

Biomarkery u glomerulopatií – současný stav a perspektivy

Prof. MUDr. Vladimír Tesař, DrSc.

Úvod

Na rozdíl od nemocí jiných orgánů, např. jater nebo srdce, máme u nemocí ledvin trvalý a neinvazivní přístup k tekutině, která vzniká jako produkt činnosti glomerulů a tubulů, moči. Využití potenciální informace obsažené v moči je přitom stále velmi nedostatečné, v klinické praxi se obvykle spokojujeme jen s vyšetřením proteinurie a hematurie. Proteinurie (albuminurie) a/nebo hematurie je u aktivní glomerulopatie prakticky vždy přítomna, nemožňuje ale spolehlivě rozlišit mezi různými typy glomerulopatií (neumožňuje neinvazivní diagnostiku) a je jen relativně nepřesným parametrem aktivity onemocnění. Hematurie často přetrvává i u neaktivního onemocnění a proteinurie s poklesem aktivity obvykle klesá, její pokles je ale často (zejména u zánětlivých lézí) opožděný a může být spíše známkou hojení. Obtížná je i interpretace reziduální proteinurie a/nebo malých vzestupů proteinurie, které mohou být způsobeny např. jen zhoršenou kontrolou krevního tlaku. Stejná úroveň proteinurie má navíc u různých glomerulopatií zcela rozdílný význam. Reziduální proteinurie 2 g/24 hodin může znamenat u idiopatické membranózní nefropatie nebo fokálně segmentární glomerulosklerózy parciální remisi a příznivou dlouhodobou prognózu, stejná úroveň proteinurie ale znamená u IgA nefropatie velké riziko pomalé progresy do stadia terminálního selhání ledvin.

Sekundární glomerulopatie (lupusová nefritida, ANCA-asociovaná vaskulitida), ale i některé „primární“ glomerulopatie (membranózní nefropatie, IgA nefropatie) mají primárně systémové příčiny a některé sérové markery (zejména, ale nikoli výhradně autoprotilátky) lze využít v jejich diagnostice i monitoraci aktivity onemocnění.

V následujícím textu se budu zabývat jen vybranými glomerulopatiemi, u kterých jsou sérové nebo močové markery využitelné (nebo snad brzy využitelné budou) v klinické praxi.

ANCA-asociovaná vaskulitida

Objev asociace protilátek proti cytoplasmě neutrofilních leukocytů (ANCA) se segmentární nekrotizující vaskulitidou malých tepen (van der Woude et al., 1985) vedl k definici nové skupiny systémových chorob – ANCA-asociovaných vaskulitid (AAV).

Pozitivita ANCA je pro aktivní AAV vysoce specifická a přispívá k rychlému stanovení diagnózy, někdy i bez nutnosti renální biopsie (např. u pacientů s alveolárním krvácením, ORL postižením a akutní renální insuficiencí s erytrocyturií). Je proto důležité, aby byly dostupné během 24 hodin v režimu statim a aby byl stanoven jejich titr (nikoli jen pozitivita/negativita). Rychlá diagnostika umožní rychlé zahájení léčby a snižuje riziko závažného život ohrožujícího a ireverzibilního poškození zejména plic a ledvin.

Protilátky proti proteináze 3 (anti-PR3 protilátky) jsou častěji asociovány s granulomatózou s polyangiitidou, zatímco protilátky proti myeloperoxidáze (anti-MPO protilátky) s mikroskopickou polyangiitidou nebo eosinofilní granulomatózou s polyangiitidou, ale typ protilátky neumožňuje klinickou klasifikaci onemocnění (existuje např. anti-MPO pozitivní granulomatóza s polyangiitidou nebo anti-PR3 pozitivní mikroskopická polyangiitida).

Typ protilátky je však pro prognózu pacienta s AAV (z hlediska rizika relapsu i mortality) důležitější než klinická diagnóza (Lionaki

et al., 2012). Pacienti s pozitivitou anti-PR3 protilátek mají obvykle aktivnější onemocnění, více extrarenálních projevů, často lepší odpověď na léčbu, ale větší riziko relapsů. U pacientů s anti-MPO protilátkami bývají více přítomny chronické změny, obtížně terapeuticky ovlivnitelné, a riziko relapsů je podstatně nižší. Pozitivita ANCA, resp. vzestup titru ANCA je často spojen s aktivitou AAV, vzestup koncentrace protilátek je ale nespolehlivým prediktorem relapsu, a není proto sám o sobě důvodem k akcentaci imunosupresivní léčby, pacienti by měli být pouze intenzivněji sledováni.

ANCA jsou tedy velmi důležité pro rychlé stanovení diagnózy onemocnění a pomáhají nám také v monitoraci aktivity nemoci. Po zahájení léčby titr protilátek zpravidla rychle klesá, u značné části nemocných se protilátky zcela negativizují. Pacienti s přetrvávající (slabou) pozitivitou ANCA jsou ohroženi vyšším rizikem relapsu a měli by být pečlivě monitorováni (častější klinické a laboratorní kontroly, prodloužená udržovací léčba). Znovuobjevení se protilátek nebo vzestup jejich titru může znamenat vyšší riziko relapsu onemocnění. I u pacientů léčených rituximabem nejen znovuobjevení B-lymfocytů, ale i opětovná pozitivita nebo vzestup titru ANCA většinou předchází relapsy onemocnění.

Lupusová nefritida

Systémový lupus erythematoses (SLE) je charakterizován přítomností širokého spektra desítek dosud popsanych různých autoprotilátek. Jen některé z nich jsou ale klinicky významné a jen malá část z nich má jednoznačný vztah k přítomnosti nebo aktivitě lupusové nefritidy.

Postižení ledvin provázející SLE je mnohem častější u pacientů s pozitivitou anti-ds-DNA, antinukleosomových a anti-C1q protilátek a s poklesem hodnot C3 složky komplementu. Současný pokles C3 složky komplementu a pozitivita anti-ds-DNA a anti-C1 protilátek jsou spojeny ve srovnání s negativitou těchto protilátek a normální hodnotou C3 s patnáctkrát vyšším rizikem rozvoje lupusové nefritidy (Orbai et al., 2015).

Anti-C1q protilátky jsou nejspolehlivějším ukazatelem aktivity lupusové nefritidy. V naší studii (Trendelenburg et al., 2006) byly anti-C1q protilátky pozitivní u 97 % pacientů s aktivní lupusovou nefritidou a jen u 35 % pacientů s lupusovou nefritidou v remisi, senzitivita pro zachycení aktivity je cca 95 %, specifita je ale relativně nízká, cca 65 %, pacient s negativními anti-C1q protilátkami tedy s vysokou pravděpodobností aktivní lupusovou nefritidu nemá, u pacienta s pozitivitou anti-C1q protilátek je aktivita onemocnění nejistá.

S aktivitou lupusové nefritidy jsou také asociovány protilátky proti CRP. Anti-CRP protilátky navíc klesají po léčbě lupusové nefritidy v souvislosti s rozvojem remise onemocnění (Sjőwall et al., 2009). Zkušenosti s anti-CRP protilátkami jsou však zatím nedostatečné, a proto je nelze doporučit pro použití v klinické praxi.

Antifosfolipidové protilátky zvyšují nejen riziko vzniku arteriálních i žilních trombóz, ale zvyšují u pacientů s lupusovou nefritidou riziko vývoje terminálního selhání ledvin (Moroni et al., 2004), jsou tedy významným negativním prognostickým faktorem.

Kromě autoprotilátek byla u lupusové nefritidy testována celá řada dalších biomarkerů, žádný z nich však nebyl validován a nelze jej zatím pro klinickou praxi doporučit. Mezi nadějně poten-

ciální biomarkery aktivity lupusové nefritidy patří močová exkrece chemokinu MCP-1 (CCL2 – Wada et al., 1996), cytokinu TWEAK (TNF-like weak inducer of apoptosis – Schwarz et al., 2009) nebo hepcidinu (Zhang et al., 2012).

V současné době lze pro klinickou praxi doporučit pro monitorování aktivity lupusové nefritidy pravidelné sledování (ve tří- až šestiměsíčních intervalech) koncentrací C3 a titrů anti-ds-DNA, antinukleosomových (antichromatinových) a anti-C1q protilátek.

Membranózní nefropatie

Membranózní nefropatie byla dlouho pokládána za systémové onemocnění způsobené protilátkami proti antigenům exprimovaným na povrchu podocyty. Hlavní lidský podocytní antigen vyvolávající autoimunitní reakci byl ale hledán marně až do roku 2009, kdy bylo prokázáno, že u cca 75 % pacientů s idiopatickou membranózní nefropatií jsou přítomny cirkulující protilátky proti M-typu receptoru pro fosfolipázu A₂ (anti-PLA₂R protilátky – Beck et al., 2009). Tento typ protilátek nyní vymezuje specifickou podskupinu membranózní nefropatie, tzv. anti-PLA₂R pozitivní membranózní nefropatii. Sérové anti-PLA₂R protilátky mohou být negativní u části pacientů s vysokou aviditou anti-PLA₂R protilátek (protilátky mohou být vyvázaný v glomerulech), přesto však zůstává asi 20 % pacientů s idiopatickou membranózní nefropatií, u kterých bude teprve třeba identifikovat cílový podocytní antigen. Jedním z takových zcela nedávno identifikovaných antigenů může být „thrombospondin type-1 domain-containing 7A“ (THSD7A). Protilátky proti THSD7A byly prokázány u 10 % pacientů s idiopatickou membranózní nefropatií, kteří byli všichni anti-PLA₂R negativní (Tomas et al., 2014).

Pozitivita anti-PLA₂R protilátek u pacienta s nefrotickým syndromem umožňuje s vysokou pravděpodobností neinvazivní diagnózu membranózní nefropatie. Pozitivita anti-PLA₂R protilátek po transplantaci ledvin výrazně zvyšuje riziko rekurence membranózní nefropatie. Titr anti-PLA₂R protilátek klesá u membranózní nefropatie s rozvojem spontánní nebo terapií navozené remise nefrotického syndromu (Kanigicherla et al., 2013; Hoxha et al., 2014). Přibližně 80% pokles titru anti-PLA₂R protilátek je spojen se zhruba 40% poklesem proteinurie (Hoxha et al., 2014). Pacienti v remisi mají významně nižší titr anti-PLA₂R protilátek ve srovnání s pacienty, kteří remisi nevyvinuli. Vysoký titr anti-PLA₂R protilátek koreluje nejen s aktivitou onemocnění, ale je i prediktorem vyššího rizika vývoje renální insuficience během sledování (Kanigicherla et al., 2013).

Kvantitativní vyšetření titru anti-PLA₂R by se dnes mělo stát rutinní součástí vyšetření u pacientů s nefrotickým syndromem. Monitorace koncentrací může pomoci v predikci terapeutické odpovědi, dlouhodobé prognózy renální funkce a rizika rekurence membranózní nefropatie po transplantaci ledviny.

IgA nefropatie

IgA nefropatie je asociována s přítomností nedostatečně galaktosylovaných forem IgA1 v cirkulaci (Moldoveanu et al., 2007), pravděpodobně střevního původu. Relativně nedávno bylo ukázáno, že koncentrace těchto hypogalaktosylovaných forem IgA v séru je prediktorem progresu IgA nefropatie (Zhao et al., 2012). V séru jsou rovněž přítomny protilátky proti hypogalaktosylovanému IgA (třídy IgA i IgG) a také tyto autoprottilátky korelují s rizikem progresu IgA nefropatie (Berthouix et al., 2012). S rizikem progresu IgA nefropatie také korelují sérové koncentrace solubilního CD 89 (receptoru pro IgA – Vuong et al., 2010) a močová exkrece solubilního transferinového receptoru (Delanghe et al., 2013).

Existuje tedy celá řada nadějných biomarkerů tohoto častého a závažného onemocnění, které by nám měly v době, kdy se obje-

vují i nové potenciální možnosti léčby (lokální léčba kortikosteroidy, systémová léčba modulující aktivitu B-lymfocytů), umožnit monitorovat aktivitu IgA nefropatie a její odpověď na léčbu.

Žádný z uvedených potenciálních biomarkerů ale nebyl dosud validován v klinické studii dostatečného rozsahu a ani stanovení hypogalaktosylovaného IgA, ani protilátek proti hypogalaktosylovanému IgA není zatím rutinně dostupné.

Závěr

V posledních letech došlo v hledání biomarkerů u systémových i „primárních“ glomerulopatií ke značnému pokroku. Autoprottilátky jsou nyní rutinně používány v diagnostice a monitoraci aktivity ANCA-asociované vaskulitidy a lupusové nefritidy, anti-PLA₂R protilátky se stávají rutinním vyšetřením u idiopatické membranózní nefropatie. U IgA nefropatie nebyl zatím žádný z potenciálních nadějných biomarkerů validován a nelze zatím doporučit jejich klinické použití.

U pacientů s nefrotickým syndromem s minimálními změnami glomerulů a fokálně segmentární glomerulosklerózou zatím nemáme žádný z potenciálních biomarkerů k dispozici; naděje vkládané do stanovení koncentrací solubilního receptoru pro receptor aktivátoru plasminogenu (suPAR) se bohužel nenaplnily.

Literatura

- Beck Jr. LH, Bonegio RG, Lambeau G, et al. M-type phospholipase A2 receptor as target antigen in idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med* 2009;361:11–21.
- Berthouix F, Suzuki H, Thibaudin L, et al. Autoantibodies targeting galactose-deficient IgA1 associate with progression of IgA nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2012;23:1579–1587.
- Delanghe SE, Speckaert MM, Segers H, et al. Soluble transferrin receptor in urine, a new biomarker for IgA nephropathy and Henoch-Schönlein purpura nephritis. *Clin Biochem* 2013;46:591–597.
- Hoxha E, Thiele I, Zahner G, et al. Phospholipase A2 receptor autoantibodies and clinical outcome in patients with primary membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2014;25:1357–1366.
- Kanigicherla D, Gummadova J, McKenzie EA, et al. Anti-PLA2R antibodies measured by ELISA predict long-term outcome in a prevalent population of patients with idiopathic membranous nephropathy. *Kidney Int* 2013;83:940–948.
- Lionaki S, Blyth ER, Hogan SL, et al. Classification of antineutrophil cytoplasmic autoantibody vasculitides. The role of antineutrophil cytoplasmic autoantibody specificity for myeloperoxidase or proteinase 3 in disease recognition and prognosis. *Arthritis Rheum* 2012;64:3452–3462.
- Moldoveanu Z, Wyatt RJ, Lee J, et al. Patients with IgA nephropathy have increased serum galactose-deficient IgA1 levels. *Kidney Int* 2007;71:1148–1154.
- Moroni G, Ventura D, Riva P, et al. Antiphospholipid antibodies are associated with an increased risk for chronic renal insufficiency in patients with lupus nephritis. *Am J Kidney Dis* 2004;43:28–36.
- Nowack R, Grab I, Flores-Suarez LF, et al. ANCA titres, even of IgG subclasses, and soluble CD14 fail to predict relapses in patients with ANCA-associated vasculitis. *Nephrol Dial Transplant* 2001;17:1631–1637.
- Orbai AM, Truedsson L, Sturfelt G, et al. Anti-C1q antibodies in systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2015;24:42–49.
- Schwartz N, Rubinstein T, Burkly LC, et al. Urinary TWEAK as a biomarker of lupus nephritis: a multicenter cohort study. *Arthritis Res Ther* 2009;11:R143.
- Sjowall C, Zickert A, Skogh T, et al. Serum levels of autoantibodies against C-reactive protein correlate with renal disease activity and response to therapy in lupus nephritis. *Arthritis Res Ther* 2009;11:R188.
- Tomas NM, Beck Jr. LH, Meyer-Schwesinger C, et al. Thrombospondin type-1 domain-containing 7A in idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med* 2014;371:2277–2287.
- Trendelenburg M, Lopez-Trascasa M, Potlukova E, et al. High prevalence of anti-C1q antibodies in biopsy-proven active lupus nephritis. *Nephrol Dial Transplant* 2006;21:3115–3121.
- van der Woude FJ, Rasmussen N, Lobatto S, et al. Autoantibodies against neutrophils and monocytes: tool for diagnosis and marker of disease activity in Wegener's granulomatosis. *Lancet* 1985;8426:425–429.
- Vuong MT, Hahn-Zoric M, Lundberg S, et al. Association of soluble CD89 levels with disease progression but not susceptibility in IgA nephropathy. *Kidney Int* 2010;78:1281–1287.
- Wada T, Yokoyama H, Su SB, et al. Monitoring urinary levels of monocyte chemoattracting and activating factor reflects disease activity of lupus nephritis. *Kidney Int* 1996;49:761–767.
- Zhang X, Nagaraja HN, Nadasdy T, et al. A composite urine biomarker reflects interstitial inflammation in lupus nephritis kidney biopsies. *Kidney Int* 2012;81:401–406.
- Zhao N, Hou P, Lv J, et al. The level of galactose-deficient IgA1 in the sera of patients with IgA nephropathy is associated with disease progression. *Kidney Int* 2012;82:790–796.