

Progetto di ricerca scientifica sul lupus eritematoso sistemico

Responsabile scientifico: Zen Margherita (Tutor Prof. Andrea Doria)

Sede: U.O.C. Reumatologia di Padova, Dipartimento di Medicina, Università degli studi di Padova

Titolo del progetto:

“Studio sulla sospensione della terapia immunosoppressiva nel lupus eritematoso sistemico: valutazione di prevalenza, rischio di riacutizzazioni dopo la sospensione, fattori predittivi e prognosi a breve e lungo termine”

Premesse

La gestione e cura dei pazienti affetti da lupus eritematoso sistemico (LES) è migliorata negli ultimi anni, portando a un miglioramento della sopravvivenza dei pazienti.

Il miglioramento nel management dei pazienti non si basa sulla disponibilità di nuovi farmaci approvati per il LES, ma piuttosto sulla progressione delle conoscenze sulla patogenesi della malattia e in particolare sullo sviluppo di nuove strategie terapeutiche finalizzate a un concomitante controllo della malattia e minimizzazione del danno d'organo secondario all'attività di malattia e agli effetti collaterali dei farmaci [1].

A tal proposito, la strategia del “treat to target” è stata applicata anche al LES, sulla scia di quanto avvenuto in altre malattie autoimmuni come l'artrite reumatoide, portando di recente alla definizione del concetto di remissione e bassa attività di malattia (“low disease activity”)[2-4].

Secondo le definizioni attuali, la remissione deve essere considerata il target del management dei pazienti con LES. Essa è definita come uno stato di inattività di malattia e può essere sostanzialmente distinta in remissione clinica (assenza di segni e sintomi di attività di malattia in pazienti con riduzione del complemento e/o positività di anticorpi anti-DNA nativo) e remissione completa (assenza di alterazioni cliniche e sierologiche). Per definire la remissione vengono utilizzati indici di attività di malattia, in particolare i più usati sono il *Systemic lupus erythematosus Disease activity index* - 2000 (SLEDAI-2K) e il *physician global assessment* (PGA). Due sono le definizioni di remissione attualmente più utilizzate, quella proposta dal Gruppo di Studio Internazionale DORIS [2] e quella proposta dal nostro Centro di Padova in Zen M et al [3,5].

La definizione del DORIS [2] definisce la remissione completa come $SLEDAI-2K=0$ e $PGA < 0,5$ e la remissione clinica come *clinical SLEDAI-2K=0* (vi può essere punteggio legato alle alterazioni sierologiche) e $PGA < 0,5$ (in una scala 0-3); in entrambe le definizioni viene consentita la terapia con

una dose di prednisone equivalente ≤ 5 mg/die e/o antimalarici e/o immunosoppressori a dosaggio standard.

La definizione di Zen M et [3,5] è molto simile, ma non prende in considerazione il PGA, data la nota variabilità inter ed intra-observer [6]. In particolare, la remissione completa è definita come *SLEDAI-2K=0* in pazienti trattati con una dose di prednisone equivalente ≤ 5 mg/die e/o antimalarici, mentre la remissione clinica è definita come *clinical SLEDAI-2K=0* in pazienti che potevano assumere una dose di prednisone equivalente ≤ 5 mg/die e/o antimalarici e/o immunosoppressori a dosaggio standard.

Abbiamo recentemente valutato nella nostra coorte di pazienti affetti da LES la prevalenza della remissione, dimostrando come questa non sia infrequente e, dato rilevante, si associ a una miglior prognosi in termini di accumulo di danno d'organo, misurato utilizzando il Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology Damage Index" (SDI). In particolare, pazienti in remissione per almeno 2 anni consecutivi accumulavano danno con minor frequenza e in minor entità rispetto ai pazienti non in remissione o in remissione per un solo anno [5].

Il danno d'organo è una misura di outcome validata nel LES, essendo stato dimostrato che esso è predittivo di ulteriore accumulo di danno e di mortalità. Esso viene misurato con lo SDI, che identifica il danno irreversibile che si manifesta dopo l'esordio della malattia a carico di numerosi apparati (oculare, neuropsichiatrico, renale, polmonare, cardiovascolare, gastrointestinale, muscolo-scheletrico, cute; sviluppo di neoplasie, diabete mellito, menopausa precoce). Questo danno può essere ritenuto secondario alla malattia di base, alla sua terapia ed alle sue complicanze. Una delle maggiori cause di accumulo di danno d'organo, morbidità e mortalità nel LES è l'attività della malattia, intesa come tipologia di organo/apparato coinvolto dalla malattia e come gravità dell'interessamento d'organo.

Abbiamo inoltre dimostrato che anche la remissione prolungata, definita come della durata di 5 anni o più, diversamente da quanto affermato in passato, non è più di raro riscontro nei pazienti con LES [3], essendo osservata in circa un terzo dei pazienti della coorte considerata nello studio (293 pazienti).

Nell'ottica di una terapia personalizzata, che miri al controllo della malattia cercando di evitare gli effetti collaterali della terapia, le strategie per la gestione dei pazienti in remissione non possono essere le stesse applicate alla gestione dei pazienti con malattia attiva.

Infatti, l'obiettivo della terapia non è l'induzione della remissione con terapie "aggressive" bensì il mantenimento di un raggiunto stato di inattività, evitando un "over-treatment" e cercando nel contempo di non esporre il paziente al rischio di riacutizzazioni.

Questo tema è ancora oggetto di dibattito nella comunità scientifica. Se vi sono, infatti, chiare indicazioni circa l'appropriatezza della riduzione progressiva della terapia corticosteroidica una volta raggiunta la remissione di malattia [5,7], non ci sono invece informazioni circa la riduzione e sospensione della terapia immunosoppressiva, soprattutto nel LES non-renale.

Nel 1996, Drenkard et al. hanno dimostrato come 156 di 667 pazienti avessero raggiunto una remissione clinica della durata di almeno un anno senza terapia (immunosoppressiva e cortisonica) [8]. Un trial randomizzato controllato condotto su un piccolo numero di pazienti è invece giunto a una conclusione diversa: la sospensione dell'azatioprina in 9 pazienti con malattia stabile era stata seguita da una riacutizzazione di malattia in 7 soggetti [9]. Anche i dati provenienti dalla coorte canadese di Toronto hanno confermato che in passato la remissione prolungata (> 2 anni) senza terapia immunosoppressiva era rara [10].

Questi dati devono essere tuttavia analizzati criticamente. Essendo le strategie terapeutiche del LES migliorate negli ultimi anni, i risultati ottenuti in questi studi (precedenti il 2000) potrebbero essere datati/superati.

Qualche informazione in più è disponibile sull'interruzione della terapia immunosoppressiva nella glomerulonefrite lupica, ove è stato dimostrato un tasso di riacutizzazioni renali dopo la progressiva riduzione della terapia variabile tra il 25% e il 45% [11-13].

I dati disponibili sono quindi insufficienti per poter esprimere una valutazione definitiva sulla possibilità di interruzione della terapia immunosoppressiva in pazienti con LES in remissione.

Domande aperte restano in tal senso anche quale sia il momento più adatto per sospendere la terapia, ovvero la durata minima di remissione necessaria prima di poter procedere all'interruzione dei farmaci immunosoppressori; se vi siano e quali siano i fattori prognostici positivi e negativi per una sospensione terapeutica non gravata da riacutizzazioni (tipo di manifestazioni? terapia concomitante? durata di malattia? pattern di attività? tempo per raggiungere la remissione?); se vi siano biomarcatori che possano predire le riacutizzazioni alla sospensione della terapia.

I biomarcatori sono indicatori misurabili di processi biologici e/o di risposta a interventi atti a modificare tali processi biologici. Numerosi sono i biomarcatori studiati nel LES.

Tra questi, promettente è il BLISS/BAFF. Il B-Cell Activating Factor o BAFF, in italiano fattore attivante i linfociti B detto anche stimolatore dei linfociti B (BLyS) è una proteina che appartiene alle cosiddette citochine (fa parte della famiglia del TNF), molecole implicate nell'infiammazione. Essa è espressa su cellule della linea B ed agisce come potente attivatore delle cellule B; è stato dimostrato come giochi un ruolo importante nella proliferazione e differenziazione delle cellule B [14]. Livelli eccessivi di BAFF causano un'iperattivazione dei linfociti, soprattutto linfociti B, e iperproduzione di anticorpi. È stato dimostrato che pazienti affetti da LES presentano elevati livelli sierici di BAFF, e questi livelli correlano con l'attività di malattia [15]. La proteina APRIL (A proliferation-inducing ligand) è un'altra citochina della famiglia del TNF. APRIL e il suo recettore (TACI) sono importanti nello sviluppo delle cellule B ed esperimenti in vivo suggeriscono il ruolo di APRIL nella sopravvivenza nel midollo delle plasmacellule a lunga emivita. Nei pazienti con LES sono stati riscontrati elevati livelli di APRIL e TACI [15].

Non vi sono studi che abbiano valutato eventuali cambiamenti nei livelli di BAFF e APRIL dopo sospensione della terapia immunosoppressiva, né se vi siano differenze nei livelli sierici in pazienti che dopo aver sospeso la terapia si siano riacutizzati o no.

Altro biomarcatore nel LES è la pentrassina 3. Le pentrassine sono componenti del sistema dell'immunità innata ed agiscono come pattern recognition receptor (PRRs) (molecole che agiscono nel riconoscimento dei patogeni) [16]. La pentrassina 3 (PTX3) è una proteina di fase acuta secreta da diversi tipi di cellule, tra cui cellule dendritiche, ed è immagazzinata in grande quantità nei neutrofilii. Il suo ruolo fisiologico è quello di difesa contro i patogeni (virus e batteri) .

La PTX3 lega le cellule apoptotiche e inibisce il riconoscimento da parte delle cellule dendritiche, potenzialmente interferendo nei processi di eliminazione dei detriti derivanti dall'apoptosi. Tenendo in considerazione il ruolo patogenetico svolto nel LES dall'eccesso di apoptosi e dalla deficienza nei processi di clearance, la PTX3 è un biomarcatore interessante.

Anticorpi anti-PTX3 sono stati descritti nei pazienti affetti da LES dove sono risultati associati all'assenza di glomerulonefrite [17] sia nell'uomo che nei modelli murini [18].

Non vi sono studi che abbiano valutato eventuali cambiamenti nei livelli di PTX3 ed anticorpi anti-PTX3 dopo sospensione della terapia immunosoppressiva, né se vi siano differenze nei livelli sierici in pazienti che si siano riacutizzati o no dopo aver sospeso la terapia.

L'attivazione aberrante del complemento è una delle anomalie del sistema immunitario coinvolte nella patogenesi del LES. I livelli sierici di C3 e C4 sono considerati biomarcatori di attività di malattia in numerosi studi [19] e attualmente utilizzati nella pratica clinica. Recenti studi hanno evidenziato tuttavia come i prodotti di attivazione del complemento (in particolare C3a, C3b, C4b, C5a, CH50) potrebbero presentare dei biomarcatori migliori rispetto alle frazioni C3 e C4 [20-23]. Non vi sono studi che abbiano valutato eventuali variazioni nei livelli di C3a, C3b, C4b, C5a, CH50 dopo sospensione della terapia immunosoppressiva.

Obiettivi:

Gli obiettivi principali dello studio sono:

- **identificare la prevalenza della sospensione della terapia immunosoppressiva nei pazienti affetti da LES;**
- **identificare la prevalenza della sospensione della terapia immunosoppressiva nei sottogruppi di pazienti con diverse manifestazioni cliniche di malattia (ad es. manifestazioni renali, ematologiche, cutanee, vasculitiche, articolari, neurologiche, sierosittiche);**

- **individuare possibili predittori/fattori di rischio per una riacutizzazione di malattia dopo la sospensione della terapia immunosoppressiva, ovvero possibili fattori protettivi per una sospensione non gravata da successive riacutizzazioni;**
- **analizzare il possibile ruolo di BAFF, APRIL, PTX3 e anti-PTX3, frazioni di attivazione del complemento (C3a, C3b, C4b, C5a, CH50 (CH50 Eq)) nel predire la risposta alla sospensione della terapia immunosoppressiva;**

Per quanto riguarda lo studio della prevalenza della sospensione della terapia immunosoppressiva, le ragioni per l'interruzione della terapia verranno divise in: remissione (definita in accordo con la definizione di Zen M et al [3]); intolleranza o controindicazioni; scarsa compliance (ovvero sospensione autonoma da parte del paziente).

Numerose variabili demografiche, cliniche e sierologiche saranno considerate nell'analisi dei possibili predittori di riacutizzazione di malattia dopo la sospensione della terapia immunosoppressiva (anche suddividendo i pazienti secondo la ragione per l'interruzione della terapia). Tra esse segnalò: età, sesso, età all'esordio, latenza fra esordio e diagnosi di LES, durata di malattia, assetto autoanticorpale (in particolare, positività di anti-DNA, anti-ENA con specificità, positività di anticorpi antifosfolipidi, presenza di LAC positivo), durata di malattia attiva prima di raggiungere la remissione, numero e tipo di manifestazioni di malattia (suddivise in interessamento cutaneo, articolare, ematologico, sierositico, renale, vasculitico, neurologico), pattern di attività di malattia (chronic active, relapsing-remitting), numero di riacutizzazioni prima del raggiungimento della remissione, tipo di remissione raggiunta (completa o clinica), terapia di mantenimento alla sospensione dell'immunosoppressore (nulla, antimalarico, terapia cortisonica, entrambi).

In aggiunta ai dati clinici-sierologici "tradizionali", fra i possibili predittori di riacutizzazione saranno anche analizzati i livelli sierici di alcuni biomarcatori, inclusi BAFF/BLISS, APRIL, Pentrassina 3, anticorpi anti-Pentrassina 3, C3a, C3b, C4b, C5a, CH50 (vedi sezione "metodologie che si intendono utilizzare").

Infine, nel gruppo di pazienti che presenterà riacutizzazione dopo la sospensione dell'immunosoppressore saranno valutati in possibili fattori predittivi di una più lunga durata di remissione prima della riacutizzazione.

Ricadute cliniche, in termini di benefici per i pazienti affetti da LES:

La conoscenza degli effetti della sospensione della terapia immunosoppressiva nei pazienti affetti da LES avrà rilevanti ricadute sulla pratica clinica e benefici per i pazienti affetti da LES. Infatti dallo studio ci si aspetta di ottenere risposta ad almeno alcune di queste domande:

1- Quanto frequente è la sospensione dell'immunosoppressore per remissione clinica? Per intolleranza? Per mancata compliance? Per gravidanza?

2- Vi è una differenza nella prognosi dei pazienti se la sospensione della terapia immunosoppressiva avviene per raggiungimento della remissione oppure per intolleranza/scarsa compliance/altro? In particolare, la motivazione della sospensione (remissione vs altro) influenza frequenza, gravità, rapidità di riacutizzazione dopo la sospensione?

3- Quali sono le caratteristiche cliniche che si associano ad una favorevole sospensione della terapia immunosoppressiva? Cioè, è possibile identificare delle variabili cliniche (manifestazioni della malattia) che predicano una più “sicura” sospensione della terapia immunosoppressiva?

4- Quanto dovrebbe durare almeno la remissione prima di poter sospendere la terapia immunosoppressiva in modo sicuro? In particolare, vi è una differenza relativamente alle diverse manifestazioni di malattia?

5- Ci sono provvedimenti terapeutici /profilattici che possono ridurre il rischio di riacutizzazione dopo la sospensione della terapia immunosoppressiva? In particolare, qual è il ruolo degli antimalarici?

6- Vi sono marcatori/biomarcatori utili nell’identificare un miglior timing per la programmazione della sospensione della terapia immunosoppressiva? In particolare, possono BAFF, APRIL e pentrossina 3, C3a, C3b, C4b, C5a, CH50 avere un ruolo prognostico?

7- Vi è differenza se la remissione ottenuta al momento della sospensione della terapia immunosoppressiva era una remissione completa o solo clinica?

8- Qual è la prognosi dei pazienti che sospendono la terapia immunosoppressiva? Presentano un vantaggio in termini di outcome a breve e lungo termine rispetto ai pazienti che non sospendono l’immunosoppressore?

I dati ottenuti da questo studio porteranno benefici diretti ai pazienti affetti da LES, in quanto amplieranno le conoscenze sulla tematica della sospensione della terapia e potranno potenzialmente influenzare l’atteggiamento del Medico nei confronti della terapia immunosoppressiva di mantenimento.

Metodologie che si intendono utilizzare

Verranno raccolti dati demografici e clinici di tutti i pazienti trattati con terapia immunosoppressiva seguiti presso la U.O.C. Reumatologia dell’Università degli Studi di Padova, Dipartimento di Medicina DIMED, indicativamente dal 1990 al 2018.

Presso tale struttura è presente un ambulatorio dedicato allo “Studio e Cura delle Connettiviti e altre malattie rare di interesse reumatologico” ove vengono seguiti attualmente circa 500 pazienti affetti da LES. Si tratta quindi di una coorte prospettica.

La previsione è quella di includere i pazienti che siano o siano stati trattati con terapia immunosoppressiva. Lo studio si articolerà in una parte retrospettiva ed una prospettica, prevedendo di identificare due gruppi (o coorti):

- Pazienti che hanno già sospeso la terapia immunosoppressiva (gruppo A) per la fase prospettica e retrospettiva dello studio
- Pazienti che hanno appena interrotto/interromperanno la terapia immunosoppressiva (gruppo B) per la fase prospettica

Per entrambi i gruppi saranno raccolte e analizzate caratteristiche demografiche (età, sesso, età all'esordio, durata di malattia) e cliniche (tra le quali: latenza fra esordio e diagnosi di LES, durata di malattia, assetto autoanticorpale (in particolare, positività di anti-DNA, anti-ENA con specificità, positività di anticorpi antifosfolipidi, presenza di LAC positivo), durata di malattia attiva prima di raggiungere la remissione, durata della terapia immunosoppressiva, numero e tipo di manifestazioni di malattia (suddivise in interessamento cutaneo, articolare, ematologico, sierositico, renale, vasculitico, neurologico), pattern di attività di malattia (chronic active, relapsing-remitting), numero di riacutizzazioni prima del raggiungimento della remissione, tipo di remissione raggiunta (completa o clinica), terapie in atto e pregresse, dose cumulativa di cortisone, indice di attività di malattia, indice di danno d'organo, comorbidità, terapia di mantenimento alla sospensione dell'immunosoppressore (nulla, antimalarico, terapia cortisonica, entrambi). Saranno registrate le eventuali riacutizzazioni di malattia dopo la sospensione (tipologia, gravità, trattamento richiesto, esito).

Saranno inoltre effettuati dosaggi di BAFF/BLISS, anticorpi anti-pentrassina 3, pentrassina 3, C3a, C3b, C4b, C5a, CH50.

Questi dosaggi saranno effettuati:

- per la parte retrospettiva dello studio, su campioni conservati nella sieroteca della U.O.C. di Reumatologia di Padova, dove sono conservati campioni raccolti durante l'attività clinico-assistenziale, in campioni raccolti al momento della sospensione dell'immunosoppressore, ad un controllo intermedio e al momento di una eventuale riacutizzazione;
- per la parte prospettica dello studio (per i pazienti del gruppo B), al momento della sospensione dell'immunosoppressore
- al primo controllo successivo alla sospensione dell'immunosoppressore (gruppo B)
- in caso di riacutizzazione di malattia (sia per il gruppo A che per il gruppo B)

Si è stimato che saranno effettuati circa 200 dosaggi per ciascuno dei biomarcatori selezionati.

Il dosaggio del BLISS/BAFF sarà effettuato con metodica ELISA commerciale

Il dosaggio di APRIL sarà effettuato con metodica ELISA commerciale

Il dosaggio degli anti-pentrassina 3 IgG sarà effettuato con metodica ELISA in house standardizzato

Il dosaggio della pentrassina 3 sarà effettuato con metodica ELISA commerciale

Il dosaggio di C3a, C3b, C4b, C5a, CH50 (CH50 Eq) sarà effettuato con metodica ELISA commerciale

Verranno inoltre somministrati ad ogni visita di controllo questionari sulla qualità di vita (HAQ, VAS) per la compilazione da parte del paziente, al fine di studiare se vi sia una associazione tra parametri sierologici e percezione dell'attività di malattia da parte del paziente.

Inoltre saranno registrati indici di attività di malattia (SLEDAI-2K, PGA, CLASI, DAS28, BILAG in casi selezionati) e di danno d'organo (SLICC damage index).

I dati raccolti verranno analizzati con l'ausilio di personale qualificato nell'ambito dell'analisi statistica.

Verranno applicate metodiche di inferenza univariata (per variabili continue, t-test, ANOVA, o rispettivi test non parametrici; per variabili dicotomiche chi-quadrato, calcolo dell'OR) e multivariata (regressione logistica per l'individuazione di fattori protettivi/di rischio, regressione di Cox e curve di sopravvivenza di Kaplan-Mayer per la valutazione di fattori predittivi della durata di remissione senza riacutizzazioni).

Durata dello studio: due anni.

Stima dettagliata del budget complessivo e specifico per le principali voci di spesa:

	Descrizione	Costo (Euro)
Spese	- raccolta e processazione dei campioni di siero	1.000
	- reagenti e materiali per test ELISA in house per anticorpi anti-PTX3 IgG	2.000
	- kit ELISA commerciale per il dosaggio sierico di PTX3, BLYS, APRIL umani, C3a, C3b, C4b, C5a, CH50 (CH50 Eq)	20.000
Servizi esterni	- elaborazione dati, inclusa analisi statistica con coinvolgimento di personale qualificato (Statistico)	2.000
Totale		25.000

Bibliografia:

- 1- van Vollenhoven, R.F., *et al.* Treat-to-target in systemic lupus erythematosus: recommendations from an international task force. *Ann. Rheum. Dis.* **73**, 958-67 (2014)
- 2- van Vollenhoven, R., *et al.* A framework for remission in SLE: consensus findings from a large international task force on definitions of remission in SLE (DORIS). *Ann. Rheum. Dis.* **76**, 554-61 (2017).
- 3- Zen, M., *et al.* Prolonged remission in Caucasian patients with SLE: prevalence and outcomes. *Ann. Rheum. Dis.* **74**, 2117-22 (2015)
- 4- Franklyn, K., *et al.* Definition and initial validation of a Lupus Low Disease Activity State (LLDAS). *Ann. Rheum. Dis.* **75**, 1615-21 (2016).
- 5- Zen, M., *et al.* The effect of different durations of remission on damage accrual: results from a prospective monocentric cohort of Caucasian patients. *Ann. Rheum. Dis.* **75**, 562-565 (2017).
- 6- Isenberg, D.A., *et al.* An assessment of disease flare in patients with systemic lupus erythematosus: a comparison of BILAG 2004 and the flare version of SELENA. *Ann. Rheum. Dis.* **70**, 54-9 (2011).
- 7- Steiman, A.J., *et al.* Outcomes in patients with systemic lupus erythematosus with and without a prolonged serologically active clinically quiescent period. *Arthritis. Care. Res.* **64**, 511-8 (2012).
- 8- Drenkard, C., Villa, A.R., Garcia-Padilla, C., Pérez-Vázquez, M.E. & Alarcón-Segovia, D. Remission of systematic lupus erythematosus. *Medicine. (Baltimore)*. **75**, 88-98 (1996).
- 9- Sharon, E., Kaplan, D. & Diamond, H.S. Exacerbation of systemic lupus erythematosus after withdrawal of azathioprine therapy. *N. Engl. J. Med.* **288**, 122-4 (1973).
- 10- Nikpour, M., Urowitz, M., Ibanez, D. & Gladman, D.D. Frequency and determinants of flare and persistently active disease in systemic lupus erythematosus. *Arthritis. Rheum.* **61**, 1152-8 (2009).
- 11- Mosca, M., *et al.* Therapy with pulse methylprednisolone and short course pulse cyclophosphamide for diffuse proliferative glomerulonephritis. *Lupus.* **10**, 253-25 (2001).
- 12- Roccatello, D., *et al.* Intensive short term treatment with rituximab, cyclophosphamide and methylprednisolone pulses induces remission in severe cases of SLE with nephritis and avoids further immunosuppressive maintenance therapy. *Nephrol. Dial. Transplant.* **26**, 3987-89 (2011).
- 13- Moroni, G., Longhi, S., Gliglio, E., Messa, P. & Ponticelli, C. What happens after complete withdrawal of therapy in patients with lupus nephritis. *Clin. Exp. Rheumatol.* **31**, S75-81 (2013).
- 14- Sakai, J., Akkoyunlu, M. The Role of BAFF System Molecules in Host Response to Pathogens. *Clin Microbiol Rev.* Oct;30(4):991-1014 (2017).
- 15- Vincent, F.B., Morand, E.F., Schneider, P., Mackay, F. The BAFF/APRIL system in SLE pathogenesis. *Nat Rev Rheumatol.* **10**(6):365-73 (2014).
- 16- Cruciani, L., *et al.* Pentraxin 3 in amniotic fluid: a novel association with intra-amniotic infection and inflammation. *J Perinatal Med.* **38**: 161-71 (2010).
- 17- Yuan, M., *et al.* Anti-pentraxin 3 auto-antibodies might be protective in lupus nephritis: a large cohort study. *Ren Fail.* **39**: 465-473 (2017).

- 18- Gatto, M., et al. Immunisation with pentraxin 3 (PTX3) leads to anti-PTX3 antibody production and delayed lupus-like nephritis in NZB/NZW F1 mice. *J Autoimmun.* 74: 208-216 (2016).
- 19- Gensous, N., et al. Predictive biological markers of systemic lupus erythematosus flares: a systematic literature review. *Arthritis Res Ther.* 24;19(1):238 (2017).
- 20- Tseng, M.H., et al. Serum complement factor I is associated with disease activity of systemic lupus erythematosus *Oncotarget.* 2; 9(9): 8502–8511 (2018).
- 21- Ma, H., et al. Mesenchymal Stem Cells Control Complement C5 Activation by Factor H in Lupus Nephritis. *EBioMedicine.* 2018 Jun;32:21-30
- 22- Sandhu, V., Quan, M. SLE and Serum Complement: Causative, Concomitant or Coincidental? *Open Rheumatol J.* 30;11:113-122 (2017).
- 23- Kim, M.Y., et al Complement activation predicts adverse pregnancy outcome in patients with systemic lupus erythematosus and/or antiphospholipid antibodies. *Ann Rheum Dis.* 77(4):549-555 (2018).

20 June 2018
M. Gatto