

Lubbe S, Tikly M, van der Merwe L, et al. Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphisms are associated with disease severity in Black South Africans with rheumatoid arthritis. *Point Bone Spine* 2008;75:422–425.

Mandrup-Poulsen T, Pociot F, Molvig J, et al. Monokine antagonism is reduced in patients with IDDM. *Diabetes* 1994;43:1242–1247.

Meulenbelt I, Seymour AB, Nieuwland M, et al. Association of the interleukin-1 gene cluster with radiographic signs of osteoarthritis of the hip. *Arthritis Rheum* 2004;50:1179–1186.

Shinkai K, McCalmont TH, Leslie KS. Cryopyrin-associated periodic syndromes and autoinflammation. *Clin Exp Dermatol* 2007;33:1–9.

Stankovic K, Grateau G. Auto-inflammatory syndromes: diagnosis and treatment. *Point Bone Spine* 2007;74:544–550.

Tan ZS, Beiser AS, Vasan RS, et al. Inflammatory markers and the risk of Alzheimer disease: the Framingham Study. *Neurology* 2007;68:1902–1908.

Identifikace antigenu, proti němuž jsou cíleny protilátky u idiopatické membranózní nefropatie

Beck LH, Jr., Bonegio RGB, Lambeau G, et al. M-type phospholipase A2 receptor as target antigen in idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med* 2009;361:11–21.

Idiopatická membranózní nefropatie je mezi primárními glomerulonefritidami nejčastější příčinou nefrotického syndromu u dospělých. Model membranózní nefropatie – Heymannova nefritida u potkanů – je charakterizován subepitelovými imunodepozity, které vznikají vazbou cirkulujících protilátek na podocytární antigen megalin s následným uvolněním imunokomplexu z povrchu podocyty (Kerjaschki et al., 1982; Saito et al., 1994). Vzhledem k tomu, že megalin není na povrchu lidských podocytů exprimován, předpokládá se již dlouho, že u idiopatické membranózní nefropatie u lidí reaguje s předpokládanými antipodocytárními protilátkami jiný podocytární antigen. Tato představa byla dále podpořena pozorováním francouzských autorů, kteří prokázali u nefrotického novorozence matky s mutací a chybějící podocytární expresí neutrální endopeptidázy idiopatickou membranózní nefropatii a protilátky proti neutrální endopeptidáze (Debiec et al., 2004). Nicméně ani neutrální endopeptidáza není zřejmě hlavním cílovým antigenem u dospělých pacientů s idiopatickou membranózní nefropatií.

V komentované práci se autorům podařilo pomocí protilátek cirkulujících u pacientů s idiopatickou membranózní nefropatií identifikovat glomerulární antigen, s nímž protilátky reagují, jako M-tytu receptoru pro fosfolipázu A₂. Glomeruly byly izolovány z ledvin nevhodných pro transplantaci, extrahované glomerulární proteiny byly dále deglykosylovány a kontaminující IgG byl odstraněn vazbou na protein G. Elektroforeticky rozdělené glomerulární proteiny pak byly vystaveny reakci se sérem pacientů s idiopatickou membranózní nefropatií a také s imunoglobuliny extrahovanými z renálních biopsií pacientů s idiopatickou i lupusovou membranózní nefropatií a IgA nefropatií. Glomerulární proteiny reagující s cirkulujícími protilátkami byly poté po odstranění navázaných imunoglobulinů analyzovány pomocí kombinace kapalinové chromatografie a hmotnostní spektrometrie s využitím databázi lidských proteinů.

U 26 z 37 vyšetřovaných pacientů byl identifikován jako suspektní antigen protein o molekulové hmotnosti 185 kD, který reagoval se sérem pacientů s idiopatickou membranózní nefropatií, ale nereagoval se sérem pacientů s lupusovou membranózní nefropatií a membranózní nefropatií asociovanou s HBV infekcí, jinými autoimunitními chorobami, fokálně segmentální glomerulosklerózou a diabetickou nefropatií. Deglykosylace antigenu vedla k poklesu jeho molekulové hmotnosti na 145 kD, a prokázala tedy, že je významně glykosylován. Z testovaných kandidátních proteinů byl posléze jako antigen, s kterým reaguje sérum většiny vyšetřovaných pacientů s idiopatickou membranózní nefropatií, identifikován M-tytu receptoru proti fosfolipáze A₂. Tento antigen reagoval především s IgG4 podtřídou imunoglobulinu

linu G, která je také zvýšeně zastoupena v subepitelových depozitech pacientů s idiopatickou membranózní nefropatií. M-tytu receptoru pro fosfolipázu A₂ necirkuluje v séru a u pacientů s idiopatickou membranózní nefropatií nebylo možno prokázat ani cirkulující imunokomplexy obsahující tento antigen. Naproti tomu bylo možno prokázat expresi M-tytu receptoru pro fosfolipázu A₂ na povrchu normálních i imortalizovaných lidských podocytů a kolokalizaci M-tytu receptoru pro fosfolipázu A₂ a IgG4 v subepitelových depozitech u pacientů s idiopatickou membranózní nefropatií. IgG vymytý z renálních biopsií těchto pacientů také reagoval s receptorem pro fosfolipázu A₂. Protilátky proti M-tytu receptoru pro fosfolipázu A₂ byly přítomny u pacientů s aktivním onemocněním a u pacientů v remisi jejich titr klesal nebo nebyly identifikovatelné vůbec.

■ KOMENTÁŘ

Prof. MUDr. Vladimír Tesař, DrSc.

Autoři komentované práce tedy prokázali, že u většiny (cca 70 %) pacientů s idiopatickou membranózní nefropatií je cílovým antigenem cirkulujících antipodocytárních protilátek M-tytu receptoru pro fosfolipázu A₂ glykoprotein, který je normálně lidskými podocyty exprimován. Cirkulující protilátky i protilátky deponované v imunodepozitech reagující s receptorem pro fosfolipázu A₂ jsou zejména izotypu IgG4, což odpovídá aktivaci Th2-lymfocytů popsané již dříve u pacientů s idiopatickou membranózní nefropatií. Protilátky jsou pro idiopatickou membranózní nefropatii specifické a titr protilátek zřejmě souvisí s aktivitou onemocnění – klesá v remisi.

Protilátky proti M-tytu receptoru pro fosfolipázu A₂ autoři našli jen u cca 70 % pacientů. Momentálně není jasné, zda jsou u zbývajících 30 % pacientů přítomny jiné protilátky (použité metody sice neukázaly na další možné kandidátní proteiny, ale nelze vyloučit, že některé „skryté“ antigeny nemusely být danými metodami odhaleny), nebo zda onemocnění již nebylo u pacientů s negativními protilátkami přes přítomnou proteinurii imunologicky aktivní. Titr protilátek ale neměl vztah ani k závažnosti ani k délce trvání onemocnění.

Význam podocytární exprese receptoru pro fosfolipázu A₂ (Zvarith et al., 1996) není jasný, ani není zcela jasné, jaké jsou další ligandy tohoto receptoru s výjimkou secernované fosfolipázy A₂. Není také jasné, zda je role receptoru pro fosfolipázu A₂ u idiopatické membranózní nefropatie jen pasivní (rozhodující není typ antigenu, důležité je, že se antigen uvolňuje z povrchu podocyty a vytváří s cirkulující protilátkou subepitelové imunokomplexy), nebo zda v patogenезi idiopatické membranózní nefropatie může hrát (přídátnou) roli i aktivace nebo inhibice tohoto receptoru (viz níže). Další otevřenou otázkou zůstává, proč cirkulující protilátky nereagují s receptorem pro fosfolipázu A₂ také v plicích nebo na povrchu leukocytů (kde je tento receptor také exprimován), eventuálně proč nevede reakce cirkulujících protilátek s receptorem pro fosfolipázu A₂ mimo ledviny k orgánovému poškození.

Fosfolipázy A₂ nefungují jen jako klíčové enzymy umožňující uvolnění kyseliny arachidonové z membránových lipidů a její

metabolizaci na prostaglandiny a další eikosanoidy, ale jsou také uvolňovány (secernovány) do cirkulace. Existuje minimálně pět různých secernovaných fosfolipáz A_2 (Lambeau et al., 1999), které se váží na dva hlavní typy receptorů (typ M a N). Secernované fosfolipázy mohou modifikovat LDL a aktivovat systém renin-angiotensin-aldosteron (Divchev et al., 2008), a působí tedy nejen prozánětlivě, ale i proaterogenně. M-typ receptoru pro fosfolipázu A_2 působí jako inhibitor fosfolipázy A_2 , a působí tedy protizánětlivě. Inhibice M-typu receptoru pro fosfolipázu A_2 cirkulujícími protilátkami tak může i v glomerulech (podocytech) aktivovat tvorbu eikosanoidů i systém renin-angiotensin-aldosteron.

Objev cílového antigenu u pacientů s idiopatickou membranózní nefropatií má zásadní význam nejen pro potvrzení předpokládané autoimunitní patogeneze tohoto onemocnění. Rutinní vyšetřování cirkulujících protilátek proti fosfolipáze A_2 by mohlo umožnit diagnózu idiopatické membranózní nefropatie i bez provedení renální biopsie, mělo by umožnit odlišení idiopatické membranózní nefropatie od symptomatické membranózní nefropatie u systémového lupus erythematoses, nádorů či hepatitidy B (a ušetřit pacientům některá zbytečná a event. i invazivní vyšetření) a dále by mělo umožnit monitorovat aktivitu onemocnění a intenzitu (a efektivitu) imunosupresivní léčby velmi pravděpodobně přesněji než sledování proteinurie. Ta pravděpodobně odpovídá na terapii pomaleji než titr protilátek a reziduální proteinurie může pouze odrážet poškození podocytů a je nyní někdy zřejmě zbytečně léčena imunosupresí.

Doufám, že všechna tato očekávání budou dalšími studiemi potvrzena (nebo alespoň jejich většina) a že povedou ke zlepšení diagnostiky a léčby pacientů s tímto poměrně častým glomerulárním onemocněním.

Literatura

Debiec H, Nauta J, Coulet F, et al. Role of truncating mutations in MME gene in fetomaternal alloimmunisation and antenatal glomerulopathies. *Lancet* 2004; 364:1252–1259.

Divchev D, Schieffer B. The secretory phospholipase A_2 IIA: a missing link between inflammation, activated renin-angiotensin system, and atherogenesis? *Vasc Health Risk Management* 2008;4:597–604.

Kerjaschki D, Farquhar MG. The pathogenic antigen of Heymann nephritis is a membrane glycoprotein of the renal proximal tubule brush border. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982;79:5557–5561.

Lambeau G, Lazdunski M. Receptors for a growing family of secreted phospholipases A_2 . *Trends in Pharmacol Sci* 1999;20:162–170.

Saito A, Pietromonaco S, Loo AK, et al. Complete cloning and sequencing of rat gp330/“megalin”, a distinctive member of the low density lipoprotein receptor gene family. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:9725–9729.

Zvaritch E, Lambeau G, Lazdunski M. Endocytic properties of the M-type 180-kDa receptor for secretory phospholipases A_2 . *J Biol Chem* 1996;271:250–257.