

s pacienty s nižším skóre častěji muži, pacienti měli vstupně vyšší krevní tlak a vyšší sérové koncentrace kreatininu (statisticky však rozdílly nebyly významné). Vstupní proteinurie ani stupeň deplece lymfocytů B se mezi pacienty s vyšším a nižším skóre významně nelišily. Proteinurie klesla v průměru o 54 % u pacientů s nízkým tubulointersticiálním skóre, ale u pacientů s vysokým tubulointersticiálním skóre se proteinurie významně nezměnila. V prospektivní skupině definované nižším tubulointersticiálním skóre poklesla na konci třetího měsíce proteinurie o 48 %. Dalšího poklesu proteinurie proti hodnotám na konci třetího měsíce léčby bylo možno dosáhnout v dalších devíti měsících maximalizací dávky inhibitoru ACE a antagonisty angiotensinu (Ruggenti et al., 2001), a to jak u pacientů s nízkým, tak vysokým tubulointersticiálním skóre.

KOMENTÁŘ

Prof. MUDr. Vladimír Tesař, CSc.

Krátkodobá (tříměsíční) odpověď proteinurie na léčbu rituximabem tedy závisela u pacientů s idiopatickou membranózní nefropatií především na tíži chronických tubulointersticiálních změn (tubulární atrofie a intersticiální fibrózy). Pokles proteinurie v dalších devíti měsících, který byl zaznamenán u většiny pacientů (i u pacientů primárně neodpovídajících na rituximab), mohl být způsoben jak maximalizací dávky inhibitorů ACE a antagonistů angiotensinu, tak pozdním účinkem léčby rituximabem. Je zřejmé, že zejména u pacientů s pokročilejšími histologickými změnami může být (alespoň teoreticky) odpověď na léčbu opožděna. Pravděpodobnější ale je, že u těchto pacientů je již imunologická léčba neúčinná a jedinou možností je ovlivnění renální hemodynamiky (a/nebo zastavení další deplece podocytů a intersticiální fibrózy) v současné době zejména inhibitory ACE, v budoucnu event. i léky interferujícími s TGFβ nebo chemokiny či dalšími mediátory. Komentovaná data jednoznačně ukazují, že i u pacientů léčených imunosupresí je třeba k optimalizaci antiproteinurického účinku podávat maximální tolerované dávky inhibitorů ACE a antagonistů angiotensinu.

Pomocí semikvantitativního hodnocení glomerulárních, vaskulárních a zejména tubulointersticiálních změn v renální biopsii bylo možno identifikovat podskupinu nemocných, u nichž je rituximab (podobně jako jiná imunosuprese) neúčinný, a podskupinu, ve které bylo možno rituximabem dosáhnout u poloviny pacientů (rezistentních na předchozí imunosupresivní léčbu) dlouhodobé remise nefrotického syndromu.

I když pro praxi nelze počítat u všech pacientů s idiopatickou membranózní nefropatií s velmi pracným semikvantitativním hodnocením renální histologie, lze jistě obecněji uzavřít, že event. indikace rituximabu u membranózní nefropatie by měla být zvažována jen u pacientů bez pokročilých tubulointersticiálních změn.

Uvedená studie má jistě i závažné nedostatky. Jde o nekontrolovanou pilotní studii provedenou na malém počtu nemocných. Renální biopsie nebyla provedena bezprostředně před léč-

bou rituximabem, ale asi 2,5 roku před léčbou, což jistě výrazně snižuje hodnotu korelací mezi histologií a odpovědí na léčbu. Předchozí imunosupresivní léčba nebyla u pacientů indikovaných k léčbě rituximabem standardizována, jejich rezistence na standardní imunosupresivní léčbu tedy není dobře definována. Roční sledování pacientů je jistě krátkodobé a zejména u pacientů, u nichž bylo rituximabem dosaženo remise onemocnění, je nutno ukázat, zda je remise dlouhodobá (trvalá), nebo zda by měl být zvažován nějaký udržovací režim (např. podání další dávky rituximabu po replaci lymfocytů B, po určitém časovém intervalu, při vzestupu proteinurie např. nad 3,5 g/24 h atd.).

Je zřejmé, že definitivnější odpověď na možné použití rituximabu v léčbě idiopatické membranózní nefropatie může poskytnout jen randomizovaná prospektivní kontrolovaná studie dostatečného rozsahu, ve které by byla léčba rituximabem srovnávána buď s konzervativní léčbou, nebo jinou standardizovanou imunosupresivní léčbou.

Prozatím by měl být rituximab zvažován u pacientů s příznivým histologickým nálezem (absencí výraznější tubulární atrofie a intersticiální fibrózy) a s rezistencí na standardní imunosupresivní léčbu (cytostatika a/nebo cyklosporin).

Literatura

- Remuzzi G, Chiurciu C, Abbate M, et al. Rituximab for idiopathic membranous nephropathy. *Lancet* 2002;360:923–924.
Ruggenti P, Schieppati A, Remuzzi G. Progression, remission, regression of chronic renal diseases. *Lancet* 2001;357:1601–1608.
Ruggenti P, Chiurciu C, Brusegan V, et al. Rituximab in idiopathic membranous nephropathy: a one-year prospective study. *J Am Soc Nephrol* 2003;14:1851–1857.

Může být zničení ledvinových kmenových buněk příčinou progresse chronické renální insuficience?

*Sagrinati C, Netti GS, Mazzinghi B, et al. Isolation and characterization of multipotent progenitor cells from the Bowman's capsule of adult human kidneys. *J Am Soc Nephrol* 2006;17:2443–2456.*

Velké naděje vkládané do možné regenerace funkčního parenchymu závisejí do značné míry na identifikaci kmenových buněk pro tkáň dospělé ledviny. Regenerační a reparační schopnost ledvin dospělých jedinců byla opakovaně dokumentována experimentálními (u glomerulopatií např. v modelu mesangiolyzy navozené protilátkou anti-Thy-1.1) i klinickými daty (zhojení akutní tubulární nekrózy, ústup diabetických změn v glomerulech po jejich transplantaci nediabetikovi), přesný mechanismus reparace a regenerace zůstává ale nejasný (Abouna et al., 1983; Little, 2006). U pacientů s akutním selháním ledvin mohou přispívat k reparaci poškozených tubulů pravděpodobně zejména lokální intrarenálně (v tubulech nebo v renálním intersticiu) lokalizované kmenové buňky. Podíl renálních kmenových buněk vzniklých v kostní dřeni se v současné

době zdá být málo významný. Přestože i glomeruly jsou schopny značného stupně reparace, intraglomerulárně lokalizované renální kmenové buňky nebyly dosud izolovány.

V komentované práci autoři využili k identifikaci renálních kmenových buněk povrchovou expresi molekul CD24, kterou exprimují různé typy lidských kmenových buněk a také nediferencovaný mesenchym během renální embryogeneze, a CD133, markeru tkáňové kmenové buňky vyskytující se v různých orgánech dospělých jedinců. Oba tyto markery exprimovala podskupina parietálních epitelových buněk (vystylajících Bowmanovo pouzdro).

Izolované parietální epitelové buňky CD24+ CD133+ byly získány z ledvin pacientů s karcinomem ledviny, u nichž byla provedena jednostranná nefrektomie. Parietální epitelové buňky CD24+ CD133+ byly lokalizovány blízko močového pólu glomerulu (blízko přechodu Bowmanova pouzdra v proximální tubulus). Po izolaci enkapsulovaných glomerulů na fibronektinem pokrytých destičkách byly izolovány přerůstající buňky CD24+ CD133+ pomocí imunomagnetické separace. Kontaminace podocyty a tubulárními buňkami byla vyloučena, izolované buňky neexprimovaly žádné znaky specifické pro jednotlivé linie diferencovaných renálních buněk, na druhé straně ale exprimovaly transkripční faktory charakteristické pro multipotentní kmenové buňky. Izolované CD24+ CD133+ pozitivní buňky byly schopny (na rozdíl od buněk CD24-CD133-) sebeobnovy, měly vysoký klonogenní potenciál a byly schopny diferenciaci do několika linií diferencovaných buněk (tubulárních buněk z různých částí nefronu exprimujících pro různé segmenty specifické enzymy a transportéry, kostních buněk vytvářejících mineralizované noduly, adipocytů nebo nervových buněk).

Injekce těchto buněk myším s akutním selháním ledvin (v důsledku rhabdomyolýzy vyvolané intramuskulární aplikací hypertonického glycerolu) a se syndromem těžké kombinované imunodeficiency (SCID), které nejsou schopny vyvinout reakci štěpu proti hostiteli, stimulovala regeneraci tubulárních struktur v různých částech nefronu a výrazně zmenšila morfologické (rozsah intersticiální fibrózy) i funkční poškození ledvin.

KOMENTÁŘ

Prof. MUDr. Vladimír Tesař, CSc.

V komentované práci autoři prokázali, že subpopulace lidských parietálních epitelových buněk v Bowmanově pouzdře exprimuje markery kmenových buněk CD24 a CD133 a pro kmenové buňky specifické transkripční faktory Oct-4 a Bmi-1, a neexprimuje markery specifické pro jednotlivé renální subpopulace. Tyto CD24+ CD133+ parietální epitelové buňky byly purifikovány z kultivovaných enkapsulovaných glomerulů, měly potenciál k sebeobnově a vysokou klonovací účinnost.

Za specifických kultivačních podmínek mohly být individuální klony CD24+ CD133+ parietálních epitelových buněk

indukovány k maturaci do funkčních tubulárních buněk s fenotypovými rysy buněk proximálního či distálního tubulu, osteogenních buněk, adipocytů a buněk, které měly některé fenotypové a funkční rysy neuronů. Injekce CD24+ CD133+ renálních buněk SCID myši s akutním selháním ledvin stimuluje regeneraci tubulárních struktur různých částí nefronu a výrazně zmírňuje morfologické a funkční známky ledvinového poškození. Buňky CD24+ CD133+ byly schopny repopulovat poškozené tubuly a přispět k jejich regeneraci.

Hlavním přínosem komentované práce je tedy izolace glomerulárně lokalizovaných kmenových buněk, které byly schopny v modelu experimentálního akutního selhání ledvin velmi významně potencovat regeneraci poškozených tubulů. Autoři tyto buňky pojmenovali jako multipotentní progenitory získané z dospělých parietálních epitelových buněk (adult parietal epithelial multipotent progenitors – APEMP). Glomerulotubulární přechod může představovat typickou „niku“ pro tyto kmenové buňky. Identifikace těchto renálních kmenových buněk a jejich lokalizace v oblasti Bowmanova pouzdra může mít zásadní význam nejen pro terapii renálních onemocnění, ale může také změnit náš pohled např. na patogenezi progresivních nefropatií či vznik glomerulárních srpků.

Lokalizace renálních kmenových buněk v oblasti močového pólu Bowmanova pouzdra by mohla např. pomoci vysvětlit, proč extenze glomerulárního onemocnění do oblasti Bowmanova pouzdra (s potenciálním zničením „niky“ pro renální kmenové buňky) vede často k ireverzibilnímu poškození nejen glomerulů, ale i tubulů (Kriz et al., 2005).

Jiným provokativním nápadem autorů této práce je představa, že tvorba glomerulárních srpků může představovat dysregulovanou proliferaci těchto renálních kmenových buněk s jejich transdiferenciací do mesenchymálních a myeloidních buněk.

Existence renálních kmenových buněk v místě glomerulotubulárního přechodu by také mohla vysvětlit tzv. embryonální hyperplazii epitelu Bowmanova pouzdra, se kterou se setkáváme v okolí zničených glomerulů pacientů léčených chronickou hemodialýzou (Bariety et al., 2003).

Kromě potenciálně nových vykladů vzniku glomerulárních srpků a progresivního charakteru chronických nefropatií přináší ale izolace renálních multipotentních progenitorových buněk zejména možnost ovlivnit regeneraci renálního tkání při jejich akutním či chronickém poškození. Komentovaná data bude ale nutno nejprve potvrdit dalšími studiemi a poté vyřešit nemalé problémy s izolací renálních kmenových buněk, jejich namnožením a optimálními cestami aplikace. Cesta k „buněčné“ terapii renálních chorob tak nepochybně bude ještě velmi dlouhá.

Literatura

- Abouna GM, Al-Adnani MS, Kremer GD, et al. Reversal of diabetic nephropathy in human cadaveric kidneys after transplantation into non-diabetic recipients. *Lancet* 1983;2:1274–1276.
- Bariety J, Bruneval P, Hill GS, et al. Transdifferentiation of epithelial glomerular cells. *J Am Soc Nephrol* 2003;14(Suppl):S42–S47.
- Kriz W, LeHir M. Pathways to nephron loss starting from glomerular diseases – insights from animal models. *Kidney Int* 2005;67:404–419.
- Little MH. Regrow or repair: potential regenerative therapies for the kidney. *J Am Soc Nephrol* 2006;17:2390–2401.