Hubungan Kadar TGF- β 1 dan IFN- γ dengan Indeks Kronisitas Nefritis Lupus

Relationship TGF- β 1 and IFN- γ Levels with Lupus Nephritis Chronicity Index

Indah Jayani¹, Kusworini Handono², Agustina Tri E³

¹Program Studi Ilmu Biomedik Pasca Sarjana Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

²Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

³Laboratorium Ilmu Parasitologi Fakultas Kedokteran Brawijaya Malang

ABSTRAK

Meskipun perbaikan penatalaksanaan terapi telah dilakukan dalam dua dekade terakhir, tetapi prognosis nefritis lupus tetap tidak memuaskan. Oleh karena itu diperlukan suatu biomarker yang dapat menggambarkan aktivitas penyakit. Penelitian ini dilakukan untuk melihat peran TGF- β 1 urin dan IFN- γ urin sebagai biomarker dengan indeks kronisitas nefritis lupus. Dilakukan studi observasional selama 1 tahun pada sampel urin 25 subjek penelitian untuk mengetahui hubungan kadar TGF- β 1 dan kadar IFN- γ yang diukur menggunakan metode ELISA dengan indeks kronisitas nefritis lupus (biopsi ginjal). Data dianalisis menggunakan uji *t* tidak berpasangan dan uji korelasi *Pearson*. Hasil penelitian menunjukkan ada perbedaan yang signifikan antara mean kelompok kasus (nefritis lupus) yaitu (197,87 $\pm$ 96,74) dan kelompok kontrol (lupus non nefritis) (17,82 $\pm$ 18) pada pengukuran kadar IFN- γ urin, sedangkan TGF- β 1 urin menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan ($p=0,425$) pada kelompok kasus (34,51 $\pm$ 11,17) dan kelompok kontrol (30,27 $\pm$ 5,87). Pada uji korelasi menunjukkan ada hubungan positif yang kuat dan signifikan antara kadar IFN- γ urin dan TGF- β 1 urin ($r<0,787$), indeks kronisitas dengan kadar IFN- γ urin ($r<0,674$) dan juga antara indeks kronisitas dan TGF- β 1 urin ($r<0,764$). Dapat disimpulkan kadar TGF- β 1 dan kadar IFN- γ berpotensi untuk digunakan sebagai indikator kronisitas nefritis lupus.

Kata Kunci: *Gamma* urin, indeks kronisitas, IFN- γ , nefritis lupus, TGF- β 1, urin

ABSTRACT

Although improvements have been made in the therapeutic management of the last two decades, but the prognosis of lupus nephritis remains unsatisfactory. It is therefore necessary to identify a biomarker of disease activity. This study was aimed to measure the role of TGF- β 1 and IFN- γ urine as biomarker for chronicity index of lupus nephritis. An observational study was conducted over a 1-year using urine samples from 25 study subjects to measure correlation between levels of TGF- β 1 and IFN- γ levels measured by using ELISA method and the histopathological chronicity index of lupus nephritis. The data were analyzed using unpaired *t* test and *Pearson* correlation. The result shows a significant difference between the mean of the cases (lupus nephritis) (197,87 $\pm$ 96,74) and the control group (non lupus nephritis) (17,82 $\pm$ 18) on the measurement levels of IFN- γ urine, while no significant difference ($p=0,425>\alpha$) in TGF- β 1 between the case group (34,51 $\pm$ 11,17) and the control group (30,27 $\pm$ 5,87). A positive and strong correlation was identified between levels of IFN- γ urine and urinary TGF- β 1 ($p=0,000$, $r<0,787$), the chronicity index and urine levels of IFN- γ ($r<0,674$), and chronicity index and TGF- β 1 as well ($r<0,764$). It can be concluded that level of IFN- γ and TGF- β 1 can be used as biomarker candidates for nephritis lupus.

Keywords: Index chronicity, IFN- γ , TGF- β 1, nephritis lupus, urine

PENDAHULUAN

Lupus Eritematosus Sistemik (LES) adalah penyakit autoimun yang terjadi karena produksi antibodi terhadap komponen inti sel tubuh sendiri yang berkaitan dengan manifestasi klinik yang sangat luas pada satu atau beberapa organ tubuh, dan ditandai oleh inflamasi luas pada pembuluh darah dan jaringan. Salah satu manifestasi paling serius adalah nefritis lupus (NL). Sebanyak 40-60% pasien NL dapat berakhir dengan *End Stage Renal Disease* (ESRD) meskipun telah diberikan terapi imunosupresif yang agresif (1).

Untuk mengetahui komplikasi NL deteksi yang lazim digunakan adalah dengan biopsi ginjal yang merupakan metode invasif dan tidak mungkin dilakukan secara berulang-ulang (1). Untuk itu diperlukan suatu biomarker yang dapat menggambarkan aktivitas penyakit. Biomarker urin merupakan pilihan sebagai biomarker NL pada saat ini karena urin mudah didapat, mudah diambil berkali-kali dan tidak invasif serta lebih akurat membedakan penyakit ginjal dengan organ lain. Dalam penelitian ini biomarker urin yang dipilih adalah TGF- β 1 dan IFN- γ . Biomarker ini dipilih karena peran TGF- β 1 yang masih kontradiktif sebagai antiinflamasi dan terlibat dalam pembentukan fibrosis jaringan ginjal, sedangkan IFN- γ merupakan proinflamasi yang paling kuat yang memberikan kontribusi pada proses inflamasi dan kerusakan jaringan (2,3). TGF- β 1 merupakan sitokin imunomodulator (anti-inflamasi) yang mempunyai efek profibrotik. Efek tersebut terjadi melalui induksi ekspresi gen kolagen, meningkatkan transkripsi reseptor matriks ekstrasel dan menghambat protein yang terlibat dalam pemecahan matrik ekstrasel (4).

Penelitian tentang TGF- β 1 sebagai biomarker inflamasi atau fibrosis masih menjadi kontroversi. Diperlukan penelitian lebih lanjut tentang peran TGF- β 1 sebagai biomarker fibrosis ginjal pada nefritis lupus. Di Indonesia belum ada penelitian yang dilakukan untuk melihat peran kedua biomarker tersebut dihubungkan dengan indeks kronisitas nefritis lupus. Pendekatan ini diharapkan dapat menggantikan biopsi ginjal yang merupakan *gold standar* penegak diagnosis dan juga merupakan tindakan invasif untuk menggambarkan prognosis dari penyakit dengan cara yang lebih sederhana yaitu dengan menggunakan biomarker urin.

METODE

Penelitian ini merupakan studi observasional yang dilakukan secara *cross sectional*. Penelitian dilaksanakan di bagian ilmu penyakit dalam, laboratorium sentral dan bagian patologi anatomi RSSA Malang. Untuk mengukur kadar TGF- β 1 dan kadar IFN- γ menggunakan metode ELISA dan untuk mengukur histopatologi indeks kronisitas dilakukan biopsi ginjal. Dari pengumpulan data yang dilakukan sejak Mei 2011, terdapat 25 pasien LES yang bersedia berpartisipasi pada penelitian ini dan menandatangani *informed consent*. Subjek penelitian didapatkan dari 20 pasien nefritis dan 5 orang lupus non nefritis. Pada penelitian ini diteliti perbedaan kadar TGF- β 1 urin dan IFN- γ urin pada kelompok kasus (nefritis lupus) dan kelompok kontrol (lupus non nefritis), kemudian dilihat hubungan antara kadar TGF- β 1 dan IFN- γ dengan indeks kronisitas.

Untuk mengukur kadar TGF- β 1 urin dengan metoda *sandwich enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) menggunakan antibodi spesifik untuk *human* TGF- β 1 dengan prosedur awal yaitu sampel diambil dari urin, disimpan dalam -80 °C didiamkan pada suhu ruangan (18-25°C) dahulu sebelum diperiksa. Pada sumur mikrotiter yang telah dilapisi antibodi anti-human TGF- β 1 yang sudah diaktivasi kemudian ditambahkan sampel urin 100 μ l yang telah diinkubasi selama 2,5 jam pada suhu 4°C dengan dishaker. Kemudian dilakukan pencucian 4x dan ditambahkan *biotinylated antibody HRP-conjugated streptavidin* selama 45 menit sambil dishaker. Kemudian dilakukan pencucian kembali dan ditambahkan *TMB substrate solution* untuk memberikan warna pada TGF- β 1 yang terikat. Reaksi dihentikan dengan penambahan *stop solution*, kemudian dibaca dengan ELISA reader pada gelombang 450 nm. Hasil yang didapat kemudian diplotkan pada kurva standar untuk mendapatkan kadar TGF- β 1 dalam pg/ml.

Pengukuran kadar IFN- γ urin dengan metoda *sandwich enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) menggunakan antibodi spesifik untuk *human* IFN- γ . Sampel diambil dari urin, disimpan dalam -80°C didiamkan pada suhu ruangan (18-25°C) sebelum diperiksa. Pada sumur mikrotiter yang telah dilapisi antibodi biotin ditambahkan sampel urin 100 μ l yang telah diencerkan dan diinkubasi selama 2,5 jam pada suhu 4°C dengan dishaker. Kemudian dilakukan pencucian 4x dan ditambahkan *biotinylated antibody HRP-conjugated streptavidin* dan diinkubasi selama 45 menit sambil dishaker. Kemudian dilakukan pencucian kembali dan ditambahkan *TMB substrate solution* untuk memberikan warna pada IFN- γ yang terikat dan diinkubasi kembali selama 30 menit dengan dishaker. Reaksi dihentikan dengan penambahan *stop solution*, kemudian dibaca dengan ELISA Reader pada 450 nm. Hasil yang didapat kemudian diplotkan pada kurva standar untuk mendapatkan kadar IFN- γ dalam pg/ml.

Untuk pengukuran indeks kronisitas didapatkan melalui biopsi jaringan ginjal yang kemudian dianalisis dibagian patologi anatomi untuk menentukan derajat gambaran histopatologi dengan parameter dinilai dari skala 0 (absen), 1 (ringan), 2 (sedang) dan 3 (berat). Skor akhir didapat dengan menjumlahkan semua skor dari setiap parameter. Penelitian menunjukkan bahwa indeks kronisitas >4 berhubungan dengan menurunnya survival ginjal (5). Analisis hasil penelitian menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov* untuk uji normalitas data dan uji *Lavene Statistic* untuk uji homogenitas. Data dianalisis menggunakan uji *t* tidak berpasangan dan uji korelasi.

HASIL

Tabel 1 menunjukkan bahwa untuk kategori jenis kelamin hampir seluruhnya adalah perempuan yaitu 93,1% dan hanya 6,9% laki-laki. Usia terbanyak adalah 21-30 sebanyak 44,8%, usia 31-40 sebanyak 34,5% dan hanya sebagian kecil yang berusia 10-20 yaitu 20,7%. Ditinjau dari lamanya sakit diperoleh data bahwa yang terbanyak adalah antara 1-2 tahun yaitu sebanyak 48,3%, >2 tahun sebanyak 34,5% dan hanya 17,2% saja yang kurang dari 1 tahun. Gejala klinis yang ditemukan sebagian besar adalah nefritis yaitu 82,7%, nyeri sendi 55,2%, rash 51,7%, odema 27,6% dan serositis 103%.

Tabel 1. Karakteristik subjek penelitian

Karakteristik	Parameter	Proporsi (n=25)
Jenis Kelamin	Laki-laki	6,9%
	Perempuan	93,1%
Usia	10-20 tahun	20,7%
	21-30 tahun	44,8%
	31-40 tahun	34,5%
Lama Sakit	< 1 tahun	17,2%
	1-2 tahun	48,3%
	> 2 tahun	34,5%
Gejala Klinis	Nefritis	82,7%
	Odema	27,6%
	Nyeri Sendi	55,2%
	Rash	51,7%
	Serositis	10,3%

Indeks kronisitas dilihat dari hasil pemeriksaan patologi anatomi dari biopsi jaringan ginjal dari pasien NL dan dinilai berdasarkan derajat gambaran histologi. Dari hasil penelitian yang dilakukan pada 25 pasien NL didapatkan bahwa hampir seluruhnya atau 92% adalah termasuk kategori rendah yaitu nilai indeks kronisitas pada skala 0-4, sedangkan hanya 8% saja yang mempunyai indeks kronisitas tinggi yaitu >4.

Perbandingan mean kadar TGF- β 1 urin antara kelompok kontrol (lupus non nefritis) ($30,27 \pm 5,87$) dan kelompok kasus (nefritis lupus) ($34,51 \pm 11,17$) dari hasil uji *t* tidak berpasangan menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan ($p=0,425$). Kadar IFN- γ urin pada uji *t* menunjukkan mean kelompok kasus (nefritis lupus) lebih tinggi secara ($197,87 \pm 96,74$) signifikan dibandingkan kelompok kontrol (lupus non nefritis) ($17,82 \pm 18$).

Gambar 1. Histogram mean $\pm$ standar deviasi kadar IFN- γ urin dan kadar TGF- β 1 urin kelompok kontrol dan kelompok kasus

Pada uji korelasi menunjukkan ada hubungan antara kadar IFN- γ urin dan TGF- β 1 urin yang signifikan ($p=0,000$) dengan koefisien korelasi kuat ($r=0,787$). Indeks kronisitas dengan kadar IFN- γ urin menunjukkan korelasi sedang dan signifikan ($r=0,674$; $p=0,000$). Begitu juga antara indeks kronisitas dan TGF- β 1 urin menunjukkan koefisien korelasi kuat ($r=0,764$; $p=0,000$). Semakin tinggi kadar IFN- γ urin semakin tinggi pula kadar TGF- β 1 urin. Semakin tinggi indeks kronisitas semakin tinggi pula kadar IFN- γ urin dan kadar TGF- β 1 urin.

DISKUSI

Nefritis merupakan manifestasi serius dari LES penyebab

morbiditas dan mortalitas. Sepertiga dari pasien nefritis lupus memiliki flare meskipun telah dilakukan terapi pengobatan terbaik dan berkembang menjadi stadium akhir pada penyakit ginjal (*end-stage renal disease*) (5). Banyak kasus nefritis lupus menunjukkan bahwa respon inflamasi di ginjal akan diikuti deposisi kolagen dan matriks ekstraseluler lain secara berlebihan, sehingga menyebabkan terjadi fibrosis. Secara sederhana fibrosis ginjal merupakan kegagalan proses penyembuhan luka di jaringan ginjal. Fibrosis ginjal yang progresif pada akhirnya akan menimbulkan gagal ginjal yang membutuhkan dialisis atau transplantasi ginjal (6,7).

Penelitian ini menggunakan 25 sampel pasien LES yang terdiri atas 20 pasien dengan nefritis lupus dan 5 pasien non nefritis lupus. Karakteristik pasien menunjukkan bahwa dari data demografi jenis kelamin 93,1% adalah perempuan. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilaporkan oleh Rus (2007) yang menyatakan bahwa rasio prevalensi LES antara perempuan dan laki-laki sebesar 9:1 (8). Hasil juga menunjukkan rentang usia yang paling banyak berkisar antara 21-30 tahun yaitu sebesar usia 64%. Hal ini sesuai dengan penelitian yang menyebutkan bahwa sebagian besar pasien LES berkembang menjadi nefritis pada awal penyakitnya (9). Penelitian lain juga menunjukkan rata-rata onset penyakit pada pasien dengan nefritis lupus lebih muda dibandingkan dengan pasien LES tanpa nefritis (10).

Sitokin yang memainkan peranan penting dalam mengatur kuantitatif dan kualitatif respon sel T, sel B, makrofag dan beberapa jenis tipe sel lain antara lain adalah TGF- β 1 dan IFN- γ . TGF- β 1 memainkan peran ganda selama pengembangan dan perkembangan imun yang dimediasi penyakit inflamasi. Peningkatan produksi TGF- β 1 dalam jaringan menginduksi fibrogenesis dan akhirnya menyebabkan kerusakan organ (11). Dari hasil uji *t* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan kadar IFN- γ pada pasien kelompok kasus (nefritis lupus) dan kelompok kontrol (lupus non nefritis). Hal ini sesuai dengan teori yang menyatakan bahwa IFN- γ adalah anti-proliferasi untuk berbagai jenis sel (12). Sitokin IFN- γ adalah sitokin multipoten yang diproduksi oleh sel teraktivasi dan NK sel yang memiliki sifat anti-proliferasi, imunomodulator dan efek anti-virus (13). Telah banyak dipelajari tentang peran keluarga IFN sebagai sitokin pada penyakit autoimun dalam hal ini adalah pada LES. Peningkatan kadar IFN umumnya diamati pada pasien lupus sering berhubungan dengan aktivitas penyakit dan dipengaruhi oleh genetik (14). Beberapa studi juga membuktikan peran IFN- γ dalam patogenesis lupus, di antaranya adalah penelitian pada hewan coba, yang menyebutkan bahwa IFN- γ meningkat khususnya dalam tahap akhir penyakit (15).

Sitokin IFN- γ merupakan sitokin Th1 yang khas, selain meningkatkan mediasi sel imun juga menggambarkan nefritis lupus melalui pembesaran sel B dan aktivitas sekresi antibodi, sehingga akhirnya ke kompleks imun yang dimediasi cedera jaringan (16). Selain efek sistemik, IFN- γ juga memainkan peran dalam perkembangan proses inflamasi lokal di ginjal oleh aktivasi monosit, makrofag atau sel ginjal itu sendiri. Pada penelitian lupus manusia yang dilakukan oleh Akahoshi et al mengamati ekspresi IFN- γ lebih tinggi dalam difus glomerulonefritis proliferatif, terutama di interstitium bukan di glomeruli.

Uji perbandingan kadar TGF- β 1 pada pasien kelompok

kasus dan kelompok kontrol tampak tidak ada perbedaan yang signifikan. Hal ini dapat disebabkan karena adanya faktor polimorfisme TGF- β 1 tertentu yang mempengaruhi ekspresi TGF- β 1 yang sama pada kelompok pasien dan kontrol. Menurut Wang *et al* gen TGF β 1 mempunyai berbagai polimorfisme, meliputi C-988A, G-800A, dan C-509T pada *promoter region*, posisi 72 (C *insertion*) pada *non-translated region*, dan C263T (Thr/Ile), T869C (Leu/Pro), G915C (Arg/Pro) pada *coding region*. Masing-masing populasi memiliki polimorfisme tertentu. Seperti populasi di Jepang terutama memiliki polimorfisme T869C, tetapi tidak untuk 915C. Polimorfisme T869C dari gen TGF β 1 tidak berbeda antara pasien LES dan kontrol sehat (17). Penelitian Colucci *et al*, menunjukkan bahwa 915C TGF- β 1 berhubungan dengan perkembangan NL (18).

Dengan terapi supresi respon imun, maka ekspresi TGF-1 akan menurun. Hal ini sejalan dengan penelitian Chan, dkk bahwa ekspresi messenger (m)RNA maupun TGF-1 pada urin pasien dengan NL aktif akan menurun dengan pemberian imunosupresif terapi yang berhasil (18). Begitu juga hasil penelitian yang dilakukan Goumenos *et al* menunjukkan peningkatan ekspresi TGF- β 1 di ginjal serta kadarnya di dalam urin pasien *crenscentic nephritis* (19). Kelainan ini ditandai dengan terbentuknya *celluler crescents* dan segera akan menjadi fibrosis yang tidak dapat diperbaiki. Kesimpulan penelitian tersebut menyatakan peningkatan ekspresi TGF- β 1 di jaringan ginjal dan peningkatan ekskresinya di urin berhubungan dengan respon terhadap terapi imunosupresif pada pasien dengan *crenscentic nephritis* (19).

Alasan lain yang menyebabkan tidak ada perbedaan yang signifikan antara kelompok kasus dan kelompok kontrol adalah waktu paro yang singkat dari bentuk bebas/aktif dari TGF-1. TGF-1 disekresi dalam bentuk inaktif/laten atau membentuk kompleks dengan protein. Oleh karena itu sebelum dilakukan pemeriksaan ELISA terlebih dahulu dilakukan prosedur untuk melepaskan protein pada bentuk kompleks menjadi bentuk bebas. Tetapi bentuk bebas ini mempunyai waktu paro yang sangat singkat, yaitu 2 menit. Tidak stabilnya bentuk bebas ini akan dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan TGF-1.

Penelitian lain yang dilakukan oleh Saxena melaporkan bahwa kadar TGF- β 1 yang diukur dari jaringan ginjal berkorelasi sangat kuat dengan gagal ginjal kronis, terutama dengan penyakit tubulointerstitial dan glomerulosklerosis (9). Penelitian Salam dan Saleh mendukung penelitian sebelumnya dengan menyatakan bahwa TGF- β 1 berkorelasi sangat kuat pada gagal ginjal kronis dibandingkan dengan gagal ginjal akut (20). Begitu

pula studi yang dilaporkan oleh Sanaa M, melaporkan TGF- β 1 urin memainkan peranan penting pada gambaran klinis pada nefritis lupus yang berat (18).

Dari 25 pasien lupus nefritis dan lupus non nefritis yang dilakukan pemeriksaan indeks kronisitas didapatkan hasil sebagian besar mempunyai indeks kronisitas rendah (0-4) yaitu sebanyak 92% dan indeks kronisitas tinggi (>4) hanya sebagian kecil saja yaitu 8%, seperti yang terlihat pada tabel 4. Hal ini kemungkinan disebabkan karena jumlah sampel yang kecil dan juga subjek penelitian telah mendapatkan terapi sehingga telah menunjukkan perbaikan prognosis. Dari hasil uji korelasi TGF- β 1 dan IFN- γ dengan indeks kronisitas didapatkan korelasi yang signifikan ditunjukkan dengan tingkat keeratan hubungan yang sangat kuat. Hal ini sesuai dengan mekanisme patogenesis fibrosis ginjal. Respon inflamasi yang ditandai dengan peningkatan sitokin proinflamasi di ginjal akan diikuti deposisi kolagen dan matrik ekstraseluler lain secara berlebihan, sehingga menyebabkan terjadinya fibrosis ginjal dan menunjukkan indeks kronisitas meningkat.

Mekanisme patogenesis fibrosis ginjal adalah suatu proses yang terjadi terus menerus, sehingga menimbulkan akumulasi dan deposisi komponen matriks ekstraseluler secara berlebihan. Adanya jejas akan mengaktifasi sel ginjal lokal, yang akan memproduksi sitokin fibrogenik. Hal tersebut mengakibatkan sel mesangial, sel fibroblas dan sel epitel tubulus untuk memproduksi matriks ekstraseluler yang akan terdeposisi pada kompartemen ekstraseluler (9). Beberapa faktor yang kemungkinan mempengaruhi hasil penelitian ini, antara lain kondisi lingkungan, genetik dan riwayat penyakit dan penggunaan obat-obatan yang bersifat imunosupresan yang berbeda pada subjek penelitian. Hal ini sesuai dengan teori yang menyatakan bahwa LES merupakan penyakit yang melibatkan banyak gen. Pada individu yang memiliki predisposisi genetik, alel normal dari beberapa gen normal masing-masing berkontribusi terhadap respon imun abnormal yang kecil, jika beberapa variasi jumlah berakumulasi maka penyakit akan terjadi. Rangsangan lingkungan juga dapat mempengaruhi kemunculan LES dengan peningkatan apoptosis pada sel kulit atau dengan mengubah DNA dan protein intraseluler dan membuatnya menjadi antigenik (16,18).

Hasil menunjukkan terdapat hubungan kuat dan signifikan antara kadar TGF- β 1 urin dengan IFN- γ urin, dan indeks kronisitas dengan kadar IFN- γ urin dan TGF- β 1 urin. Dapat disimpulkan kadar TGF- β 1 dan IFN- γ urin mempunyai potensi sebagai biomarker kronisitas nefritis lupus.

DAFTAR PUSTAKA

1. Balow JE. *Clinical Presentation and Monitoring of Lupus Nephritis*. *Lupus Journal*. 2005; 14: 25-30.
2. August P and Suthanthiran M. *Transforming Growth Factor Beta and Progression of Renal Disease*. *Kidney international*. 2003; 64: 99-104.
3. August P, Sharma V, and Ding R. *Transforming Growth Factor Beta and Excess Burden of Renal disease*. *Transactions of the American Clinical and Climatological Association*. 2010; 120: 61-72.
4. Amani D, Dehaghani AS, Zolghadri J, *et al*. *Lack of Association between the TGF- β 1 Gene Polymorphisms and Recurrent Spontaneous Abortion*. *Journal of Reproductive Immunology*. 2005; 68(1): 91-103.
5. Dooley M A. *Clinical and Laboratory Features of Lupus Nephritis*. In: Wallace DJ (Ed). *Dubois' Lupus Erythematosus* 7th edition. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2007; p. 1112-1124.
6. Mok CC. *Biomarkers for Lupus Nephritis: A Critical Appraisal*. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2001; 1(1): 1-2.

7. Liu Y. *Renal Fibrosis. New Insight into the Pathogenesis and Therapeutic Approaches*. Kidney International. 2006; 69: 213-217
8. Rus V, Maury EE, and Hochberg MC. *Epidemiology of Systemic Lupus Erythematosus*. In: Wallace DJ (Ed). *Dubois Lupus Erythematosus* 7th edition. New York: Lippincott Williams & Wilkins; 2007.
9. Saxena R, Mahajan T, and Mohan C. *Lupus Nephritis: Current Update*. Arthritis Research & Therapy. 2011; 13(5): 240.
10. Wallace DJ, Podell T, Weiner J, et al. *Systemic Lupus Erythematosus-Survival Patterns. Experience with 609 Patients*. Journal of the American Medical Association. 1981; 245: 934-938.
11. Yu S, Sharp GC, and Braley-Mullen H. *TGF- β Promotes Thyroid Epithelial Cell Hyperplasia and Fibrosis in IFN- γ -Deficient NOD.H-2h4 Mice*. The Journal of Immunology. 2008; 181(3): 2238-2245.
12. Li Y, Tucci M, Narain S, et al. *Urinary Biomarkers in Lupus Nephritis*. Autoimmunity Reviews. 2006; 5(6): 383-388.
13. Joan Massagué and Ye-Guang Chen. *Controlling TGF- β Signaling*. Genes and Development. 2000; 14: 627-644.
14. Blanco P, Palucka AK, Gill M, Pascual V, and Banchereau J. *Induction of Dendritic Cell Differentiation by IFN- α in Systemic Lupus Erythematosus*. Science. 2001; 294: 1540-1543.
15. Banchereau J and Pascual V. *Type I Interferon in Systemic Lupus Erythematosus and Other Autoimmune Diseases*. Immunity. 2006; 25: 383-392.
16. Theofilopoulos AN, Baccala R, Beutler B, and Kono DH. *Type I Interferons (A/B) in Immunity and Autoimmunity*. Annual Review of Immunology. 2005; 23: 307-335.
17. Wang B, Morinobu A, and Kanagawa S. *TGF β 1 Gene Polymorphism in Japanese Patients with Systemic Lupus Erythematosus*. Kobe Journal of Medical Sciences. 2007; 53: 15-23.
18. Colucci G, Floege J, and Schena FP. *The Urinary Sediment beyond Light Microscopical Examination*. Nephrology Dialysis Transplantation. 2006; 21: 1482-1485.
19. Goumenos DS, Kalliakmani P, Tsakas S, Sotsiou F, and Vlachojannis JG. *Urinary Transforming Growth Factor- β 1 as a Marker of Response to Immunosuppressive Treatment, in Patients with Crescentic Nephritis*. Biomed Central Nephrology. 2005; 6: 16.
20. Salam SMA, Saleh SHA, El-Shahawy EE, and Moety HA. *Assessment of Plasma and Urinary Transforming Growth Factor β 1 (TGF- β 1) in Children with Lupus Nephritis*. The Egyptian Journal of Pediatric Allergy and Immunology. 2011; 9(1): 21-27.