FSP1 jako možný prediktor odpovědi na kortikosteroidy u nemocných s IgA nefropatií

Harada K, Akai Y, Yamaguchi Y, Kimura K, Nishitani Y, Nakatani K, Iwano M, Saito Y. Prediction of corticosteroid responsiveness based on fibroblast--specific protein 1 (FSP1) in patients with IgA nephropathy. Nephrol Dial Transplant 2008;23:3152–3159.

Kortikosteroidy patří mezi základní strategie léčby IgA nefropatie. Podle japonských guidelines pro léčbu IgA nefropatie jsou indikovány u nemocných s glomerulární filtrací > 70 ml/min/1,73 m^2, proteinurií > 0,5 g/den a aktivními histologickými změnami v renální biopsii. Problémem ale zůstává, jak monitorovat úspěšnost léčby či odpověď na ni, v indikaci takto „malých“ močových nálezů. Vystavovat nemocné riziku další renální biopsie je nepřijatelné. Proto se hledají faktory, které by mohly přispět k řešení tohoto problému. Jedním z nich, který by mohl sloužit k monitoraci aktivity IgA nefropatie a přítomnosti fibrózy je FSP1 – fibroblast-specific protein 1. Tento protein je specifickým markerem aktivovaných fibroblastů a bylo prokázáno, že fibroblasty pozitivní na FSP1 se akumulují v oblastech významné intersticiální fibrózy v ledvinách (Strutz, 1995; Iwano, 2004).

Autoři komentovaného článku ve svých předchozích pracích ukázali, že větší množství FSP1⁺ fibroblastů v renální tkáni (≥ 20 FSP1⁺ fibroblastů/na zorné pole mikroskopu) je spojeno s horší renální prognózou (Nishitani, 2005). Toto pozorování využili při hodnocení odpovědi nemocných na kortikosteroidy.

Do studie bylo zařazeno 50 nemocných (20 mužů a 30 žen; průměrný věk 38,2 ± 13,0 let) s IgA nefropatií, která byla potvrzena renální biopsií. Vyřazeni byli ti, kteří měli projevy Henoch-Schoenleinovy purpury či jiného systémového onemocnění. Podmínkou zařazení byla proteinurie/24 h > 0,5 g (rozmezí mezi 0,5–9,6 g; průměr 2,4 g) a aktivní změny v renální biopsii (celulární či fibrocelulární srpky, mesangiální proliferace a přítomnost zánětlivé celulizace v intersticiu). Za reprezentativní byla považována renální biopsie s > 10 glomeruly. Průkaz FSP1⁺ byl ve vzorcích renální biopsie prováděn pomocí anti-FSP protilátky (DAKO Envision + System peroxidase), a byly následně obarveny hematoxylinem. Počet FSP1⁺ buněk byl počítán v 10 náhodně vybraných zorných polích mikroskopu dvěma nezávislými patology a jejich výsledky zprůměrovány.

Pacienti obdrželi léčbu prednisolonem v dávce 30 mg/den po dobu šesti měsíců, po které se dávka pomalu snižovala a terapie byla ukončena po dvou letech. Současně bylo 31 nemocných léčeno inhibitory ACE, 38 nemocných blokátory receptorů AT_1 pro angiotensin II a všichni pak protidestičkovou terapií. Pacienti, u kterých byl na konci sledování vzestup sérového kreatininu (S_{kr}) < 100 % a snížení glomerulární filtrace < 50 % oproti vstupním hodnotám a současně pokles proteinurie < 1,0 g/den, byli označeni jako responderi. V opačném případě šlo o non-respondery. Průměrná doba sledování byla sedm let.

Na konci sledovaného období bylo za respondery označeno 38 nemocných, 12 zbylých nesplňovalo všechna potřebná kritéria a byli označeni za non-respondery (pět z nich mělo stabilní renální funkce, ale přetrvávala u nich proteinurie >1 g/24 h). Při porovnání skupin responderů a non-responderů se ukázalo, že se lišily ve vstupních parametrech S_{kr} (1,0 vs.1,4 mg/dl, p = 0,0109) a glomerulární filtrace (68,8 vs. 43,0 ml/min/1,73 m², p = 0,0142). Skupina responderů navíc měla v průběhu celého sledování stabilní renální funkci, zatímco non-respondeři měli na konci sledovaného období glomerulární filtraci výrazně sníženou v porovnání se vstupními hodnotami (p < 0,05). U obou skupin bylo zaznamenáno výrazné snížení proteinurie (p < 0,05) během sledovaného období, tento pokles byl ale podstatně vyšší u skupiny responderů v porovnání s non-respondery (p < 0,05). Skupina responderů zaznamenala také na konci sledování signifikantní snížení krevního tlaku a vzestup koncentrace celkové bílkoviny v porovnání se vstupními parametry (p < 0,05), zatímco tyto změny nebyly pozorovány ve skupině non-responderů.

Z hlediska histologického vyhodnocení bylo prokázáno, že non-respondeři měli v renální biopsii podstatně těžší mesangiální proliferaci a vyšší procento intersticiálního postižení. Současně u nich byl zaznamenán větší počet FSP1⁺ buněk. Za faktory, které byly spojeny s omezenou odpovědí na kortikosteroidy (tedy řadily dané jedince do skupiny non-responderů), byly prokázány glomeruloskleróza ve vzorku (globální či segmentální) > 53,5 % (se senzitivitou 0,5 a specificitou 0,95) a počet FSP1⁺ buněk > 32,6/zorné pole (senzitivita 0,75, specificita 0,87). Počet FSP1⁺ buněk pozitivně koreloval s koncentrací S_{kr} (p = 0,0003) a negativně s glomerulární filtrací (p = 0,0019), současně byla nalezena pozitivní korelace mezi počtem těchto buněk a procentuálním zastoupením glomerulární sklerózy a rozsahem intersticiální fibrózy. Při statistickém zpracování výsledků jednorozměrovou Coxovou regresní analýzou bylo jako faktorů ovlivňujících odpověď na kortikosteroidy nalezeno několik proměnných (včetně glomerulární filtrace, proteinurie, procentuálního zastoupení glomerulosklerózy a FSP1⁺ buněk), při současném použití dvou ko-variant byl jako jediný faktor, který ovlivňuje odpověď na kortikosteroidy, identifikován počet FSP1⁺ buněk.

Závěrem lze tedy konstatovat, že by stanovení počtu FSP1⁺ buněk ve vzorcích renální biopsie nemocných s IgA nefropatií mohlo být velmi užitečným faktorem predikce odpovědi na kortikosteroidy a mohlo by tedy některé nemocné ušetřit podávání kortikosteroidů, léků s četnými nežádoucími účinky.

KOMENTÁŘ
Doc. MUDr. Romana Ryšavá, CSc.

Je všeobecně známo, že IgA nefropatie je nejčastěji se vyskytující primární glomerulonefritidou bez ohledu na etnikum. Původní představy o benigním průběhu tohoto onemocnění jsou ale v poslední době překonány a ukazuje se, že 5–25 % nemocných vyvine terminální stadium chronického onemocnění ledvin během deseti let od stanovení diagnózy IgA nefropatie a v horizontu 20 let je to 25–50 % nemocných (Alamartine, 1991). Mezi nejrizikovější faktory ovlivňující rychlost této progrese patří perzistence a velikost proteinurie, snížená renální funkce v době diagnózy a samozřejmě přítomnost hypertenze a její kompenzace (D'Amico, 2000). Mezi další faktory, přispívající ke špatné prognóze onemocnění, se řadí některé histologické změny, jako například přítomnost srpků, tubulární postižení a rozsah fibrózy v intersticiu (Daniel, 2000).

Z hlediska přínosu nových poznatků o IgA nefropatii a její léčbě není tato práce průlomová, jelikož potvrzuje to, co je již delší dobu známo, a to že prognóza IgA nefropatie, a do určité míry i její odpověď na terapii kortikosteroidy, závisí na faktorech vyjmenovaných výše. V čem je ale nepochybný přínos tohoto sdělení je fakt, že byl nalezen určitý faktor, který se dá poměrně jednoduše stanovovat ve vzorcích renální biopsie, a dále, že bylo definováno kvantitativní množství FSP1⁺ buněk, které je klíčové pro odpověď na terapii kortikosteroidy. Zda je toto číslo (32,6 FSP1⁺ buněk/na zorné pole) skutečně přesné, by měly ověřit větší studie. Některé další práce popsaly expresi FSP1 i v jiných buňkách než jen fibroblastech, a to na povrchu tubulárních epiteliálních buněk, které se vyskytují v okolí fibrotických ložisek (tzv. EMT – epithelial-mesenchymal transition) (Iwano, 2002). Tyto buňky se ale nakonec transformují do fibroblastů, a tak metoda stanovení FSP1⁺ buněk může odhalit i jakési „prekursory" fibroblastů, které jsou pro odpověď na léčbu kortikosteroidy také velmi důležité.

Určitým metodologickým problémem při tomto způsobu vyšetřování může být lidský faktor (odečítající patolog), a tak by bylo k uvážení, zda tuto metodu nevylepšit např. navázáním protilátky s izotopem či jiným agens, jehož aktivitu by bylo možné detekovat přístrojově. Nepochybně zajímavé by rovněž bylo, kdyby byly k dispozici i renální biopsie po určité době léčby a bylo možné posoudit, zda došlo k poklesu FSP1⁺ buněk po terapii kortikosteroidy či zda jsou lepší výsledné parametry dány i jinými mechanismy či změnami. Z této práce vyplynulo a je do určité míry zajímavé, že množství FSP1⁺ buněk korelovalo (kromě laboratorních dat) jen s některými histologickými změnami, a sice procentuálním zastoupením sklerotických glomerulů, rozsahem intersticiálního postižení a zánětlivé infiltrace intersticia a závažností arteriolosklerózy. Nebyla nalezena korelace mezi počtem FSP1⁺ buněk a procentuálním zastoupením srpků v renální biopsii. To by tedy nepřímo dokládalo tvrzení některých autorů, že kombinovaná imunosupresivní léčba v případě srpkovité IgA nefropatie

nemá zásadní vliv na celkovou prognózu onemocnění, na rozdíl od přítomnosti fibrózních změn (Strippoli, 2003).

Ne zcela jasně bylo v práci definováno, kolik nemocných užívalo antihypertenzní léčbu, jaký druh a kolik jich mělo doporučovanou kombinaci inhibitoru ACE + blokátoru receptorů AT_1 pro angiotensin II, což je léčba ovlivňující nejen proteinurii, ale potlačující i produkci některých růstových faktorů, které mohou přispívat k fibrogenezi.

Literatura

Alamartine E, Sabatier JC, Guerin C, et al. Prognostic factors in mesangial IgA glomerulonephritis: en extensive study with univariate and multivariate analysis. Am J Kidney Dis 1991;18:12–19.

D'Amico G. Natural history of idiopathic IgA nephropathy: role of clinical and histological prognostic factors. Am J Kideny Dis 2000;36:227–237.

Daniel L, Saingra Y, Giorgi R, et al. Tubular lesions determinate prognosis of IgA nephropathy. Am J Kidney Dis 2000;35:13–20.

Iwano M, Neilson EG. Mechanisms of tubulointerstitial fibrosis. Curr Opin Nephrol Hypertens 2004;13:27–284.

Iwano M, Plieth D, Danoff (tm), et al. Evidence that fibroblasts derive from epithelium during tissue fibrosis. J Clin Incest 2002;110:341–350.

Nishitani Y, Iwano M, Yamaguchi Y, et al. Fibroblast-specific protein 1 is a specific prognostic marker for renal survival in patients with IgAN. Kidney Int 2005;68:1078–1085.

Strippoli GF, Manno C, Schena FP. An „evidence-based" survey of therapeutic options for IgA nephropathy: assessment and criticism. Am J Kidney Dis 2003;41:1129–1139.

Strutz F, Okada H, Lo CW, et al. Identification and characterization of a fibroblast marker: FSP1. J Cell Biol 1995;130:393–405.

Využití metody QuantiFERON v diagnostice tuberkulózy u dialyzovaných nemocných

Winthrop KL, Nyendak M, Calvet H, et al. Interferon-gama release assays for diagnosing Mycobacterium tuberculosis infection in renal dialysis patients. Clin J Am Soc Nephrol 2008;3:1357–1363.

Osoby s chronickým selháním ledvin jsou zvýšeně ohroženy různými infekcemi. Důvodem je porucha imunitního systému, jejíž přesná podstata nebyla dosud objasněna, avšak souvisí s přítomností urémie (Girndt, 1999). Riziko vzniku tuberkulózy (TBC) je u pacientů s chronickým selháním ledvin dle různých studií 8–25krát vyšší než u běžné populace. Odhalit tuberkulózu u těchto pacientů může být poměrně obtížné, neboť bývá nezřídka lokalizována extrapulmonálně a její vývoj probíhá bezpříznakově. S ohledem na útlum imunitního systému vyvstává zvýšené riziko falešně negativních výsledků kožních testů na tuberkulózu (u nás obvykle označeno jako tuberkulinový test či test reakce vůči purifikovanému proteinovému derivátu – PPD test). U hemodialyzovaných pacientů byl popsán zvýšený výskyt kožní anergie na antigeny mikroorganismů, např. kandidy, či původců příušnic či tetanu. Navíc, podobně jako u imunokompetentních pacientů, nelze vyloučit falešnou pozitivitu PPD testu u osob s prodělanou infekcí jinými mykobakteriemi či po vakcinaci BCG. Nově vyvinuté krevní testy by mohly přispět k usnadnění screeningu latentní TBC infekce u pacientů s chronickým selháním ledvin. Principem testu QuantiFERON-TB Gold® (QFT-G) je měření tvorby interferonu-γ (IFN-γ) senzitizovanými lymfocyty poté, co došlo ke stimulaci plné krve TBC antigeny. Další nový diagnostický test, založený na metodě ELISA (ELISPOT), hodnotí počet reaktivních lymfocytů T, které uvolňují IFN-γ při tuberkulózní antigenní stimulaci. Testy vyhodnocují imunitní odpověď na dva antigenní podněty, a to na Culture Filtrate Protein 10 (CFP-10) a na Early Secretory Antigen 6 (ESAT-6), které jsou kódovány RD-1 částí genomu *M. tuberculosis* (nepřítomného u BCG kmenů či u jiných mykobakterií). Uvedené testy jsou proto pro průkaz latentní TBC infekce specifičtější než PPD test, který je založen na reakci vůči purifikovanému proteinovému derivátu. Do současnosti byly pouze omezené zkušenosti se screeningem latentní TBC infekce u imunosuprimovaných pacientů, včetně pacientů s chronickým selháním ledvin. V roce 2003 byl v hemodialyzačním středisku v Jižní Karolíně zjištěn případ TBC u pacienta; v této návaznosti byl stanoven cíl vyšetřit další pacienty z daného hemodialyzačním střediska na přítomnost latentní TBC infekce novými screeningovými metodami (QFT-G a ELISPOT), resp. standardním PPD testem, a identifikovat faktory ovlivňující pozitivní nálezy.

Studie byla koncipována jako součást multicentrické studie zaměřené na vyhodnocení nových testů detekujících latentní TBC infekce. Studie byla zahájena 11 týdnů poté, co pacient s prokázanou TBC odešel z mateřského hemodialyzačního střediska. Pacientem s prokázanou TBC byl 64letý muž pravidelně hemodialyzovaný třikrát týdně, u kterého se jeden měsíc před diagnózou TBC objevil ascites, následně produktivní kašel. Pro zhoršení stavu byl přechodně dialyzován denně, následně hospitalizován. Podezření na TBC (pleurální výpotky, plicní infiltráty, nález acidorezistentních bacilů v nátěru sputa při mikroskopickém vyšetření) bylo potvrzeno izolací *M. tuberculosis* z peritoneální tekutiny a sputa. Ze souboru vyšetřovaných byli vyřazeni pacienti léčení v minulosti pro TBC/latentní TBC infekcí či s pozitivním výsledkem PPD testu s indurací ≥ 10 mm. U všech zbylých pacientů hemodyalizačního střediska byly provedeny tři testy na průkaz TBC. Test PPD byl proveden s podáním 0,1 ml purifikovaného proteinového derivátu; 48–72 h po podání byla odečtena kožní reakce a vyhodnocena jako pozitivní v případě indurace ≥ 5 mm. Pro stanovení testů QFT-G a ELISPOT byla pacientům odebrána plná krev před napojením na hemodialyzační přístroj; výsledky byly vyhodnoceny dle dříve popsaných metodik. V odstupu 16 týdnů od expozice TBC byl proveden další odběr krve ke stanovení reprodukovatelnosti testů QFT-G a ELISPOT, podobně byl zopakován PPD test, v případě předchozí pozitivní reakce. Jako pozitivní byli označeni pacienti s pozitivním nálezem při prvním či opakovaném vyšetření jedním ze tří použitých TBC testů. U všech pacientů byla hodnocena možná expozice TBC v závislosti na pravděpodobné míře kontaktu s dialyzovaným pacientem, u kterého byla zjištěna TBC. V úvahu byly brány především dva faktory: a) zda byl hodnocený pacient dialyzován souběžně s pacientem s TBC (ano = kontakt, ne = žádný kontakt), b) v jaké blízkosti k pacientovi s TBC se vyšetřovaná osoba nacházela (žádný kontakt = A, B ≥ 5 m od TBC pacienta, C ≤ 5 m od TBC pacienta).

Do souboru vyšetřovaných pacientů byli zařazeni nemocní dialyzovaní v různých hemodialyzačních směnách (z toho definitivně vyhodnoceno pro test PPD n = 100, pro QFT-G n = 94 a pro ELISPOT n = 97 pacientů). Medián věku byl 55 let (rozmezí 18–90 let), 47/100 pacientů se narodilo mimo USA („cizinci") a 55/100 pacientů byli muži. Celkem 58/100 pacientů bylo považováno za kontakty, přičemž průměrná doba expozice TBC byla 18 h (rozmezí 1–52 h). Test PPD byl pozitivní u 26 % pacientů, QFT-G byl pozitivní u 22 % pacientů a ELISPOT u 28 % pacientů. Reprodukovatelnost testů (shoda mezi iniciálním a opakovaným testem) byla pro oba nové testy (QFT-G a ELISPOT) 85 %. U pacientů s kontaktem byla zvýšená pravděpodobnost pozitivity nových testů (u QFT-G p = 0,02, u ELISPOT p = 0,04), nikoli však PPD testu (p = 0,7). Pozitivní výsledky PPD testu byly vázány na zahraniční původ pacienta (p = 0,04) a na uskutečnění PPD testu v předchozím roce (p = 0,04). Pozitivní testy IFN-γ jsou úžeji vázány na předchozí expozici TBC než standardní PPD test. Lze předpokládat, že QFT-G a ELISPOT mohou být výhodnými metodami pro detekci TBC u nemocných s chronickým selháním ledvin.