

Úloha anti-CRP protilátek v diferenciální diagnostice a předpovědi relapsu akutní tubulointersticiální nefritidy

Huang JW, Su T, Tan Y, et al. Serum anti-CRP antibodies differentiate etiology and predict relapse in acute tubulointerstitial nephritis.

Clin Kidney J 2022;15:51–59.

KLÍČOVÁ SLOVA: akutní tubulointersticiální nefritida – autoprotilátka – C-reaktivní protein – relaps

Akutní tubulointersticiální nefritida (acute tubulointerstitial nephritis, ATIN) tvoří 10–30 % nálezů v renálních biopsiích u akutních poškození ledvin, se zvyšujícím se výskytem. Etiologie ATIN je velmi různorodá, nejčastěji způsobená léky, autoimunitními onemocněními, malignitami, infekcemi, metabolickými onemocněními, toxiny a jinými neobjasněnými příčinami. Mezi nejčastěji se vyskytující patří ATIN navozená léky (drug-induced ATIN, DATIN) a ATIN související s autoimunitním onemocněním (autoimmune-related ATIN, AI-ATIN). AI-ATIN primárně zahrnuje tubulointersticiální nefritidu s uveitidou (syndrom TINU), ATIN indukovanou Sjögrenovým syndromem (SS-ATIN), ATIN vázanou na přítomnost IgG₄ (imunoglobulin G₄) asociovaného onemocnění (IgG₄-ATIN) a ATIN způsobenou jinými autoimunitními onemocněními.^{1,2} Zatímco u DATIN je renální poškození spontánně reverzibilní po vysazení příslušného farmaka, je u AI-ATIN popsáno vyšší riziko rekurence a větší pravděpodobnost rozvoje chronického onemocnění ledvin (chronic kidney disease, CKD). Z uvedených důvodů je u těchto pacientů nutné dlouhodobé sledování a své opodstatnění má účinná imunosupresivní (IS) léčba.³ Navíc se u pacientů s AI-ATIN může rozvinout renální poškození dříve než jiné orgánové postižení. Autoimunitní protilátky nemusejí být v séru v době renální biopsie ještě přítomny, a vést tak k mylné diagnostice DATIN, zejména při současné léčbě jiných nespecifických symptomů. Časná diagnostika má tedy zásadní vliv pro další sledování a prognózu pacientů s AI-ATIN.⁴

Bylo zjištěno, že hodnoty protilátek IgG proti C-reaktivnímu proteinu (anti-CRP protilátky) byly zvýšeny u pacientů se syndromem TINU a také u jiných autoimunitně indukovaných ATIN.⁵ Nicméně úloha těchto protilátek

jako biomarkeru AI-ATIN zůstává zatím nejasná. Cílem komentované studie bylo vyšetřit přítomnost anti-CRP protilátek v kohortě pacientů s biopsicky verifikovanou ATIN a prozkoumat jejich potenciální diagnostickou hodnotu. Dosud provedené studie vyžadovaly pro detekci anti-CRP protilátek CRP odvozený z lidského séra, což zvyšovalo náklady a omezovalo použití detekce anti-CRP protilátek k diagnostice ATIN. Z těchto důvodů byly jako alternativa analyzovány hodnoty syntetických lineárních peptidů CRP a ty pak následně použity jako antigeny k detekci anti-CRP protilátek.

Do studie byli zařazeni pacienti z prospektivní kohorty, u kterých byla diagnostikována ATIN v desetiletém období (2006–2015) v čínské univerzitní nemocnici (Peking University First Hospital). Do studie nebyli zařazeni pacienti s přidruženou glomerulární nebo vaskulární lézí, dále pacienti již užívající imunosupresivní terapii před renální biopsií. Pacienti s AI-ATIN zahrnovali nemocné se syndromem TINU, Sjögrenovým syndromem, IgG₄ asociovaným onemocněním nebo s jiným autoimunitním onemocněním. DATIN byla definována užíváním rizikové medikace před zjištěním renálního postižení, bez evidence výskytu uveitidy či jiných projevů systémového autoimunitního onemocnění. Pacienti s ATIN způsobenými infekcemi, metabolickými onemocněními, toxiny, malignitami nebo vrozenými příčinami byli zařazeni do skupiny ATIN z jiných příčin.

Pacienti byli kontrolováni minimálně jednou měsíčně po dobu prvních šesti měsíců, poté každé tři měsíce po renální biopsii, s rutinním provedením klinického a laboratorního vyšetření. Při každé kontrolní vizitě byla přehodnocena etiologie ATIN. Pacienti původně klasifikovaní jako non-AI-ATIN v době renální biopsie byli při násled-

ném výskytu uveitidy či při jiné klinické nebo laboratorní manifestaci autoimunitního onemocnění překlasifikování na AI-ATIN a označování jako AI-ATIN s pozdním výskytem („late-onset AI-ATIN“). Přehodnocení etiologie bylo provedeno nezávisle na stanovení anti-CRP protilátek.

Relaps ATIN byl definován akutním, minimálně dvojnásobným zvýšením hodnot močové N-acetyl- β -D-glukosidázy (NAG), současně s minimálně 50% zvýšením hodnoty kreatininu v séru (SCr) během následujících tří měsíců, s vyloučením jiné příčiny zhoršení renální funkce (systémová infekce, medikace, změny v renální perfuzi či přítomnost renální obstrukce).

K detekci anti-CRP protilátek byl navržen panel 22 peptidů, jež pokrývají aminokyselinovou sekvenci CRP na základě série dvacetimerních peptidů překrývajících se průměrně deseti aminokyselinami (AA). Byly provedeny úpravy na takovou délku peptidu, aby se zabránilo štěpení uváděných funkčních sekvencí CRP. Peptidy byly syntetizovány na automatickém syntetizátoru peptidů pomocí 9-fluorenyl-methoxykarbonylové chemie (Sangon Biotech).

Výsledky studie

Do studie bylo zařazeno 146 pacientů s biopsicky verifikovanou ATIN, s průměrným věkem 48 let, s dominantním zastoupením žen (70 %). Průměrná hodnota SCr v době provedení renální biopsie byla 230 (143–335) μ mol/l, s nejvyšší průměrnou dosaženou hodnotou 262 μ mol, kdy téměř 90 % pacientů splňovalo diagnostická kritéria akutního poškození ledvin (AKI). Imunosupresivní terapie byla předepsána 133 (91 %) pacientům, léčba trvala průměrně 7 (5–11) měsíců.

Pacienti byli sledováni po dobu průměrně 24 (12–61) měsíců. Sedmadvacet pacientů bylo překlasifikováno na AI-ATIN z důvodu pozdějšího výskytu uveitidy či jiného autoimunitního onemocnění. Po dvouletém sledování bylo 63 (43,2 %) pacientů klasifikováno jako AI-ATIN, z nich 28 (19,2 %) pacientů se syndromem TINU, 15 (10,3 %) pacientů se SS-ATIN, 4 (2,7 %) pacienti s IgG₄-ATIN a 16 (11 %) pacientů s jiným typem AI-ATIN; 73 (50 %) pacientů mělo DATIN, dalších 10 pacientů mělo jinou etiologii ATIN. V průběhu následného sledování souboru prodělalo relaps 61 (41,8 %) pacientů, s dominantním výskytem u AI-ATIN, a to v průběhu snižování dávky nebo po vysazení kortikoterapie, průměrně po šesti (4–10) měsících po provedení renální biopsie.

Koncentrace anti-CRP protilátek v séru byly výrazně zvýšeny u pacientů s ATIN ve srovnání s kontrolní skupinou (19,7 \pm 8,0 AU versus 14,0 \pm 3,0 AU, $p < 0,001$) a byly vyšší u pacientů s AI-ATIN ve srovnání s pacienty s DATIN (23,0 \pm 7,4 AU versus 17,7 \pm 5,7 AU, $p < 0,001$). Protilátky byly detekovány u 42,5 % (62/142) pacientů, s vyšším zastoupením u skupiny s AI-ATIN v porovnání s DATIN (63,5 % versus 30,1 %, $p < 0,001$). Ve skupině pacientů s AI-ATIN nebyly shledány signifikantní rozdíly v koncentracích anti-CRP protilátek mezi jednotlivými podskupinami ($p = 0,165$). Hodnota ROC-AUC (plocha pod křivkou

ROC) u anti-CRP protilátek pro pozdní výskyt AI-ATIN u pacientů původně klasifikovaných jako DATIN či ATIN jiné etiologie činila 0,750 (95% interval spolehlivosti [CI] 0,641–0,860, $p < 0,001$). S ohledem na konečné diagnostické kategorie by pozitivní test anti-CRP protilátek mohl identifikovat pacienty s AI-ATIN se senzitivitou od 63,5 % a specificitou 73,5 %. Pozitivní prediktivní hodnota představovala 64,5 %, negativní prediktivní hodnota 72,6 %.

Pozitivita anti-CRP protilátek byla asociována s relapsem ATIN ($p < 0,001$). Coxova regresní analýza ukázala, že pozitivita anti-CRP protilátek byla asociována s relapsem u všech pacientů s ATIN. S ohledem na věk, pohlaví, koncentraci SCr a sérové koncentrace IgG v době renální biopsie zůstaly anti-CRP protilátky nezávislým prediktorem relapsu ATIN (poměr rizik [HR] = 4,321, 95% CI 2,402–7,775, $p < 0,001$). Pozitivita anti-CRP protilátek korelovala s relapsem ATIN, a to u DATIN i AI-ATIN. HR pro relaps u nemocných s ATIN byl 4,746 (95% CI 1,722–13,078, $p = 0,003$) ve skupině s DATIN a 2,948 (95% CI 1,398–6,226, $p = 0,005$) ve skupině s AI-ATIN. Pozitivita anti-CRP protilátek zůstala nezávislým prediktorem u pacientů iniciálně diagnostikovaných jako DATIN (HR = 5,963, CI 2,656–13,378, $p < 0,001$).

Bylo zjištěno, že ze 20 syntetizovaných lineárních peptidů CRP byly čtyři peptidy specificky rozpoznány, když peptid 1 (PT1, signální peptid) byl použit jako nespecifická kombinační reference: PT6 (AA 35–57), PT8 (AA 53–72), PT12 (AA 92–111) a PT17 (AA 143–162). Následně byla u pacientů sledována detekce protilátek s těmito čtyřmi peptidy. Celková míra positivity na protilátku (antibody, ab) detekovanou pomocí PT6 (PT6-ab) byla v kohortě pacientů nejvyšší (45,2 %), následována PT8-ab (43,2 %), PT12-ab (32,2 %) a PT17-ab (26,7 %). PT6-ab byla pozitivní u 79,4 % pacientů s AI-ATIN a u 21,9 % pacientů s DATIN. Protilátky proti tomuto peptidu byly přínosné v časném výběru pacientů s AI-ATIN s pozdním nástupem, kteří byli původně při renální biopsii diagnostikováni jako DATIN nebo ATIN z neznámé příčiny, s ROC-AUC 0,812 (95% CI 0,709–0,914, $p < 0,001$). Byla také lepší při odlišení pacientů s AI-ATIN v době renální biopsie od všech ostatních zařazených pacientů, s ROC-AUC 0,750 (95% CI 0,651–0,849, $p < 0,001$).

Pro predikci relapsu ATIN bylo nejprůnosnější stanovení hodnoty PT17-ab, která měla HR srovnatelnou s anti-CRP protilátkou (HR 4,291, 95% CI 2,582–7,130, $p < 0,001$). PT6-ab a PT17-ab vykazovaly pozitivní korelaci s tubulárním poškozením a dysfunkcí, zatímco podobná korelace u anti-CRP protilátek nebyla shledána. PT6-ab byla pozitivně korelována s hodnotami močové NAG a byla negativně korelována s kalemii. PT17-ab byla pozitivně korelována s glykosurií, renální tubulární acidózou, koncentracemi alfa₂-mikroglobulinu v moči, naopak negativně korelována byla s kalemii a koncentrací kyseliny močové v séru. Kromě objasnění etiologie a predikce relapsu mohou být PT6-ab a PT17-ab použity ke stanovení tíže postižení u ATIN.

KOMENTÁŘ

MUDr. Karolína Krátká, Ph.D.; MUDr. Mayara Elisa Knížek Bonatto; prof. MUDr. Ivan Rychlík, CSc., FASN, FERA

Výsledky komentované studie poukazují na důležitost časné diferenciální diagnostiky, etiologie a předpovědi relapsu ATIN, zejména u pacientů s AI-ATIN. Zatímco u DATIN nejsou jasné klinické důkazy pro IS terapii, je AI-ATIN nepochybně spojena s nutností účinné a dlouhodobé IS terapie.^{6,7} Dosud publikované práce, jež se týkají biomarkerů AI-ATIN, jsou však značně limitované.

Předchozí studie prokázaly, že hodnoty anti-CRP protilátek byly zvýšeny u pacientů se syndromem TINU a mohou být považovány za biomarker predikce pro pozdní výskyt uveitidy u pacientů s ATIN. Nicméně pozitivita anti-CRP protilátek byla také zjištěna u části pacientů s ATIN bez uveitidy.^{8,9} V komentované kohortové skupině s biopsicky verifikovanou ATIN bylo zjištěno, že hodnoty anti-CRP protilátek byly zvýšeny u 42,5 % pacientů s nejrůznější etiologií ATIN a byly přínosné pro časnou diagnostiku pozdního výskytu AI-ATIN. S cílem snížit náklady a zlepšit specifitu bylo navrženo použití syntetizovaných peptidů CRP jako antigenů k detekci protilátek. Bylo zjištěno, že z 20 syntetizovaných peptidů jsou čtyři peptidy vysoce rozpoznávány u ATIN se zvýšenou hodnotou anti-CRP protilátek. Tyto čtyři peptidy byly lokalizovány blízko sebe v sekvenci nebo v prostoru proteinu CRP. Hodnota PT6-ab byla specifitěji zvýšena u AI-ATIN a ve srovnání s anti-CRP protilátkami přínosnější při identifikaci AT-ATIN. Naopak PT17-ab by mohla být užitečným markerem ke stratifikaci pacientů ve vysokém riziku relapsu ATIN. Navíc hodnoty PT6-ab a PT17-ab byly spojeny s tubulární dysfunkcí a koncentrace PT17-ab byly spojeny s patologickými nálezy intersticiálního zánětu a tubulitidy. Protilátky detekované těmito dvěma peptidy CRP mohou tedy poskytnout více informací pro hodnocení závažnosti ATIN.

V nedávné studii byl peptid skládající se z aminokyselin 35-47 CRP proteinu použit k detekci protilátek u pacientů se systémovým lupus erythematos. Protilátka proti tomuto peptidu inhibuje modulaci faktoru H kompetitivním kombinováním CRP.¹⁰ PT6 v komentované studii zahrnoval AA 35-47, takže PT6 může mít mechanismus autoimunitní aktivace u pacientů s ATIN podobný jako u pacientů se systémovým lupus erythematos. Stojí za zmínku, že tubulární epiteliální buňka může při poškození exprimovat CRP a autoprotilátky proti CRP mohou zhoršit poškození in situ. Korelace PT17-ab s intersticiálním zánětem a relapsem ATIN může zahrnovat proces aktivace autoimunitní odpovědi. Zda jsou však tyto peptidy autoimunitními epitopy u ATIN a jakým mechanismem se anti-CRP protilátky účastní patofyziologických procesů, je třeba dále prozkoumat.

Tato studie byla observační studií anti-CRP protilátek v biopsií ověřené kohortě 146 pacientů s ATIN z jednoho centra. Míru positivity, diagnostickou a prediktivní hodnotu anti-CRP protilátek detekovaných všemi metodami je ještě třeba ověřit v prospektivní studii a ve větší populaci. Vzhledem k omezené dostupnosti vzorků séra nebyla patogenní studie do této práce zahrnuta.

Závěrem lze shrnout, že anti-CRP protilátka by mohla být slibná k časné diferenciaci AI-ATIN s pozdním nástupem a k predikci relapsu ATIN. CRP lineární peptidy PT6 a PT17 by mohly být použity jako povrchové antigeny k detekci anti-CRP protilátek, což by v konečném důsledku vedlo k menším nákladům a efektivnějšímu využití v klinické praxi a poskytnutí více informací o průběhu ATIN různorodé etiologie s možností ovlivnění následné terapie.

LITERATURA

1. Wilson GJ, Kark AL, Francis LP, et al. The increasing rates of acute interstitial nephritis in Australia: a single centre case series. *BMC Nephrol* 2017;18:329.
2. Su T, Gu Y, Sun P, et al. Etiology and renal outcomes of acute tubulointerstitial nephritis: a single-center prospective cohort study in China. *Nephrol Dial Transplant* 2018;33:1180–1188.
3. Moledina DG, Perazella MA. Drug-induced acute interstitial nephritis. *Clin J Am Soc Nephrol* 2017;12:2046–2049.
4. Moledina DG, Perazella MA. Treatment of drug-induced acute tubulointerstitial nephritis: The search for better evidence. *Clin J Am Soc Nephrol* 2018;13:1785–1787.
5. Jakuszkó K, Krajewska M, Halon A, et al. Pathogenic role of antibodies against monomeric C-reactive protein in tubulointerstitial nephritis and uveitis syndrome. *Intern Med J* 2014;44:809–812.
6. Caravaca-Fontán F, Fernández-Juárez G, Praga M. Acute kidney injury in interstitial nephritis. *Curr Opin Crit Care* 2019;25:558–564.
7. Muriithi AK, Leung N, Valeri AM, et al. Clinical characteristics, causes and outcomes of acute interstitial nephritis in the elderly. *Kidney Int* 2015;87:458–464.
8. Li C, Su T, Chu R, et al. Tubulointerstitial nephritis with uveitis in Chinese adults. *Clin J Am Soc Nephrol* 2014;9:21–22.
9. Tan Y, Yu F, Qu Z, et al. Modified C-reactive protein might be a target autoantigen of TINU syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011;6:93–100.
10. Li Qy, Li HY, Fu G, et al. Autoantibodies against C-reactive protein influence complement activation and clinical course in lupus nephritis. *J Am Soc Nephrol* 2017;28:3044–3054.