Chang CH, the committee on prognosis studies in SLE. Derivation of the SLEDAI. A disease activity index for lupus patients. *Arthritis Rheum* 1992; 35:630–40.
- [22] 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.

- [23] Gordon TP, Jovanovich SA, Sykes P, Bradley J, Roberts-Thomson PJ. Detection of autoantibodies to ribosomal P protein using recombinant autoantigen in a quantitative immunoassay. *Rheumatol Int* 1990; 10:99–102.
- [24] Aarden LA, de Groot ER, Feltkamp TE. Immunology of DNA. III. *Crithidia lucilliae*, a simple substrate for the determination of anti-dsDNA with the immunofluorescence technique. *Ann NY Acad Sci* 1975; 254:505–15.
- [25] Cohen-Solal JF, Jeganathan V, Hill L, Kawabata D, Rodriguez-Pinto D, Grimaldi C, et al. Hormonal regulation of B-cell function and systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2008; 17:528–32.
- [26] de Carvalho JF, do Nascimento AP, Testagrossa LA, Barros RT, Bonfá E. Male gender results in more severe lupus nephritis. *Rheumatol Int* 2010;30:1311–5.
- [27] Crosslin KL, Wiginton KL. The impact of race and ethnicity on disease severity in systemic lupus erythematosus. *Ethn Dis* 2009;19:301–7.
- [28] Sato T, Uchiumi T, Ozawa T, Kikuchi M, Nakano M, Kominami R, et al. Autoantibodies against ribosomal proteins found with high frequency in patients with systemic lupus erythematosus with active disease. *J Rheumatol* 1991;18: 1681–4.
- [29] Arnett FC, Reveille JD, Moutsopoulos HM, Georgescu L, Elkon KB. Ribosomal P autoantibodies in systemic lupus erythematosus.

- Frequencies in different ethnic groups and clinical and immunogenetic associations. *Arthritis Rheum* 1996;39: 1833-9.
- [30] Heinlen LD, Ritterhouse LL, McClain MT, Keith MP, Neas BR, Harley JB, et al. Ribosomal P autoantibodies are present before SLE onset and are directed against non-C-terminal peptides. *J Mol Med* 2010; 88(7): 719–27.
- [31] Chambers SA, Allen E, Rahman A, Isenberg D. Damage and mortality in a group of British patients with systemic lupus erythematosus followed up for over 10 years. *Rheumatology (Oxford)* 2009; 48:673–5.
- [32] Tarkowski A, Westberg G. Rheumatoid factor isotypes and renal disease in systemic lupus erythematosus. *Scand J Rheumatol* 1987; 16:309–12.
- [33] Turner-Stokes L, Jones M, Addison I, Mansell M, Isenberg DA. Does rheumatoid factor protect lupus patients from the development of nephritis? *Ann Rheum Dis* 1989;48:14–6.
- [34] Huong DL, Papo T, Beaufils H, Wechsler B, Bletry O, Baumelou A, et al. Renal involvement in systemic lupus erythematosus. A study of 180 patients from a single center. *Medicine (Baltimore)* 1999; 78:148–66.
- [35] Mok CC. Prognostic factors in lupus nephritis. *Lupus* 2005;14:39–44.
- [36] Donadio Jr JV, Hart GM, Bergstralh EJ, Holley KE. Prognostic determinants in lupus nephritis: a long-term clinicopathologic study. *Lupus* 1995; 4:109–15.
- [37] Korbet SM, Lewis EJ, Schartz MM, Reichlin M, Evans J, Rohde RD. Factors predictive of outcome in severe lupus nephritis. Lupus Nephritis Collaborative Study Group. *Am J Kidney Dis* 2000;35:904–14.