

LAVORO ORIGINALE

Outcome a lungo termine di pazienti con glomerulonefrite lupica proliferativa diffusa trattati con boli di steroidi e un breve ciclo di ciclofosfamide*

Long term outcome of treatment of diffuse proliferative glomerulonephritis with pulse steroids and short course pulse cyclophosphamide

C. Tani, M. Mosca, A. d'Ascanio, R. Neri, A. Tavoni, L. Carli, S. Bombardieri

U.O. di Reumatologica, Dipartimento di Medicina Interna, Università degli Studi di Pisa

SUMMARY

Objectives: To evaluate the long-term outcome of a group of systemic lupus erythematosus (SLE) patients with diffuse proliferative glomerulonephritis (DPGN) treated with pulse steroids and a short course of pulse cyclophosphamide (Cyc) in order to find out baseline predictor variables of disease outcome at the end of the follow-up.

Methods: Female SLE patients fulfilling ACR criteria with active DPGN treated with pulse steroids and pulse Cyc were enrolled in the study and retrospectively analyzed with particular interest to renal flares and poor renal outcome at the end of follow-up as outcome measures.

Results: 30 female patients with DPGN were included, of these 20 (66,7%) patients are actually in follow-up at our unit, 4 (13,3%) died and 6 (20%) were lost during the follow-up. Fourteen patients (46,6%) presented at least one renal flare (RF) during the follow up for a total of 21 flares. At our last observation, 18 (60%) presented a good renal outcome while 12 (40%) had a poor outcome. Lower age at kidney biopsy resulted an important prognostic factor for the occurrence of both RF and poor long-term renal outcome; additionally, a poor renal outcome resulted significantly correlated with an inadequate response at the end of the protocol and with the number of renal flares after remission.

Conclusions: These data suggest that, in general, a short course therapy with Cyc might be effective in controlling disease activity but demonstrated high rate of RF and poor renal outcome over time; however, this protocol might represent an effective therapeutic strategy in a subgroup of patients with specific epidemiological and clinical characteristics and suggest the possibility of tailoring immunosuppressive therapy on the basis of prognostic factor at baseline.

Reumatismo, 2010; 62(3):215-220

INTRODUZIONE

L'interessamento renale è frequente in corso di lupus eritematoso sistemico (LES) e ne condiziona la prognosi sia in termini di morbilità che di mortalità (1). Corticosteroidi ad alte dosi ed immunosoppressori (in particolare la ciclofosfamide) sono attualmente considerati il trattamento di scel-

ta per l'induzione della remissione in pazienti con glomerulonefrite lupica proliferativa (GNPD). Tuttavia, rimangono da chiarire molti aspetti sulla strategia terapeutica ottimale sia in termini di efficacia che di tollerabilità. Infatti, l'*outcome* a lungo termine rimane tutt'oggi gravato da possibili riacutizzazioni della malattia renale dopo il raggiungimento della remissione clinica, con frequenza variabile dal 38 fino ad oltre il 60% dei casi negli studi osservazionali di maggiore durata (2-5) e da insufficienza renale terminale con frequenza che varia dal 6 ad oltre il 20% a seconda degli studi (2, 6, 7).

D'altro lato, è noto che una terapia prolungata con farmaci immunosoppressori, in particolar modo la ciclofosfamide (Cyc), può associarsi a tossicità anche gravi quali l'insorgenza di neoplasie (descritta nel 4-15% dei casi) ed insufficienza gonadica

*Lavoro premiato al XLVI Congresso SIR, Rimini 2009.

Indirizzo per la corrispondenza:

Dott.ssa Chiara Tani
U.O. Reumatologia
Dipartimento di Medicina Interna
Università di Pisa
Via Roma, 67 - 56126 Pisa
E-mail: Chiaratani78@gmail.com

(20-50%) secondo una modalità fortemente dose-dipendente (8-11).

Idealmente, la terapia della GNPD dovrebbe ridurre la mortalità a breve e lungo termine e l'incidenza di insufficienza renale terminale (ESRD), garantire un rapido controllo dell'attività di malattia, prevenire l'insorgenza delle riacutizzazioni renali (RR) ed essere ben tollerata.

Sulla base di queste considerazioni, risulta estremamente importante un monitoraggio prolungato nel tempo di tali pazienti per una corretta valutazione del rapporto rischio-beneficio delle diverse strategie terapeutiche attualmente disponibili.

Nel 2001 il nostro gruppo ha pubblicato i risultati di uno studio osservazionale condotto su 33 pazienti affette da GNPD in fase di attività trattate con corticosteroidi in bolo associati ad un breve ciclo di Cyc e.v. Dopo un periodo di osservazione medio di 51 mesi, tale protocollo terapeutico risultava efficace nell'indurre la remissione della malattia renale e nella prevenzione delle riacutizzazioni in particolare in un sottogruppo di pazienti con età più elevata e/o bassi indici istologici di attività alla biopsia renale (12).

Nel presente studio, abbiamo esteso il periodo di osservazione della coorte originaria di pazienti con GNPD con lo scopo di valutare la prognosi a lungo termine (dopo oltre 10 anni di follow-up), l'incidenza cumulativa di riacutizzazioni renali (RR) e le variabili predittive della prognosi a lungo termine.

METODI

Pazienti e protocollo terapeutico

Nel presente studio osservazionale sono state incluse pazienti di sesso femminile con diagnosi di LES secondo i criteri classificativi ACR del 1997 seguite presso la Unità Operativa di Reumatologia

del Dipartimento di Medicina Interna, Università degli studi di Pisa. Criteri di inclusione nello studio sono stati la presenza di una DPGN (criteri classificativi WHO) attiva dimostrata mediante biopsia renale e trattata con un protocollo terapeutico basato su steroidi in boli e.v. (6- metilprednisolone 1 g per 3 giorni consecutivi) seguiti da rapido decalage in associazione con Cyc e.v. in boli di 0,750 mg/m² a distanza di due settimane per le prime due somministrazioni e, successivamente, a cadenza mensile fino ad un totale di 6 boli (Fig. 1); sulla base del giudizio clinico, quattro pazienti sono state trattate con boli aggiuntivi di Cyc a cadenza trimestrale fino ad un massimo di 9 infusioni totali (12).

Misure di outcome

In accordo con i criteri di risposta proposti in letteratura (13-15) per la valutazione dell'efficacia del protocollo terapeutico, sono state prese in considerazione le seguenti misure di *outcome*:

- Risposta completa (RC): sedimento urinario inattivo, diminuzione della proteinuria delle 24 ore fino a valori $\leq 0,2$ g/24 h e normale o stabile funzione renale (≥ 81 mL/min).
- Risposta parziale (RP): sedimento urinario inattivo, proteinuria $\leq 0,5$ g/24 h, funzione renale normale o stabile.
- Riacutizzazioni renali (RR): aumento di almeno il 50% di almeno due dei seguenti parametri: eritrociti dismorfici nel sedimento, cilindri cellulari, proteinuria, creatinina.
- Cattivo outcome renale (COR): insufficienza renale cronica (raddoppio della creatininemia per almeno 6 mesi con valori di creatininemia di almeno 2 mg/dl e clearance creatinina < 40 ml/min senza alcun miglioramento nel tempo).
- Morte o necessità di dialisi (ESRD)

Sono state prese in considerazione le seguenti va-

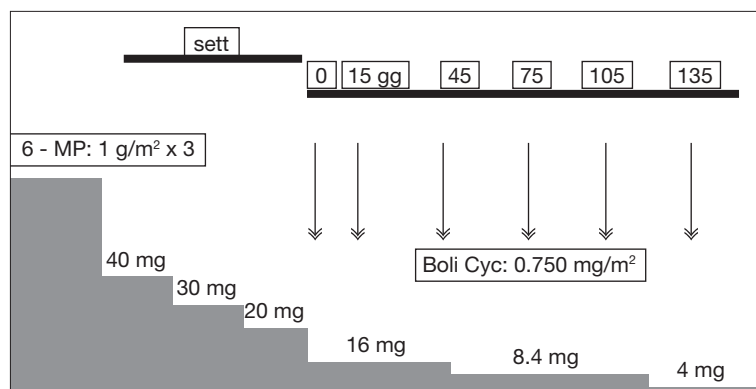


Figura 1 - Schema terapeutico adottato nello studio.

riabili come possibili fattori predittivi delle riacutizzazioni e dell'outcome renale a lungo termine: età alla biopsia renale, indici istologici di attività e di cronicità alla biopsia renale, risposta alla terapia di induzione, numero di riacutizzazioni renali.

Per la definizione istopatologica degli indici di attività e di cronicità alla biopsia renale è stato fatto riferimento alla classificazione NIH (13).

Analisi statistica

L'analisi statistica è stata condotta con il χ^2 test e il test di Fisher per le variabili categoriche e con il T-test per le variabili continue rispettivamente.

I risultati sono riportati come media e DS e un $P < 0,05$ è stato considerato statisticamente significativo.

RISULTATI

Trenta pazienti con DPGN sono risultate eleggibili per lo studio di cui 20 (66,7%) attualmente in osservazione presso il nostro centro; si sono registrati inoltre 4 decessi (13,3%) e 6 pazienti sono state perse durante il follow-up (20%).

Globalmente, il periodo di osservazione medio dalla fine del protocollo terapeutico di induzione della remissione è risultato di 118 mesi (20-187).

Le caratteristiche epidemiologiche e cliniche basali delle pazienti in studio sono riassunte in tabella I. Brevemente, l'età media al momento della biopsia renale è risultata di 32 anni, 10 pazienti presentavano una elevazione dei valori di creatinemia (33%), tutte presentavano anomalie del sedimento e la proteinuria delle 24 ore media è risultata di 3,2 g. Dal punto di vista istologico, gli indici medi di attività e di cronicità sono risultati rispettivamente di 9 (3-19) e 1 (0-7).

Alla fine del protocollo terapeutico di induzione, 19 pazienti (63%) hanno presentato una risposta clinica (completa in 11 casi- 36,6%; parziale in 8- 26,4%) mentre 11 pazienti (37%) sono stati considerati "non responders".

Tabella I - caratteristiche cliniche basali della popolazione in studio.

Numero di pz arruolati	30
Donne (%)	100%
Età alla biopsia (media, anni)	32
Durata del follow-up (mesi)	118
ECLAM (media)	6 (3-9)
Indice di attività (media)	9 (3-19)
Indice di cronicità (media)	1 (0-7)
Pz con elevazione della creatinina (%)	33%
Pz con anomalie del sedimento (%)	100%
Proteinuria (media) (g/24h)	3,2 (0,5-10)

Nel periodo di osservazione, sono state registrate RR in 14 pazienti (46,6%) per un totale di 21 RR e 5 pazienti hanno presentato più di una riacutizzazione (16,6%); l'intervallo di tempo tra fine protocollo e prima riacutizzazione è risultato in media di 30,3 mesi (min 6- max 72). L'estensione del follow-up, rispetto alla precedente osservazione, ha consentito di registrare 4 ulteriori RR, di questi uno in una paziente mai riacutizzata prima (dopo 72 mesi di follow-up).

Abbiamo osservato una associazione statisticamente significativa tra incidenza di RR e giovane età alla biopsia renale (< 25 anni; $P = 0,036$); inoltre, l'indice di attività tendeva ad essere più elevato nei soggetti con riacutizzazioni, anche se tale differenza non ha raggiunto un livello di significatività statistica (10,3 vs 8,4 $p = n.s.$).

Per quanto concerne l'outcome finale, 12 pazienti (40%) hanno presentato un cattivo outcome renale alla ultima osservazione e, di questi, 8 (66,6%) si trovavano in ESRD.

L'intervallo di tempo medio tra esordio e COR è risultato di 51,6 mesi (14- 66) e, anche in questo caso, l'estensione del precedente periodo di osservazione ha consentito di registrare un COR in 2 ulteriori pazienti.

Abbiamo osservato una significativa correlazione tra COR e giovane età alla biopsia renale ($p = 0,03$), presenza di remissione parziale o assente alla fine del protocollo terapeutico ($p = 0,01$) e numero cu-

Tabella II - Caratteristiche cliniche dei pazienti in base all'outcome finale.

	Buon Outcome	Cattivo Outcome	p
Pazienti	18/30	12/30	
Età media alla biopsia	35,8	29,6	$< 0,05$
Indice Istologico di attività (medio)	9,25	9,36	n.s.
Indice istologico di cronicità (medio)	0,5	2,2	n.s.
Risposta parziale o no risposta alla terapia di induzione	44%	91,6%	0,01
Numero di RR (medio)	0,5	1,5	$< 0,05$

mulativo di RR ($p=0,03$). Da notare, inoltre che, seppur in modo non statisticamente significativo, un COR tendeva ad associarsi ad indici istologici di cronicità alla biopsia renale più alti ($p=n.s.$).

Infatti, se andiamo a confrontare le pazienti che hanno avuto un buon *outcome* ($N=18$) con quelle che hanno avuto un cattivo *outcome* finale ($N=12$), si può osservare come le prime abbiano una età media maggiore (35,8 vs 29,6), abbiano un indice istologico medio di cronicità più basso (0,5 vs 2,2), abbiano risposto meglio alla terapia di induzione (44% di risposta parziale o assente vs 91,6%) e abbiano presentato un numero medio di riacutizzazioni minore nel corso del *follow-up* (0,5 vs 1,5) (Tab. I e Tab. II).

CONCLUSIONI

Nel presente studio abbiamo analizzato l'*outcome* a lungo termine di un gruppo di pazienti affette da LES con GNPD trattate con lo stesso regime terapeutico basato su corticosteroidi e boli di Cyc non seguiti da una terapia immunosoppressiva di mantenimento. Nel corso degli oltre 10 anni di osservazione, globalmente abbiamo osservato almeno una riacutizzazione renale nel 46% dei casi, per un totale di 21 *flares* e, all'ultima osservazione, il 40% delle pazienti presentava un cattivo *outcome* renale con il 26,6% in ESRD.

L'analisi cumulativa dei risultati non mostra dati incoraggianti sull'efficacia del protocollo terapeutico adottato sia per l'elevata frequenza di riacutizzazioni che per la cattiva prognosi a lungo termine cui sono andate incontro una percentuale non trascurabile di pazienti; tuttavia dall'analisi dei risultati emerge come tale schema terapeutico possa rappresentare una eventuale opzione terapeutica in un sottogruppo di pazienti in cui si è dimostrato efficace sia nel controllo dell'attività di malattia che nel mantenimento della funzione renale. Infatti, pazienti con età più elevata all'esordio della DPGN e con indici istologici di attività tendenzialmente più bassi hanno presentato una remissione duratura con bassa incidenza di riacutizzazioni renali e, per quanto riguarda l'*outcome* finale, pazienti con età maggiore alla biopsia, remissione completa alla fine del protocollo di induzione, bassa incidenza di riacutizzazioni renali durante il periodo di osservazione e indici istologici di cronicità tendenzialmente inferiori hanno dimostrato di avere una buona prognosi a lungo termine in termini di sopravvivenza e mantenimento della funzione renale.

La prevalenza di insufficienza renale terminale nei nostri pazienti si colloca sicuramente tra i valori più alti emersi dalle casistiche pubblicate negli ultimi anni con un periodo di osservazione paragonabile a quello del presente studio; infatti Moroni et al. hanno osservato la percentuale di ESRD più bassa

Tabella III - ESRD in studi pubblicati negli ultimi 5 anni con durata di follow-up >100 mesi.

Autore, anno	N pazienti	Istologia	Protocollo terapeutico	ESRD%
Chen YE, 2008	86	DPGN	GC+ Cyc orale ±plasma exchange	25,5%
Faurschou M, 2006	91	varia	GC+ diversi IS	17%
Houssian F, 2009	84	PGN	GC+ Cyc (alte o basse dosi)+ AZA	7,1%
Moroni G, 2007	93	PGN	GC± Cyc or Clorambucile+ AZA	6,4%
Presente studio	30	DPGN	GC+ Cyc basse dosi	26%

GC: corticosteroidi; Cyc: Ciclofosfamide; IS: immunosoppressori; AZA: Azatioprina; ESRD: insufficienza renale terminale; DPGN: glomerulonefrite proliferativa diffusa; PGN: glomerulonefrite proliferativa

Tabella IV - Riacutizzazioni renali riportate in letteratura.

Autore, anno	Durata del follow-up (mesi)	Protocollo terapeutico	Riacutizzazioni %	Risposta completa/parziale alla fine dell'induzione (%)
Moroni G, 2007	186	GC±Cyc or Clorambucile + AZA	64%	82/
Mosca M, 2000	120	GC+Cyc e.v.	54%	/
Illei GG, 2002	117	GC±Cyc	45%	50/13
Mok, 2004	96,5	GC+Cyc (orale o e.v.)	38%	55/28
Presente studio	DPGN	GC+Cyc basse dosi	46%	36,6/26,6

GC: corticosteroidi; Cyc: Ciclofosfamide; AZA: Azatioprina.

(6,4%) dopo 181 mesi di follow-up in una casistica di 93 pazienti con GNPD (2). Dall'altro estremo, Chen et al. hanno osservato una percentuale di ESRD paragonabile alla nostra (25,5%) dopo un analogo periodo di osservazione in pazienti con GNPD (7) (Tab. III).

Per quanto riguarda l'incidenza di riacutizzazioni renali, il nostro risultato si trova in linea con altri dati già pubblicati in letteratura su casistiche di pazienti sottoposti ad una terapia di induzione con corticosteroidi e Cyc (orale o in boli endovena) ed un analogo periodo di osservazione clinica (Tab. IV).

Inoltre, le variabili epidemiologiche (età), cliniche (numero di riacutizzazioni, risposta alla terapia di induzione) e istologiche (indici di attività e di cronicità) che nel nostro studio hanno dimostrato la maggiore capacità predittiva dell'*outcome* a lungo termine confermano quanto già evidenziato dal nostro gruppo e da altri studi in precedenti osservazioni (3, 7, 16, 17).

A differenza di quanto osservato in precedenti studi, l'estrema omogeneità del campione in studio rispetto ad alcune variabili demografiche (etnia, sesso, condizioni socio-economiche) e clinico-istologiche (anomalie del sedimento urinario, classe istologica, durata di malattia renale <6 mesi alla biopsia) non ha consentito la valutazione di tali variabili come possibili fattori prognostici.

D'altra parte, pur considerando i limiti di una osservazione retrospettiva condotta su un numero limitato di pazienti, la estrema omogeneità dei pa-

zienti arruolati rappresenta una caratteristica fondamentale di questo studio che offre l'occasione unica di una analisi priva di eventuali fattori confondenti legate a differenze di sesso, etnia, istologia renale e protocolli terapeutici che, invece, possono essere responsabili della estrema variabilità dei risultati forniti dai diversi studi.

Concludendo, anche nel nostro studio età d'esordio della GNPD, parametri istologici di attività e di cronicità, risposta alla terapia d'induzione, numero di riacutizzazioni si sono dimostrati importanti fattori prognostici per l'*outcome* a lungo termine; tali parametri ci hanno consentito di definire un sottogruppo di pazienti che hanno risposto allo schema terapeutico proposto con ciclofosfamide e nei quali è stato possibile sospendere la terapia immunosoppressiva.

D'altro canto, risulta che soggetti giovani all'esordio della malattia renale e con elevati indici istologici di attività e di cronicità alla biopsia renale rappresentano un altro sottogruppo di pazienti che, invece, risulta a maggior rischio di riacutizzazione e di prognosi infausta a lungo termine.

Per tale motivo, in questo secondo gruppo di pazienti dovrebbe trovare impiego un protocollo terapeutico più aggressivo che preveda una terapia immunosoppressiva prolungata e una fase di mantenimento con farmaci differenti dalla ciclofosfamide. In tale sottogruppo di pazienti la sospensione della terapia immunosoppressiva deve essere effettuata con cautela e dopo un tempo congruo dall'ottenimento della remissione.

RIASSUNTO

Nel presente studio abbiamo valutato l'*outcome* a lungo termine di un gruppo di pazienti affette da lupus eritematoso sistemico (LES) e impegno renale trattate con un protocollo terapeutico basato su corticosteroidi in boli e un ciclo breve di ciclofosfamide in boli ev non seguito da una terapia immunosoppressiva di mantenimento. Dopo un periodo di osservazione di oltre dieci anni, siamo andati a valutare l'incidenza di riacutizzazioni renali e di una cattiva prognosi renale risultate complessivamente rispettivamente del 46% e del 40%. Sono stati valutati fattori epidemiologici, clinici ed istologici presenti al basale predittivi di riacutizzazioni renali e di un cattivo *outcome* a lungo termine.

Parole chiave - Lupus eritematoso sistemico, glomerulonefrite proliferativa diffusa, ciclofosfamide.

Key words - *Systemic lupus erythematosus, diffuse proliferative glomerulonephritis, cyclophosphamide.*

BIBLIOGRAFIA

1. Ippolito A, Petri M. An update on mortality in systemic lupus erythematosus. Clin Exp Rheumatol 2008; 26(5 Suppl. 51): S72-9.
2. Moroni G, Quaglini S, Gallelli B, Banfi G, Messa P, Ponticelli C. The long-term outcome of 93 patients with proliferative lupus nephritis. Nephrol Dial Transplant 2007; 22: 2531-9.
3. Mosca M, Bencivelli W, Neri R, Pasquariello A, Batini V, Puccini R, et al. Renal flares in 91 SLE patients with diffuse proliferative glomerulonephritis. Kidney Int 2002; 61: 1502-9.
4. Illei GG, Takada K, Parkin D, Austin HA, Crane M,

- Yarboro CH, et al. Renal flares are common in patients with severe proliferative lupus nephritis treated with pulse immunosuppressive therapy: long-term followup of a cohort of 145 patients participating in randomized controlled studies. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 995-1002.
5. Mok CC, Ying KY, Tang S, Leung CY, Lee KW, Ng WL, et al. Predictors and outcome of renal flares after successful cyclophosphamide treatment for diffuse proliferative lupus glomerulonephritis. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 2559-68.
 6. Houssiau FA, Vasconcelos C, D'Cruz D, Sebastiani GD, de Ramon Garrido E, Danieli MG, 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: 61-4.
 7. Chen YE, Korbet SM, Katz RS, Schwartz MM, Lewis EJ; Collaborative Study Group. Value of a complete or partial remission in severe lupus nephritis. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008; 3: 46-53.
 8. Mok CC, Lau CS, Wong RWS. Risk factors for ovarian failure in patients with systemic lupus erythematosus receiving cyclophosphamide therapy. *Arthritis Rheum* 1998; 41: 831-7
 9. Ioannidis JPA, Katsifis GE, Tzioufas AG, Moutsopoulos HM. Predictors of sustained amenorrhea from pulsed intravenous cyclophosphamide in premenopausal women with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 2002; 29: 2129-35.
 10. Laskari K, Zintzaras E, Tzioufas A. Ovarian function is preserved in women with severe systemic lupus erythematosus after a 6-month course of cyclophosphamide followed by mycophenolate mofetil. *Clin Exp Rheumatol* 2010; 28: 83-6.
 11. Bernatsky S, Ramsey-Goldman R, Clarke AE. Malignancy in systemic lupus erythematosus: what have we learned? *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2009; 23: 539-47.
 12. Mosca M, Neri R, Giannesi S, Pasquariello A, Puccini R, Bencivelli W, Bombardieri S. Therapy with pulse methylprednisolone and short course pulse cyclophosphamide for diffuse proliferative glomerulonephritis. *Lupus* 2001; 10: 253-7.
 13. Austin HA 3rd, Muenz LR, Joyce KM, Antonovych TA, Kullick ME, Klippel JH, et al. Prognostic factors in lupus nephritis: contribution of renal histologic data. *Am J Med* 1983; 75: 382-91.
 14. 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.
 15. Gordon C, Jayne D, Pusey C, Adu D, Amoura Z, Aringer M, et al. European consensus statement on the terminology used in the management of lupus glomerulonephritis. *Lupus* 2009; 18: 257-63.
 16. 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: 1563-9.
 17. Austin HA 3rd, Muenz LR, Joyce KM, Antonovych TA, Kullick ME, Klippel JH, et al. Prognostic factors in lupus nephritis. Contribution of renal histologic data. *Am J Med* 1983; 75: 382-91.