

EL ROL DE LA BIOPSIA REPETIDA EN PACIENTES CON NEFRITIS LUPICA*THE REPEATED BIOPSY IN PATIENTS WITH LUPUS NEPHRITIS***Subils, Gisella; Alba, Paula; Gobbi, Carla; Astesana, Pablo; Babini, Alejandra; Albiero, Eduardo****Resumen**

Se estudiaron retrospectivamente pacientes con diagnóstico de lupus eritematoso sistémico (LES) de acuerdo a criterios ACR 1982, con nefritis lúpica (NL) durante el período comprendido desde 2005 al 2012 y que fueran sometidos a una biopsia renal repetida. El número total de pacientes con NL atendidos fue de 120, de los cuales 18 (15%) pacientes fueron sometidos a biopsia renal repetida, 18 con 2 biopsias renales y 6 con 3 biopsias. 3 (16,7%) de los pacientes fueron fumadores; 1 (5,6%) poseía antecedentes de DBT previa, 2 (11,1%) poseían antecedentes de HTA; y 3 (16,7%) pacientes tenían obesidad previa. El tiempo de diagnóstico de LES al momento del estudio fue de 96 meses \pm 15; el tiempo transcurrido entre la 1° y la 2° biopsia fue de 45 \pm 11 meses y el tiempo entre la 2° y 3° biopsia fue de 56 \pm 12 meses. Las indicaciones de la biopsia repetida fueron proteinuria en 10 biopsias (41,6%); proteinuria con alteración de la función renal en 2 biopsias (8,3%); proteinuria con sedimento patológico en 8 biopsias (33,3%); y proteinuria con sedimento patológico y alteración de la función renal en 4 biopsias (16,6%). Los cambios histológicos más frecuentes encontrados entre las primeras y las biopsias repetidas fueron: de clase IV a clase III: 2 (8,2%); clase IV a clase IV: 8 (33,3%), clase IV a clase III+V: 2 (8,2%); clase IV a clase IV+V: 3 (12,5%); clase IV a clase V: 2 (8,2%). Los cambios en las biopsias de NL proliferativas con índices de actividad y cronicidad (A/C) fueron: de A a A/C: 7 (29,1%), A/C a A/C: 7 (29,1%). La intensidad de la terapia inmunosupresora aumentó en 79,1%, se mantuvo el tratamiento inmunosupresor en 16,6%. Con respecto al cambio de medicación 7 (20%) pacientes recibieron Ciclofosfamida 1 gr cada 30 días, 9 (26%) Ciclofosfamida 500 mg cada 15 días, 8 (23%) tratamiento de reinducción con Micofenolato mofetil; Rituximab 8 (23%); y 3 (8%) Ciclosporina A. El tratamiento de mantenimiento se realizó con micofenolato mofetil en 23 casos (55%); con azatioprina en 11 (26%) casos; ciclosporina en 3 (7%) oportunidades y rituximab en 5 (12%). En todos los casos se utilizó hidroxicloroquina.

Summary

We retrospectively studied patients with SLE according to ACR criteria, with NL who underwent a repeat renal biopsy from 2005 to 2012. We analyzed the main indications of renal biopsies, the histopathological Class and activity and chronicity changes. **RESULTS** The total number of patients with NL was 120, of which 18 (15%) patients underwent repeat renal biopsy, 18 had 2 renal biopsies and 6 had 3 biopsies. 3 (16.7%) patients were smokers; 1 (5.6%) had a history of previous DBT, 2 (11.1%) had a history of hypertension; and 3 (16.7%) patients had previous obesity. The duration of SLE was 15 \pm 96 months; the time between the 1st and the 2nd biopsy was 45 \pm 11 months and the time between the 2nd and 3rd biopsy was 56 \pm 12 months. Indications for repeat biopsy were proteinuria in 10 biopsies (41.6%); proteinuria with impaired renal function in 2 biopsies (8.3%); proteinuria with pathological urine sediment in 8 (33.3%); and pathological proteinuria with pathological urine sediment and impaired renal function in 4 biopsies (16.6%) The most frequent histological changes found between first and repeat biopsies were class IV to class III: 2 (8.2%) ; Class IV to Class IV: 8 (33.3%), class IV to

Servicios de Reumatología del Hospital Córdoba, Sanatorio Allende y Hospital Italiano. Cátedra de Medicina I y II UHMI N 3 Hospital Córdoba. Universidad Nacional de Córdoba.

No hay conflicto de interés entre los autores
Mail de contacto: carlaandreaogobbi@hotmail.com

class III + V: 2 (8.2%); class IV to class IV + V 3 (12.5%); class IV to class V: 2 (8.2%). Changes in NL biopsies with proliferative activity and chronicity indices (A / C) were: A to A / C: 7 (29.1%), A / C to A / C: 7 (29.1%). The immunosuppressive therapy was increased in 79.1% and 16.6% remained without changes. 20% patients received cyclophosphamide 1 g every 30 days, 26% Cyclophosphamide 500 mg every 15 days, 23% induction therapy with mycophenolate mofetil; 23% with Rituximab; 8% Cyclosporin A. Maintenance therapy with mycophenolate mofetil was performed in 87.5%; azathioprine in 1 case. Hydroxychloroquine was used in all cases.

Introducción

El lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad autoinmune multisistémica con un amplio espectro de manifestaciones clínicas y con una etiopatogenia no completamente descrita y multifactorial.

La nefritis lúpica (NL) continúa siendo una complicación que ocurre en la mitad de pacientes lúpicos y un determinante mayor del pronóstico, llevando a enfermedad renal terminal en un 5 a 10 % de los pacientes a los 10 años. La supervivencia de pacientes con NL ha mejorado sustancialmente en las últimas décadas debido al incremento y mejoría en las opciones terapéuticas. Sin embargo, el tratamiento óptimo continúa siendo un desafío para el médico ⁴⁻⁸.

La biopsia renal es requerida para el diagnóstico preciso y la clasificación de la NL. La clasificación histológica fue introducida por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 1982 y revisada en el 2003 por la Sociedad Internacional de Nefrología (ISN) y la Sociedad de Patología Renal (RPS) ⁹.

Una de las complicaciones y uno de los factores pronósticos más importantes en la NL es la recaída o brote renal. Los pacientes que experimentan recaídas renales tienen siete veces más riesgo de enfermedad renal terminal y los brotes nefríticos conducen a un peor pronóstico ^{10,11}.

La biopsia renal es el "gold standard" en la evaluación basal de la enfermedad renal ya que nos informa acerca del examen morfológico y la infiltración celular inflamatoria, con estimación de actividad renal y como guía para el tratamiento ¹². Existen muchas clases histopatológicas de nefritis lúpica, cada una de las cuales tiene su diferente comportamiento clínico y probable inmunopatogénesis. La clase histopatológica de NL

puede variar de una a otra así como los índices de actividad y cronicidad durante una recaída de la enfermedad.

Recientemente, numerosas guías han recomendado la biopsia repetida en diferentes circunstancias como: aumento o reaparición de proteinuria, síndrome nefrótico o sedimento activo, elevación de la creatinina sérica o evolución inexplicada a la insuficiencia renal, refractariedad a los tratamientos inmunosupresores, evaluación del grado de actividad y cronicidad o sospecha de nefropatía no relacionada al lupus ^{13,14,15}. A pesar de que la biopsia repetida es de relevancia clínica en el manejo de NL, esta conducta es controvertida por algunos autores.

El objetivo de este estudio fue evaluar las indicaciones de la realización de la biopsia renal repetida, los cambios histopatológicos y el cambio de tratamiento efectuado en pacientes con NL.

Materiales y Metodos

Se estudiaron retrospectivamente pacientes con diagnóstico de LES de acuerdo a criterios ACR16 con NL diagnosticada por biopsia renal asistidos en la Unidad de Reumatología del Hospital Córdoba, Servicios de Reumatología del Sanatorio Allende y Hospital Italiano de Córdoba durante el período comprendido desde 2005 al 2012 que fueran sometidos a una biopsia renal repetida.

Los datos demográficos evaluados fueron: edad, sexo, etnicidad, antecedentes previos como diabetes, hipertensión arterial, dislipemias, tabaquismo y obesidad. Se recolectaron de las historias clínicas los datos de criterios de diagnóstico de LES, de presentación de enfermedad renal, datos de biopsia inicial y repetida y el tratamiento recibido. Los datos renales analizados fueron la presencia de hematuria microscópica, cuantificación de proteinuria de 24 hs, y el nivel de creatinina sérica. La detección de hematuria fue

realizada por análisis de dipstick (cinta reactiva) inicial seguido por la confirmación de la prueba microscópica con la presencia de hematíes dismórficos. El deterioro de la función renal se definió como un nivel de creatinina >1.5 mg/dl. La presencia de HTA fue definida cuando la presión arterial sistólica y diastólica fueran mayores de 140 mmHg y 90 mmHg respectivamente y una terapia antihipertensiva fuera instituida en el diagnóstico de la enfermedad renal. El pronóstico renal fue evaluado por el desarrollo de insuficiencia renal crónica definida por la duplicación del nivel de creatinina sobre el valor basal, el desarrollo de enfermedad renal terminal definida por la necesidad de diálisis o trasplante renal y muerte. Las indicaciones de la biopsia repetida analizadas fueron: aumento o persistencia de proteinuria, aumento de proteinuria y deterioro de la función renal, deterioro de la función renal, un aumento de proteinuria y exclusión de daño vascular.

La medición de anticuerpos antinucleares se realizó por inmunofluorescencia indirecta en HEp-2, los anticuerpos ds-DNA por método de Chritidia lucillae y los anticuerpos ENA (Sm, RNP, Ro, La) por CIE usando extractos de timo de rata y bazo bovino. Los resultados fueron considerados positivos si estos estuvieron presentes en algún momento del seguimiento de la enfermedad. La medición de Anticuerpos Ig G e Ig M se realizó acorde a una técnica estandarizada de Harris¹⁷. Los pacientes fueron considerados positivos cuando los resultados fueron positivos al menos en 2 oportunidades a títulos moderados o altos durante el seguimiento.

El tejido renal fue obtenido por biopsia percutánea y fueron procesados rutinariamente para microscopía óptica. Se realizaron tinciones con hematoxilina y eosina y ácido periódico de Schiff en cortes de 3 μ m, metenamina de plata (1 μ m), y tinción tricrómica de Masson.

Las biopsias renales fueron clasificadas de acuerdo a los criterios de clasificación de la glomerulonefritis lúpica ISN/RPS 20049. Los índices de actividad y cronicidad fueron estimados acorde al sistema modificado por Austin¹⁸.

Resultados

El número total de pacientes con NL atendidos en éstos Servicios fue de 120, de los cuales 18 (15%) pacientes fueron sometidos a biopsia renal repetida, 18 con 2 biopsias renales y 6 con 3 biopsias; un total de 24 biopsias repetidas; 42 biopsias totales. 16 fueron de sexo femenino

(88,9%) y 2 masculinos (11,1%). Con respecto a la etnicidad, 15 pacientes fueron mestizos (83%) y 3 (17%) de raza caucásica. En los antecedentes previos se encontró que 3 (16,7%) de los pacientes fueron fumadores; 1 (5,6%) poseía antecedentes de DBT previa, 2 (11,1%) poseían antecedentes de HTA; y 3 (16,7%) pacientes tenían obesidad previa (Tabla 1).

Tabla 1: Características de pacientes con Nefritis Lúpica

Tabla 1: Características de pacientes con Nefritis Lúpica	
Número total de pacientes	18
Número total de biopsias renales	42
Número total de biopsias renales repetidas	24
Edad (media)	32,2 \pm 5
Sexo (Femenino / Masculino)	16 (88,9%) / 2 (11,1%)
Etnia (mestizo / caucásico)	15 (83%) / 3 (17%)
Dislipemia previa	0
HTA previa	2 (11,1%)
Obesidad	3 (16,7%)
Tabaquismo	3 (16,7%)
Diabetes previa	1 (5,6%)
Tiempo de diagnóstico de LES (meses)	96 \pm 15
Tiempo de realización 2° biopsia (meses)	45 \pm 11
Tiempo de realización 3° biopsia (meses)	56 \pm 12

Los datos del perfil de autoanticuerpos se presentan en Tabla 2.

Tabla 2: Perfil de Autoanticuerpos en pacientes con NL

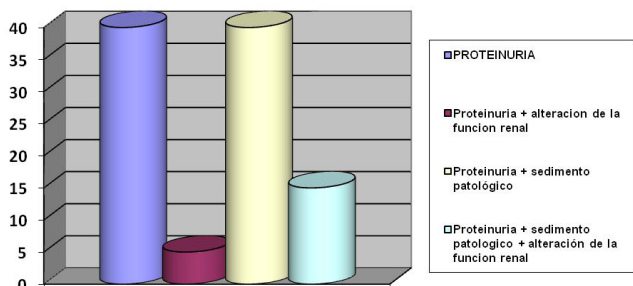
Tabla 2: Perfil de Autoanticuerpos en pacientes con NL	
ANA	18 (100%)
DNA ds	17 (94,4%)
Sm	9 (50%)
RNP	5 (27,8%)
Ro	8 (44,4%)
La	3 (16,7%)
ACL IgG	8 (44,4%)
ACL IgM	8 (44,4%)
AL	3 (16,7%)

El tiempo de diagnóstico de LES al momento del estudio fue de 96 meses \pm 15; el tiempo transcurrido entre la 1° y la 2° biopsia fue de 45 \pm 11 meses y el tiempo entre la 2° y 3° biopsia fue de 56 \pm 12 meses.

Las indicaciones de la biopsia repetida fueron proteinuria en 10 biopsias (41,6%); proteinuria

con alteración de la función renal en 2 biopsias (8,3%); proteinuria con sedimento patológico en 8 biopsias (33,3%); y proteinuria con sedimento patológico y alteración de la función renal en 4 biopsias (16,6%), presentados en Figura 1.

Figura 1: INDICACIONES DE BIOPSIA RENAL REPETIDA



Los cambios histológicos encontrados entre las primeras y las biopsias repetidas fueron los siguientes: de clase II a clase III: 1 (4,1%); clase II a clase III+V: 1 (4,1%); clase II a clase IV: 1 (4,1%); clase II a clase IV+V: 1 (4,1%); clase III a clase IV: 1 (4,1%); clase IV a clase III: 2 (8,2%); clase IV a clase IV: 8 (33,3%), clase IV a clase III+V: 2 (8,2%); clase IV a clase IV+V: 3 (12,5%); clase IV a clase V: 2 (8,2%); clase IV a clase VI: 1 (4,1%) y finalmente de clase V a clase V: 1 (4,1%).

Los cambios en las biopsias de NL proliferativas con índices de actividad y cronicidad fueron: de A a A: 1 (4,1%), A a A/C: 7 (29,1%), A/C a A/C: 7 (29,1%), C a A/C: 1 (4,1%).

Los cambios en el tratamiento inmunosupresor fueron: aumento en la terapia inmunosupresora 19 (79,1%), mantenimiento del tratamiento inmunosupresor 4 (16,6%) y disminución del tratamiento inmunosupresor en 1 caso. Con respecto al cambio de medicación 7 (20%) pacientes recibieron Ciclofosfamida 1 gr cada 30 días, 9 (26%) Ciclofosfamida 500 mg cada 15 días, 8 (23%) tratamiento de reinducción con Micofenolato mofetil; Rituximab 8 (23 %); y 3 (8%) Ciclosporina A. El tratamiento de mantenimiento se realizó con micofenolato mofetil en 23 casos (55%); con azatioprina en 11 (26%) casos; ciclosporina en 3 (7%) oportunidades y rituximab en 5 (12%). En todos los casos se utilizó hidroxiclороquina.

Discusión

Una nueva biopsia renal fue realizada en el 15% de nuestra serie con NL. Las principales indicaciones de una nueva biopsia renal en la literatura incluyen el nivel de proteinuria, un sedimento

urinario activo, serología inmune activa, la evaluación de cambios en la terapia y la respuesta a ésta, y la exclusión de compromiso renal en pacientes con alto grado de actividad global de la enfermedad. En nuestro estudio, las principales indicaciones fueron similares a los estudios previos, siendo el nivel de proteinuria y el sedimento urinario activo las más frecuentes. Bajaj y colaboradores examinaron la diferencia en las indicaciones entre la primera y la segunda biopsia. La principal razón para la biopsia original fue la confirmación del diagnóstico y la identificación de la clase, mientras que en la segunda el aumento y la persistencia de la proteinuria²¹. Moroni y colaboradores han considerado las indicaciones de la repetición de la biopsia en 3 categorías: cuando hay mejoría de la enfermedad renal pero persistencia de proteinuria no nefrótica, en la recaída o persistencia del síndrome nefrótico, o con el aumento del nivel de creatinina de más del 50%⁶. Además, otros estudios han analizado las clases histopatológicas en las nuevas biopsias. En la mayoría de los reportes una alta proporción de pacientes cambió de clase entre las biopsias. Huang et al. encontraron que más del 50% de sus pacientes mostraban transformación del patrón histológico, mientras que Bajaj y colaboradores reportaron una frecuente evolución de una clase a otra, pero los cambios dentro de una clase fueron más comunes^{20, 21}. Yoo y colaboradores estudiaron 21 pacientes con NL clase IV, solamente 3 casos (14%) se transformaron a clase I ó III²².

La naturaleza de los cambios es un punto importante a examinar, ya que un cambio entre la clase III y IV puede representar un cambio en la extensión del compromiso renal o reflejar la variabilidad de la muestra en el riñón. En cambio, la transformación de una clase proliferativa a otra no proliferativa y viceversa representaría un cambio claro en la fisiopatología renal. Por otra parte, la distinción entre cambios significativos y no dentro de una clase puede influenciar la terapéutica. En nuestro estudio, 15 de estos pacientes demostraron cambios en la clase histológica, siendo lo más frecuente la transformación a una clase proliferativa.

Mientras la CF es una terapia probada para la NL clase IV, las opciones para la NL membranosa están menos establecidas. La mayoría los pacientes que permanecieron en clase V fueron tratados posterior a la biopsia con MMF. A pesar de no existir consenso sobre el tratamiento en la NL membranosa, recientes publicaciones han su-

gerido su rol en esta entidad ²³.

La definición de actividad y cronicidad fue introducida por un trabajo pionero de Pollack y col en 1964²⁴, esta definición fue desarrollada más tarde en el Índice de Actividad y Cronicidad de Morel-Marogel y col²⁵ en 1976 el cual fue posteriormente desarrollado como un score semicuantitativo por Austin y colaboradores¹⁸. Con este modelo las lesiones de alta actividad como las semilunas crecientes y la necrosis fibrinoide predicen mal pronóstico. El valor predictivo y la reproducibilidad de éstos índices, sin embargo, no fue sostenida por estudios posteriores ²⁶⁻²⁸. A pesar de estas controversias las lesiones activas (ej. proliferación endocapilar, necrosis, semilunas celulares) versus las crónicas (esclerosis, semilunas fibrosas y fibrosis intersticial) junto a la clase de NL, influyen la respuesta al tratamiento. Por ello la clasificación de ISN/RPS recomienda que éstos parámetros sean detallados. En nuestro estudio los cambios de A a A/C se dieron en 7 pacientes, siendo igual de frecuente que el mantenimiento de A/C a A/C.

Una de las razones más importantes para realizar una biopsia repetida fue decidir un cambio en la estrategia del tratamiento. En nuestro trabajo se observó que en un 79% de las biopsias repetidas se aumentó el tratamiento inmunosupresor, dentro de los cuales los más frecuentes fueron la infusión con ciclofosfamida, el micofenolato mofetil y el rituximab.

Este estudio presenta algunas limitaciones como el tamaño de la muestra, la recolección retrospectiva de los datos, la variabilidad del informe histopatológico cuando éstas son informadas por patólogos especializados, si bien existe un acuerdo en el uso de la clasificación ISN /RNP del 2004.

En conclusión los cambios en la clase histopatológica de las NL fueron frecuentes. Los cambios histopatológicos más frecuentes fueron a variedades proliferativas y con un aumento en el índice de cronicidad. La biopsia renal repetida fue muy importante para guiar tratamiento inmunosupresor y para la confirmación y exclusión de otras entidades relacionadas como la Nefropatía asociada a Síndrome Antifosfolípido.

Bibliografía

1. D´Cruz DP, Kamashta MA, Hugues GRV. Systemic lupus erythematosus. *Lancet*. 2007; 369: 587-596
2. Espinosa G, Cervera R. *Epidemiología del*

Lupus Eritematoso Sistémico. Cap 3 pag 27-31. Lupus Eritematoso Sistémico. 3° Edición. 2009. Editorial Caduceo Multimedia

3. Fessel WJ. Systemic lupus erythematosus in the community: incidence, prevalence, outcome and first symptoms; the high prevalence in black women. *Arch Intern Med*. 1974; 134: 1027-1035.
4. Henderson L, Masson P, Craig JC, Flanc RS, Roberts MA, Strippoli GFM, Webster AC. Treatment for lupus nephritis. *Cochrane Database of Systematic Reviews 2012, Issue 12. Art. No.: CD002922. DOI: 10.1002/14651858. CD002922.pub3.*
5. Lightstone L. Lupus nephritis: where are we now? *Curr Opin Rheumatol* 2010; 22: 252-256.
6. Moroni G, Pasquali S, Quaglini S, Banfi G, Casanova S, Maccario M, et al. Clinical and prognostic value of serial renal biopsies in lupus nephritis. *Am J Kidney Dis* 1999; 34: 530-539.
7. Bertsias G, Ioannidis JP, Boletis J, Bombardieri S, Cervera R, Dostal C, et al. EULAR recommendations for the management of systemic lupus erythematosus. Report of a Task Force of the EULAR Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutics. *Ann Rheum Dis* 2008; 67: 195-205.
8. Lo MS, Tsokos GC. Treatment of systemic lupus erythematosus: new advances in targeted therapy. *Ann N Y Acad Sci* 2012; 1247: 138-152.
9. Markowitz GS, D`Agati VD. The ISN/RPS 2003 classification of lupus nephritis: an assessment at 3 years. *Kidney Int* 2007; 71:491-495.
10. Moroni G, Auaglini S, Maccario M, et al. Nephritic flares are predictors of bad long term renal outcomes in lupus nephritis. *Kidney Int* 1996; 50:2047-2053.
11. Moroni G, Quaglini S, Gallelli B et al. The long term outcome of 93 patients with proliferative lupus nephritis. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22: 2531-2539.
12. Hsieh YP, Wen YK, Chen ML. The value of early renal biopsy in systemic lupus erythematosus patients presenting with renal involvement. *Clin Nephrol* 2012; 77: 18-24
13. Bertsias GK; Tektonidou M, Amoura Z, et al, Joint European League Against Rheumatism and European Renal Association-European Dialysis and Trasplant Association (EULAR/ERAEDTA) recommendations for the management of adult and pediatric lupus nephritis. *Ann Rheum Dis* 2012; 71 (11) :1771-82.
14. Hann, BH; MCMahon, MA; Wilkinson A et al. American College of Rheumatology Guidelines for Screening, Treatment, and Management

- of Lupus Nephritis. *Arthritis Care Res.* 2012 Jun;64(6):797-808.
15. Ruiz-Irastorza G, et al. Diagnóstico y tratamiento de nefritis lúpica. *Nefrología* 2012; 32 (Supl1)1-35.
16. Hochberg MC. The incidence of systemic lupus erythematosus in Baltimore, Maryland, 1970-1977. *Arthritis Rheum* 1985; 28:80-86
17. Harris EN, Gharavi AE, Boey ML et al. Anticardiolipin antibodies: detección by radioimmunoassay and association with thrombosis in systemic lupus erythematosus. *Lancet ii* 1983; 1211-1214.
18. Austin HA 3rd, Muenz LR, Joyce KM, et al. Prognostic factors in lupus nephritis. Contribution of renal histologic data. *Am J Med* 1983; 75: 382-391
19. Bagavant H, Fu Sm. New insights from murine lupus: disassociation of autoimmunity and end organ damage and the role of T cells. *Curr Opin Rheumatol* 2005; 17:523-8
20. Huong DLT, Papo T, Beaufile H, et al. Renal involvement in systemic lupus erythematosus. A study of 180 patients from a single center. *Medicine* 1999; 78: 148-166
21. Bajaj S, Albert L, Gladman DD, et al. Serial renal biopsy in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 2000M 27:2822-6
22. Yoo CW, Kim MK, Lee HS. Predictors of renal outcome in diffuse proliferative lupus nephropathy: data from repeat renal biopsy. *Nephrol Dial Trasplant* 15:1604-8; 2000.
23. Karim MY, Pisoni CM, Ferro L, et al. Reduction of proteinuria with mycophenolate mofetil in predominantly membranous lupus nephropathy. *Rheumatology* 2005; 44: 1317-1321
24. Pollak VE, Pirani CL, Schwartz FD: The natural history of the renal manifestations of systemic lupus erythematosus. *J Lab Clin Med* 1964; 63: 537-550
25. Morel-Maroger L, Méry JP, Droz D, Godin M: The course of lupus nephritis: Contribution of serial renal biopsies. *Adv Nephrol Necker Hosp* 1976,6: 79-118.
26. Valeri A, Radhakrishnan J, Estes D, et al: Intravenous pulse cyclophosphamide treatment of severe lupus nephritis: A prospective five years study. *Clin Nephrol* 1994; 42: 71-78
27. Appel GB, Cohen DJ, Pirani CL, et al: Long term follow up of patients with lupus nephritis. A study based on the classification of the World Health Organization. *Am J Med* 1987; 83: 877-885
28. Giannico G, Fogo AB. Lupus nephritis: Is the kidney biopsy currently necessary in the management of lupus nephritis?. *Clin J Am Soc Nephrol* 2013; 8: 138-145
29. Contreras G, Pardo V, Leclercq B, Lenz O, Tozman E, O'Nan P, et al. Sequential therapies for proliferative lupus nephritis. *N Engl J Med* 2004; 350: 971-980.
30. Lu J, Tam LS, Lai FM, Kwan BC, Choi PC, Li EK, et al. Repeat renal biopsy in lupus nephritis: a change in histological pattern is common. *Am J Nephrol* 2011; 34: 220-225.
31. Daleboudt G, Bajema I, Goemaere N, van Laar J, Bruijn J, Berger S. The clinical relevance of a repeat biopsy in lupus nephritis flares. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24: 3712-3717
32. Sidiropoulos P, Kritikos H, Boumpas D. Lupus nephritis flares. *Lupus* 2005; 14: 49-52.