

Nové biomarkery dysfunkce transplantované ledviny

Quintana LF, Gonzales AS, Kalko SG, Bañon-Maneus E, Sole M, Diekman F, Gutierrez-Dalma A, Abian J, Campistol JM. Urine proteomics to detect biomarkers for chronic allograft dysfunction. *J Am Soc Nephrol* 2009;20:428–435.

Transplantace ledviny představuje metodu volby léčby při nezvratném selhání ledvin. I když bylo dosaženo mnoha úspěchů, u velké části nemocných se vyvine progresivní dysfunkce štěpu neohledně na dostatečnou imunosupresi. Návrat do dialyzační léčby přitom trojnásobně zvyšuje riziko úmrtí těchto nemocných. Pokles funkce štěpu spolu s hypertenzí a proteinurií byl v minulosti nazván chronickou nefropatií alloštěpu (CAN). Tento pojem již byl z Banffské klasifikace odstraněn, a to proto, že představuje konglomerát rozličných procesů vedoucích k poškození štěpu. Zatím neexistují možnosti, jak odhalit nemocné, u nichž se již vyvíjí strukturální změny, ale ještě se nevinula hypertenze, proteinurie a dysfunkce štěpu.

Proteomické metody představují možnost, jak detekovat nové biomarkery předpovídající vznik různých onemocnění včetně dysfunkce štěpu. Hmotnostní spektrometrie umožňuje najednou detekovat velké množství proteinů v tělesných tekutinách nebo tkáních. Metoda MALDI-MS (*matrix-assisted laser desorption/ionisation time of flight mass spectrometry*) umožňuje detekovat stovky peaků signálu, které jako celek odpovídají složení těla. V současnosti se tato metoda používá pro detekci nádorových buněk. Vyšetření moči se zdá být ideální metodou, jak popsat změny při různých renálních onemocněních. Cílem této studie bylo zjistit, zda lze predikovat nespecifické poškození typu IF/TA, chronické aktivní rejekce zprostředkované protilátkami ve dvou kontrolních skupinách – u zdravých jedinců a u nemocných se stabilní funkcí transplantované ledviny.

Vyšetřeno bylo 50 nemocných, 32 s dysfunkcí štěpu a 18 v kontrolní skupině (10 zdravých jedinců a osm nemocných se stabilní funkcí transplantované ledviny). Celkem 14 nemocných mělo nespecifickou intersticiální fibrózu/tubulární atrofii (IF/TA); nejdříve bylo vyšetřeno osm nemocných, dalších šest ve validačním souboru. Podobně 18 nemocných bylo vyšetřeno s chronickou aktivní rejekcí zprostředkovanou protilátkami, 10 nemocných bylo vyšetřeno při úvodní analýze a osm ve validačním souboru. Všichni nemocní měli zjištěno C4d pozitivní barvení v biopsii štěpu a u všech byly zjištěny protilátky proti antigenům dárce.

Autoři zjistili rozdíly mezi kontrolní skupinou a pacienty s dysfunkcí štěpu. Nemocní s dysfunkcí štěpu (IF/TA a chronická humorální rejekce) měli vysoké peaky clusterů ve třech oblastech hmotnostní spektrometrie, kdežto u obou kontrolních skupin nebyly tyto peaky prokázány. Metoda hierarchického clusterování 2 000 proteinů ukázala rozdělení pacientů do čtyř skupin podle odlišného biologického chování, které odpovídalo původnímu rozdělení nemocných do skupin. V několika případech však došlo k překrytí mezi nemocnými s IF/TA a humorální rejekcí a mezi oběma kontrolními skupinami.

Tyto výsledky tak odhalily odlišný proteom v moči mezi skupinami normálními a s dysfunkcí transplantované ledviny. Dalším cílem bylo odlišit nemocné s IF/TA od pacientů s chronickou humorální rejekcí. Autoři našli celkem 366 peaků, které byly významně zvýšeny u nemocných s humorální rejekcí. Autoři vyšetřili další nemocné ve validačním souboru a opět pozorovali rozdíly mezi skupinami. Z těchto 366 proteinů pak statistickými

metodami identifikovali šest, které se stoprocentní jistotou odliší IF/TA od chronické humorální rejekce.

■ KOMENTÁŘ

Prof. MUDr. Ondřej Viklický, CSc.

Cílem klinického výzkumu v transplantologii je – podobně jako v jiných oborech – identifikovat jednotlivé patologické stavy pomocí neinvazivních biomarkerů. V případě transplantací ledvin máme zatím k dispozici pouze z histologie vycházející metody, které s větší či menší přesností odliší příčiny dysfunkce štěpu. Vždy je ale nutná biopsie transplantované ledviny. Biopsie je sice výkon rutinní, nicméně představuje pro pacienta zjevně nepohodlí a je zatížena malým, ale přesto existujícím rizikem krvácení. Vyšetření periferní krve je metodou jednodušší, stejně jako vyšetření moči, které asi nejlépe reflektuje procesy, k nimž dochází v ledvinách a v močových cestách. Vedle metod funkční genomiky (*microarray*, *RT-PCR*) představují proteomické metody (*hmotnostní spektrometrie*) a *metabolomické metody* (*MR spektroskopie*) nové možnosti, jak poznat lépe patogenezi jednotlivých onemocnění. Zcela zásadní pro správnou interpretaci výsledků je použití adekvátních statistických metod. V případě vyšetření tisíců různých markerů, ať již míry exprese jednotlivých genů nebo přítomnosti jednotlivých proteinů je jasné, že běžná statistika používaná před patnácti lety nestačí. Metody hierarchického clusterování umožní posoudit vzájemné vztahy biomarkerů mezi sebou a setřídí rovněž biologické chování těchto markerů do skupin. V případě této komentované práce autoři identifikovali v moči šest proteinů, které odliší dva zcela odlišné patologické procesy: nespecificky vzniklou intersticiální fibrózu/tubulární atrofii od chronické rejekce zprostředkované protilátkami s komplexní patogenezi. Identifikace těchto proteinů a popsání jejich funkce pak v budoucnosti může přispět k vytvoření jednoduchých kitů, založených např. na papírkových prouzcích. Ty by mohl mít nemocný doma a v případě pozitivního nálezu by mohl ošetřující tým včas terapeuticky zasáhnout do jinak nepříznivého vývoje. I když se může zdát tento přístup futuristický, cílem bylo čtenářům *Postgraduální nefrologie* ozřejmit i na první pohled poněkud odtážitou část z obsahu *JASN*, která však představuje základnu pro budoucí klinický výzkum.

Literatura

Boratyn GM, Datta S, Datta S. Biologically supervised hierarchical clustering algorithms for gene expression data. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* 2006;1:5515–5518.
Goldstein H, Browne W, Rasbash J. Multilevel modelling of medical data. *Stat Med* 2002;21:3291–315.

Konverze nemocných z léčby kalcineurinovými inhibitory na sirolimus

Schena FP, Pascoe MD, Alberu J, Carmen Rial del M, Oberbauer R, Brennan DC, Campistol JM, Racusen L, Dolinsky M, Goldber-Albers R, LI H, Scandola J, Neylan JF, for the Sirolimus CONVERT Trial Study Group. Conversion from calcineurin inhibitors to sirolimus maintenance therapy in renal allograft recipients: 24-months efficacy and safety results from the CONVERT trial. *Transplantation* 2009;87:233–242.

Krátkodobé přežívání ledvinových štěpů se rok od roku významně zlepšuje, dlouhodobé výsledky transplantací však tyto pozitivní krátkodobé trendy nenásledují. Za jednu z hlavních příčin je považována chronická nefropatie štěpu (CAN), která progresivně v čase narůstá a je způsobena nesourodým vlivem imunitních i neimunitních pochodů, toxicitu kalcineurinových inhibitorů (CNI) nevyjímaje. Minimalizace dávek CNI, nebo dokonce jejich úplné odstranění z imunosupresivních režimů je