

IN DEPTH REVIEW

Anticorpi anti-PLA2R nella glomerulonefrite membranosa



Giuseppe Stefano Netti, Elena Ranieri

Cattedra di Patologia Clinica e Centro di Medicina Molecolare Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche Università degli Studi di Foggia, Foggia

Corrispondenza a: Giuseppe Stefano Netti; Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche, Università degli Studi di Foggia, Viale Luigi Pinto, 251 - 71122 Foggia (Italy); Fax: +39 0881 736001; Mail: giuseppestefano.netti@unifg.it

Abstract

Gli anticorpi che riconoscono il recettore di tipo M della fosfolipasi A2 (PLA2R) sono gli autoanticorpi più frequentemente riscontrati in corso di glomerulonefrite membranosa (GNM) idiopatica e la loro scoperta si è rivelata cruciale nel chiarire i meccanismi patogenetici di questa nefropatia, definendola come una vera e propria malattia autoimmune. Studi successivi alla loro identificazione hanno confermato che gli anticorpi circolanti anti-PLA2R si osservavano in circa il 70% dei pazienti affetti da GNM. In questo editoriale noi discutiamo brevemente diversi studi che hanno suggerito i potenziali benefici derivanti dalla misurazione degli anti-PLA2R per la pratica clinica.

Di recente è stato dimostrato che la presenza di anticorpi anti-PLA2R contribuisce alla diagnosi di GNM, che cambiamenti dei livelli di questi autoanticorpi sono correlati all'attività di malattia, che la scomparsa degli anti-PLA2R precede la riduzione della proteinuria e che elevati livelli di anti-PLA2R si associano ad una ridotta probabilità di andare incontro ad una remissione spontanea.

Parole chiave: anticorpi anti-recettore della fosfolipasi A2, glomerulonefrite membranosa idiopatica, rituximab, suscettibilità genetica

Anti-phospholipase A2 receptor (anti-PLA2R) antibodies and idiopathic membranous nephropathy: which role in diagnosis and prognosis of this disease?

The discovery of the M-type phospholipase A2 receptor (PLA2R) as a major antigen in idiopathic membranous nephropathy (iMN) was a breakthrough in understanding the pathogenesis of this disease, establishing iMN as an autoimmune disease. Subsequent studies confirmed that detection of circulating antibodies against PLA2R was positive in approximately 70% of incident iMN patients. We discuss several studies that have suggested the potential role of measuring PLA2R antibodies for clinical practice. Recently, it has been shown that the presence of PLA2R antibodies supported a diagnosis of iMN, changes in antibody levels were related to clinical disease activity, disappearance of antibodies preceded and predicted subsequent decrease of proteinuria and high titers of antibodies were associated with a low likelihood spontaneous remission.

Key words: anti-phospholipase A2 receptor (anti-PLA2R) antibodies, genetic susceptibility, idiopathic membranous nephropathy, rituximab

Anticorpi anti-PLA2R nella glomerulonefrite membranosa

La glomerulonefrite membranosa (GNM) può essere definita come una malattia autoimmune organo-specifica e rappresenta la principale causa di sindrome nefrosica (SN) nell'adulto [1] (full text) [2]. In questa nefropatia la formazione di depositi immuni sub-epiteliali e l'attivazione del complemento determinano alterazioni della struttura della membrana basale e danni alla barriera di filtrazione glomerulare, causando proteinuria [3] [4]. È stato chiaramente dimostrato come nella GNM il legame tra autoanticorpi circolanti ed antigeni podocitari sia cruciale per innescare il processo di malattia, pertanto nei decenni scorsi numerosi studi sono stati condotti per identificare gli antigeni podocitari *target* della GNM [5] [6] [7]. È altrettanto chiaro che altri fattori, quali ad esempio una maggiore suscettibilità genetica a sviluppare risposte autoimmunitarie, possano giocare un ruolo nella patogenesi della GNM.

In un modello animale di GNM nel ratto (nefrite di Heymann) è stato osservato come i depositi immuni sub-epiteliali siano costituiti dall'antigene bersaglio, la megalina, coniugato con anticorpi circolanti anti-megalina [8] [9] (full text) [10] (full text) [11] [12]. Tuttavia, la megalina non è espressa sui podociti umani e non costituisce l'antigene bersaglio della GNM nell'uomo [13]. Nel 2002, l'endopeptidasi neutra (NEP) è stata identificata come l'antigene responsabile di una rara forma di nefropatia membranosa prenatale alloimmune in un raro sottogruppo di bambini nati da madri, in cui mancava questo antigene. Questa scoperta ha dimostrato come un antigene presente sui podociti umani possa servire come bersaglio per gli anticorpi "podocitopatici" [14] (full text) [15]. Nel 2009, Beck e colleghi hanno dimostrato che il recettore 1 della fosfolipasi A2 di tipo-M (PLA2R) rappresenta il principale antigene podocitario coinvolto nella patogenesi della GNM idiopatica negli adulti [16] (full text). In questo studio ben il 70% dei pazienti affetti da GNM idiopatica è risultato positivo alla ricerca degli anticorpi anti-PLA2R. Questo dato è stato confermato in studi successivi condotti su diversi gruppi etnici (caucasici, afroamericani, cinesi) [17] [18] (full text).

Studi successivi hanno progressivamente evidenziato il legame esistente tra livelli sierici degli anticorpi anti-PLA2R ed andamento clinico della malattia (livelli di proteinuria, risposta alla terapia), supportando l'impiego sempre più esteso di agenti farmacologici in grado di colpire selettivamente i linfociti B nel trattamento della GNM.

È noto, infatti, che la storia naturale della GNM idiopatica segue tre principali decorsi clinici: nel 30% dei casi si osserva una remissione spontanea, mentre nel restante 70% dei casi la proteinuria persiste e, nella metà di essi, si accompagna ad evoluzione verso l'insufficienza renale cronica terminale (ESRD). Il trattamento immunosoppressivo tradizionale (corticosteroidi-alchilanti) consente di ottenere a 3 anni la remissione, completa o parziale, della SN nel 66-90% dei casi ed è superiore rispetto alla sola terapia sintomatica nel preservare la funzione renale a 10 anni, pur essendo gravato da significativi effetti collaterali.

Dati clinici e sperimentali hanno evidenziato il ruolo patogenetico svolto da cloni di linfociti B autoreattivi, fornendo il razionale per trattare la GNM con il Rituximab. Questo anticorpo monoclonale riconosce l'antigene CD20, espresso sui linfociti B maturi, ed è in grado di determinarne la deplezione selettiva. In casistiche non controllate di GNM con SN, il Rituximab è risultato efficace nel ridurre la proteinuria e nel migliorarne il decorso clinico, mostrando un ottimo profilo di tollerabilità [19] (full text) [20] [21] (full text). La scoperta degli anticorpi anti-PLA2R come agenti responsabili della formazione dei depositi immuni sub-epiteliali ha fornito un ulteriore razionale all'impiego del Rituximab nel trattamento della GNM.

In uno studio recentemente pubblicato è stata valutata l'ipotesi che i livelli sierici degli anticorpi anti-PLA2R si modificano precocemente rispetto alla proteinuria, permettendo di predire in anticipo la risposta alla terapia [22] (full text). Il titolo anticorpale anti-PLA2R è stato analizzato in campioni di siero di pazienti affetti da GNM e trattati con Rituximab a diversi tempi ed è stato osservato che la riduzione del titolo anti-PLA2R era predittiva della successiva riduzione della proteinuria. Questi risultati hanno suggerito la possibilità che il monitoraggio del titolo anticorpale anti-PLA2R possa costituire un utile strumento per valutare più specificamente l'attività immunologica della malattia rispetto alla sola proteinuria, che può essere influenzata anche da fattori non immunologici. Ciò consentirebbe di valutare meglio, in relazione al titolo di anticorpi anti-PLA2R, l'utilità di proseguire o meno il trattamento immunosoppressivo, soprattutto nei pazienti con remissione parziale.

A tal proposito è utile sottolineare come la determinazione degli anticorpi anti-PLA2R possa essere eseguita facilmente, avvalendosi sia di un saggio in immunofluorescenza indiretta che di un dosaggio ELISA, come avviene correntemente presso il nostro laboratorio di Patologia Clinica.

Un ulteriore aspetto recentemente indagato è la suscettibilità genetica a sviluppare GNM. Studi di *genome-wide association* hanno dimostrato che soggetti portatori dell'allele HLA DQA1 in associazione a polimorfismi del gene PLA2R1 codificante per il recettore della fosfolipasi A2 hanno un maggior rischio di sviluppare la GNM rispetto ad altri soggetti [23] (full text).

In un recente studio, Kanigicherla et al [24] hanno esplorato la relazione esistente tra livelli di anticorpi anti-PLA2R e suscettibilità genetica alla GNM, ed hanno correlato i dati ottenuti con gli *outcome* clinici a lungo termine in 90 pazienti affetti da GNM idiopatica.

In particolare i livelli di anticorpi anti-PLA2R sono stati dosati mediante ELISA, mentre sono stati determinati gli alleli HLA DQ ed i polimorfismi (*single-nucleotide polymorphisms*, SNPs) del gene PLA2R1. Questi dati sono stati correlati con il grado di attività della malattia al momento del campionamento e con l'andamento della proteinuria e incidenza di malattia renale cronica terminale lungo un follow-up mediano di 90 mesi.

In 90 soggetti prevalenti con GNM idiopatica istologicamente accertata mediante biopsia renale, gli anticorpi anti-PLA2R erano presenti nel 75% dei pazienti con GNM in fase di attività ed erano significativamente più alti rispetto ai pazienti in remissione parziale o completa al momento della determinazione degli anticorpi. Nelle fasi precoci della malattia e comunque entro i primi 6 mesi dalla biopsia prevaleva una risposta anticorpale di tipo IgG4. Livelli più elevati di anticorpi anti-PLA2R si osservavano nei pazienti con genotipo HLA DQA1 * 05:01 e DQB1 * 02:01.

L'analisi di sopravvivenza dei pazienti con GNM ha evidenziato una correlazione significativa tra anticorpi anti-PLA2R ed andamento clinico della nefropatia. Infatti, più alti livelli di anticorpi anti-PLA2R si associavano ad una malattia clinicamente attiva e ad un più alto rischio di declino della funzione renale negli anni seguenti. Gli autori concludono che ulteriori studi clinici dovrebbero accertare se pazienti con più alti livelli di anticorpi anti-PLA2R non possano trarre beneficio da un più precoce intervento terapeutico.

Infine, in un lavoro appena pubblicato da Hoxha et al. [25] sono riportati i risultati di uno studio prospettico multicentrico condotto su 133 pazienti adulti affetti da GNM idiopatica risultati positivi alla ricerca degli anticorpi anti-PLA2R e non ancora trattati con terapia immunosoppressiva. In un follow-up di 24 mesi è stato osservato che i livelli di anti-PLA2R erano correlati con la proteinuria sia nei pazienti trattati con immunosoppressori (n=101) che in quelli trattati con ACE-inibitori o sartanici (n=32). Dopo 3 mesi, la terapia immuno-

soppressiva aveva determinato una riduzione dei livelli di anti-PLA2R nel 81% dei casi a fronte di una riduzione della proteinuria nel 39% dei casi.

I pazienti in remissione clinica dopo 12 mesi avevano livelli più bassi di anti-PLA2R all'inizio dello studio rispetto ai pazienti in cui persisteva la proteinuria dopo la terapia. I pazienti con livelli più alti di anti-PLA2R raggiungevano la remissione clinica dopo un intervallo di tempo significativamente più lungo rispetto ai pazienti con bassi livelli di anti-PLA2R. Nei pazienti che sviluppavano una remissione spontanea, i livelli di anti-PLA2R si riducevano progressivamente nel corso del follow-up, mentre permanevano elevati nei pazienti con livelli di proteinuria persistentemente elevati. L'analisi multivariata di Cox confermava come i livelli di anti-PLA2R fossero un fattore di rischio indipendente del mancato raggiungimento della remissione della proteinuria nella GNM idiopatica. Gli autori concludono che la diminuzione del titolo anticorpale anti-PLA2R è associato ad una diminuzione della proteinuria nei pazienti con MN primitiva idiopatica.

In conclusione la disponibilità del monitoraggio specifico dell'attività immunologica della nefropatia con gli anticorpi anti-PLA2R, associata alle informazioni di studi di suscettibilità genetica allo sviluppo di patologie autoimmuni, potrebbe consentire di ottimizzare i protocolli terapeutici della GNM, compreso l'impiego di terapie mirate quali il Rituximab. D'altro canto, sarebbe opportuno integrare le attuali conoscenze diagnostiche e terapeutiche nell'ambito di studi clinici randomizzati controllati che confrontino il Rituximab con la terapia immunosoppressiva tradizionale, valutando non solo end-points surrogati (remissione della SN, variazioni della proteinuria), ma anche "hard end-points" come la sopravvivenza renale, nonché potenziali effetti collaterali a lungo termine della terapia con Rituximab.

Bibliografia

[1] Wasserstein AG Membranous glomerulonephritis. *Journal of the American Society of Nephrology* : JASN 1997 Apr;8(4):664-74 (full text)

[2] Li LS, Liu ZH Epidemiologic data of renal diseases from a single unit in China: analysis based on 13,519 renal biopsies. *Kidney international* 2004 Sep;66(3):920-3

[3] Kerjaschki D Pathomechanisms and molecular basis of membranous glomerulopathy. *Lancet* 2004 Oct 2-8;364(9441):1194-6

[4] Salant DJ, Belok S, Madaio MP et al. A new role for complement in experimental membranous nephropathy in rats. *The Journal of clinical investigation* 1980 Dec;66(6):1339-50

[5] Salant DJ In search of the elusive membranous nephropathy antigen. *Nephron. Physiology* 2009;112(1):p11-2

[6] Ronco P, Debiec H Target antigens and nephritogenic antibodies in membranous nephropathy: of rats and men. *Seminars in immunopathology* 2007 Nov;29(4):445-58

[7] Glasscock RJ The pathogenesis of idiopathic membranous nephropathy: a 50-year odyssey. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation* 2010 Jul;56(1):157-67

[8] HEYMANN W, HACKEL DB, HARWOOD S et al. Production of nephrotic syndrome in rats by Freund's adjuvants and rat kidney

suspensions. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N.Y.)* 1959 Apr;100(4):660-4

[9] Kerjaschki D, Farquhar MG The pathogenic antigen of Heymann nephritis is a membrane glycoprotein of the renal proximal tubule brush border. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1982 Sep;79(18):5557-61 (full text)

[10] Kerjaschki D, Farquhar MG Immunocytochemical localization of the Heymann nephritis antigen (GP330) in glomerular epithelial cells of normal Lewis rats. *The Journal of experimental medicine* 1983 Feb 1;157(2):667-86 (full text)

[11] Makker SP, Singh AK Characterization of the antigen (gp600) of Heymann nephritis. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology* 1984 Mar;50(3):287-93

[12] Raychowdhury R, Niles JL, McCluskey RT et al. Autoimmune target in Heymann nephritis is a glycoprotein with homology to the LDL receptor. *Science (New York, N.Y.)* 1989 Jun 9;244(4909):1163-5

[13] Whitworth JA, Leibowitz S, Kennedy MC et al. Absence of glomerular renal tubular epithelial antigen in membranous glomerulonephritis. *Clinical nephrology* 1976 Apr;5(4):159-62

[14] Debiec H, Guigonis V, Mougenot B et al. Antenatal membranous glomerulonephritis due to anti-neutral endopeptidase

antibodies. The New England journal of medicine 2002 Jun 27;346(26):2053-60 (full text)

[15] Debiec H, Nauta J, Coulet F et al. Role of truncating mutations in MME gene in fetomaternal alloimmunisation and antenatal glomerulopathies. Lancet 2004 Oct 2-8;364(9441):1252-9

[16] Beck LH Jr, Bonegio RG, Lambeau G et al. M-type phospholipase A2 receptor as target antigen in idiopathic membranous nephropathy. The New England journal of medicine 2009 Jul 2;361(1):11-21 (full text)

[17] Glassock RJ Human idiopathic membranous nephropathy--a mystery solved? The New England journal of medicine 2009 Jul 2;361(1):81-3

[18] Qin W, Beck LH Jr, Zeng C et al. Anti-phospholipase A2 receptor antibody in membranous nephropathy. Journal of the American Society of Nephrology : JASN 2011 Jun;22(6):1137-43 (full text)

[19] Ruggenenti P, Chiurciu C, Brusegan V et al. Rituximab in idiopathic membranous nephropathy: a one-year prospective study. Journal of the American Society of Nephrology : JASN 2003 Jul;14(7):1851-7 (full text)

[20] Fervenza FC, Cosio FG, Erickson SB et al. Rituximab treatment of idiopathic membranous nephropathy. Kidney international 2008 Jan;73(1):117-25

[21] Fervenza FC, Abraham RS, Erickson SB et al. Rituximab therapy in idiopathic membranous nephropathy: a 2-year study. Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN 2010 Dec;5(12):2188-98 (full text)

[22] Beck LH Jr, Fervenza FC, Beck DM et al. Rituximab-induced depletion of anti-PLA2R autoantibodies predicts response in membranous nephropathy. Journal of the American Society of Nephrology : JASN 2011 Aug;22(8):1543-50 (full text)

[23] Stanescu HC, Arcos-Burgos M, Medlar A et al. Risk HLA-DQA1 and PLA(2)R1 alleles in idiopathic membranous nephropathy. The New England journal of medicine 2011 Feb 17;364(7):616-26 (full text)

[24] 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 international 2013 May;83(5):940-8

[25] Hoxha E, Thiele I, Zahner G et al. Phospholipase A2 Receptor Autoantibodies and Clinical Outcome in Patients with Primary Membranous Nephropathy. Journal of the American Society of Nephrology : JASN 2014 Mar 7;