

# AA amyloidóza – nejenom získaná, ale i hereditární forma je možná

Sikora J, Kmochová T, Mušálková D, et al. A mutation in the SAA1 promoter causes hereditary amyloid A amyloidosis.

*Kidney Int* 2022;101:349–359.

**KLÍČOVÁ SLOVA:** AA amyloidóza – nefrotický syndrom – renální selhání – tocilizumab

AA amyloidóza je onemocnění charakterizované ukládáním amyloidových depozit do tkání, což vede k jejich poškození. Amyloidogenním prekursorem cirkulujícím v krvi je sérový amyloid A (SAA), který patří mezi proteiny akutní fáze. Tento protein, jenž se skládá ze 104 aminokyselin, je vychytáván z cirkulace ve tkáních, kde je v důsledku chybného prostorového uspořádání a za pomoci proteáz a s přispěním glykosaminoglykanů přeměňován na amyloid A, který infiltruje extracelulární prostory postižených orgánů (zejména ledvin, sleziny, jater a střeva). V případě poškození ledvin způsobuje těžký nefrotický syndrom. AA amyloidóza komplikuje chronická zánětlivá onemocnění, u kterých je trvale zvýšená produkce proteinů akutní fáze, včetně SAA. Mezi tyto choroby patří třeba revmatoidní artritida, ankylozující spondyloartritida, ulcerózní kolitida či Crohnova choroba. Až u jedné čtvrtiny pacientů s AA amyloidózou však nejsme v současné době schopni, i přes použití sofistikovaných zobrazovacích metod, vyvolávající onemocnění identifikovat.

Protein SAA je produktem několika genů SAA (dominantní úlohu má gen SAA1), přičemž během inflamace dochází v játrech k syntéze zejména proteinů SAA1 a SAA2, což je proces mediovaný prozánětlivými cytokiny – interleukinem 1, interleukinem 6 a tumor nekrotizujícím faktorem alfa.<sup>1</sup> Na tvorbě amyloidových depozit se podílí zejména protein SAA1. Gen SAA1 má několik alelických izoform, z nichž populačně nejčastější jsou SAA1.1, SAA1.3 a SAA1.5. Uvedené izoformy se kategorizují na základě genetické konstituce v nukleotidových tripletech kódujících aminokyseliny 70 a 75 proteinu SAA1. Přítomnost alely SAA1.1 je u bělošské rasy spojena s tři- až sedminásobně vyšším rizikem rozvoje amyloidózy.<sup>2</sup>

Komentovaný článek (Sikora, 2022) popisuje rodinu, ve které AA amyloidóza postihla několik jejích členů ve čtyřech generacích a dědičnost má charakteristiky au-

tozomálně dominantního onemocnění. Rodina je bělošské rasy a nemáme povědomí o tom, že by některý z předků pocházel z etnicky vzdáleného regionu. U nikoho z členů rodiny nebylo nalezeno žádné vyvolávající zánětlivé onemocnění, včetně autoinflamatorních syndromů, jako jsou familiární středomořská horečka, hyper-IgD syndrom či některé z kryopyrinopatií. U postižených členů rodiny jsou zjištěny středně zvýšené hodnoty SAA v séru (mezi 15–50 mg/l; norma do 6,6 mg/l) a zcela normální hodnoty C-reaktivního proteinu, stejně jako leukocytů v krvním obraze. Dominantně postiženým orgánem jsou ledviny. U některých členů rodiny se poškození manifestuje menší proteinurií s progredujícím poklesem glomerulární filtrace (GF), u jiných je přítomna nefrotická proteinurie. Postižení dalších orgánů se vyvíjí až později a je charakterizováno zejména tyreopatií, hepatopatií či infiltrací střeva amyloidem. Postižení srdce je až pozdním znakem choroby.

Diagnostickeý maraton započal v roce 2006 u probandky z třetí generace rodiny, u které se onemocnění poprvé manifestovalo postižením ledvin s významnou proteinurií již v mladém věku (25 let) a progredovalo až do selhání ledvin v 37 letech s rekurencí AA amyloidózy v transplantované ledvině. I ta nakonec selhala a nemocná znovu zahájila dialyzační léčbu. V průběhu života se u ní masivní depozita amyloidu prokázala i v dalších orgánech, jako byly štítnice, žlučník, střeva či myokard. Podrobná anamnéza odhalila, že její matka zemřela ve věku 24 let na sepsi sedm týdnů po porodu probandky, přičemž autopsie odhalila depozita amyloidu v ledvinách a slezině. Všichni její tři bratři zemřeli mezi 50.–60. rokem života na selhání ledvin a u všech byla prokázána depozita AA amyloidu v ledvinách či v jiných orgánech. Babička probandky (matka matky) pak zemřela ve věku 55 let na blíže neurčené selhání ledvin. Ta byla pravděpodobně první postiženou osobou v rodině. Onemocnění bylo dále prokázáno u dvou bratranců

a jedné sestřenice probandky a u jednoho jejího syna. Další tři jedinci ve čtvrté generaci mají setrvale vysoké hodnoty SAA, ale onemocnění se u nich doposud nemanifestovalo.

V rodině byla opakovaně prováděna vazebná genetická analýza za účelem identifikace kauzální patogení varianty (mutace). Problémem těchto studií ale byla nejistá fenotypická kategorizace některých příbuzných. Dlouhodobým klinickým sledováním a opakovaným měřením koncentrací SAA v séru se však i tento problém postupně podařilo překonat a členy rodiny jednoznačně roztrždit na postižené (včetně klinicky presymptomatických) a nepostižené. V roce 2020 bylo v rodině provedeno celogenomové sekvenování. U všech postižených byla nalezena unikátní heterozygotní varianta v promotoru genu SAA1. U zdravých členů rodiny tato změna přítomna není. Podstatné je, že uvedená promotorová varianta je v genetické vazbě s izoformou SAA1.1. U postižených je doložena unikátní genetická konstituce charakterizovaná přítomností promotorové mutace a amyloidogenní protein SAA1.1 kódující sekvence na jedné z (dvou) alel genu SAA1. Funkční studie v buněčných kulturách potvrdily, že kritická varianta zvyšuje bazální transkripční aktivitu promotoru SAA1 přibližně dvakrát. Podrobná proteomická analýza řady histologických preparátů (včetně testování mikrodisekovaných amyloidních depozit v Mayo Clinic),

kteří pocházely od několika členů rodiny a obsahovaly AA amyloidózu, ukázala, že depozita jsou tvořena výlučně variantou proteinu SAA1.1.

S ohledem na velmi nepříznivý vývoj onemocnění s rizikem renálního selhání v mladém věku byla snaha najít nějakou léčbu, a to i přesto, že bylo nepochybné, že jde o hereditární onemocnění. Kolchicin, který v některých případech snižuje koncentrace SAA, kortikoidy ani alkylační cytostatika nevedly ke snížení jeho koncentrace a k potlačení příznaků onemocnění. Příznivý efekt mělo až podávání tocilizumabu, monoklonální protilátky proti receptoru pro interleukin 6. Tocilizumab v dávce 162 mg aplikovaný jedenkrát týdně subkutánně dosáhl snížení koncentrace SAA u většiny postižených jedinců a u všech pak stabilizoval renální funkci a vedl k poklesu či vymizení proteinurie. I když nejde o cílenou léčbu, významným způsobem snížil riziko progresu onemocnění. Nemocní léčbu velmi dobře tolerují a u žádného z nich nemusela být léčba redukována či přerušena, a to ani v době covidové pandemie.

Komentovaný článek odhaluje nový rozměr v diagnostice a léčbě nemocných s AA amyloidózou, kdy se ukazuje, že AA amyloidóza může mít hereditární podklad. Identifikace přesné mutace pak může vést k vývoji nových léků blokujících produkci proteinu SAA1.

## KOMENTÁŘ

Prof. MUDr. Romana Ryšavá, CSc.; MUDr. Jakub Sikora, Ph.D.

AA amyloidóza historicky patřila mezi nejčastější formy amyloidózy vyskytující se v našich zeměpisných šířkách. V posledních dvou dekáдах ale dochází k tomu, že pacientů s onemocněním ubývá, zejména v důsledku dřívější diagnostiky a účinnější léčby chorob vedoucích ke vzniku AA amyloidózy. Se zavedením biologické léčby do terapie většiny revmatických onemocnění, ale i do léčby nespecifických střevních zánětů a dalších chronických infekčních onemocnění klesají nejen absolutní počty těchto nemocných, ale především podíl relativního zastoupení této formy amyloidózy na celkovém počtu nemocných s amyloidózou. Výrazně naopak přibývá pacientů s AL amyloidózou, a to zejména u jedinců starších 60 let, což je nepochybně způsobeno zvýšeným výskytem monoklonálních gamapatií ve vyšším věku, ale i procesy spojenými se stárnutím, které přispívají k rozvoji amyloidózy jako takové. V důsledku lepší diagnostiky umíme dnes také odhalit a identifikovat nové formy amyloidózy, které jsme dříve neznali (amyloidóza způsobená ukládáním fibrinogenu A $\alpha$ , apolipoproteinů I a II či leukocyty chemotaktizujícího faktoru 2), nebo jsme je znali, ale neuměli je dobře diagnostikovat (např. transthyretinová amyloidóza). I v současné době se objevují stále nové a nové proteiny, které mohou za určitých podmínek vyvolat systémovou či lokalizovanou formu amyloidózy. Podle poslední nomenklatury z roku 2018 bylo doposud identifikováno 36 lidských a 6 zvířecích amyloidogenních prekursorů.<sup>3</sup>

Zajímavé a částečně i překvapivé jsou v případě studované rodiny dvě věci. První z nich je, že nositelé mutace v promotoru genu SAA1 mají jen mírně či středně zvýšené hodnoty SAA, přesto u nich k rozvoji onemocnění dojde. Vysvětlením může být jeho setrvalé zvýšení, což zřejmě stačí k tomu, aby amyloidová depozita mohla vzniknout a dále narůstat.<sup>4</sup> Obici a Bellotti se ve svém komentáři k článku (Sikora, 2022) obsáhle zamýšlejí nad touto pravděpodobnou příčinou, která může vést k rozvoji AA amyloidózy. Nacházejí paralelu se zvířecím modelem, který publikoval Simons v roce 2013.<sup>5</sup> V tomto modelu transgenních myši byl promotor genu pro SAA upraven tak, aby po podání doxycyklinu docházelo ke zvýšené expresi amyloidogenní alely SAA2. Myši, které dostávaly doxycyklin v potravě ve vyšších dávkách, měly výrazně zvýšenou produkci SAA a docházelo u nich k akcelerovanému nárůstu amyloidových depozit v porovnání s těmi, které dostávaly stabilně nižší dávky doxycyklinu. Zajímavé ale bylo, že k čím většímu nárůstu amyloidových depozit docházelo, tím nižší byly koncentrace SAA v séru. Kinetika hodnot SAA v séru by tedy mohla do určité míry ukazovat na to, co se děje uvnitř amyloidových depozit.

Druhým zajímavým aspektem je lokalizace identifikované mutace. Většina ostatních doposud popsanych mutací u hereditárních amyloidóz se nachází v kódujících sekvencích příslušných genů. Výsledkem těchto změn jsou proteiny náchylnější k chybnému prostorovému uspořádání či ke zvýšené agregabilitě

(např. amyloidóza z depozice transtyreтину). V případě uvedené rodiny (Sikora, 2022) je mutace lokalizována do promotorové části genu a je zodpovědná za zvýšení produkce SAA1, a to zhruba na dvojnásobnou hodnotu. To je něco nového, co přibližuje popsanou formu hereditární AA amyloidózy spíše k těm sekundárně navozeným, u kterých zvýšená koncentrace SAA nicméně není vyvolána zánětem, ale je způsobena genetickou mutací.

Komentovaný článek je výsledkem dlouhodobého úsilí týmu odborníků z několika pracovišť v ČR, které vedlo k odhalení příčiny hereditární formy AA amyloidózy v jedné české rodině. Jako členové tohoto týmu můžeme říci, že to nebyla lehká cesta, ale byla nakonec korunována úspěchem. K jeho dosažení bylo potřeba opakovaných vyšetřování mnoha členů postižené ro-

diny, ale i nespočetných konzultací mezi kliniky a genetiky, bez nichž by výsledku nebylo dosaženo. Nyní nezbyvá než doufat, že tato práce bude přínosem i pro další lékaře, kteří mají v péči nemocné s AA amyloidózou bez zjevné vyvolávající příčiny, a otevře prostor pro nové bádání v oblasti AA amyloidózy, která doposud byla považována za získané onemocnění. I když podávání tocilizumabu je v případě této rodiny částečně efektivní, ideální by bylo zahájit vývoj léků cílených přímo na produkci SAA1 či zasahujících do procesu transkripce genu, jako jsou monoklonální protilátky či malé interferující RNA.

Poděkování: Výsledky byly získány díky grantové podpoře Ministerstva zdravotnictví České republiky (AZV NU21-07-00033) a projektu MZ ČR RVO-VFN64165.

#### LITERATURA

1. Westermarck GT, Fandrich M, Westermarck P. AA amyloidosis: pathogenesis and targeted therapy. *Ann Rev Pathol* 2015;10:321–344.
2. Cazeneuve C, Ajrapetyan H, Papin S, et al. Identification of MEFV-independent modifying genetic factors for familial Mediterranean fever. *Am J Hum Genet* 2000;67:1136–1143.
3. Benson M, Buxbaum JN, Eisenberg DS, et al. Amyloid nomenclature 2018: recommendations by the International Society of Amyloidosis (ISA) nomenclature committee. *Amyloid* 2018;25:215–219.
4. Obici L, Bellotti V. AA amyloidosis without systemic inflammation: when clinical evidence validates predictions of experimental medicine. *Kidney Int* 2022;101:219–221.
5. Simons JP, Al-Shawi R, Ellmerich S, et al. Pathogenic mechanisms of amyloid A amyloidosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013;110:16115–16120.