

Glomerulopatia membranosa: novos conhecimentos na fisiopatologia e possibilidades terapêuticas

Membranous glomerulonephritis: new insights in pathophysiology and therapeutic approach

Autores

Francisco Roberto Lello Santos¹

¹ Faculdade de Medicina da Universidade José do Rosário Vellano (UNIFENAS) MG.

RESUMO

Avanços dos conhecimentos moleculares na última década têm permitido a identificação de proteínas podocitárias que atuam como alvos antigênicos na glomerulonefrite membranosa (GNM). Estudos envolvendo anticorpos contra estruturas podocitárias tem promovido o conceito autoimune da forma idiopática desta glomerulopatia. Neste contexto, o receptor de fosfolipase A2 do tipo M (PLA2R) tem merecido destaque como o primeiro e mais importante autoantígeno descrito na GNM idiopática humana. A presença do anticorpo anti-PLA2R tem sido destacada entre 70% e 89% de portadores da GNM idiopática, diferenciando das formas secundárias. Diversos estudos têm sugerido a detecção do anti-PLA2R como diagnóstico e apontado a correlação de seus níveis circulantes com a atividade clínica e resposta terapêutica. Entretanto, a coexistência de outros autoanticorpos sugere uma complexa via patogênica envolvendo diferentes antígenos podocitários. Estudos adicionais são necessários para esclarecer o tempo de aparecimento e o papel de cada anticorpo antipodócito no diagnóstico e progressão da GNM.

Palavras-chave: doenças autoimunes; glomerulonefrite membranosa; receptores da fosfolipase A2.

ABSTRACT

During the last decade, several major breakthroughs have led to the identification of human podocyte membrane antigens. Experimental involving antipodocyte antibodies in human membranous nephropathy (MN) have opened a new line of thinking about this disease, relating as an autoimmune kidney disease. In this setting, the M-type phospholipase A2 receptor (PLA2R) was identified as the first major antigen target in human primary MN. Studies have demonstrated anti-PLA2R antibodies against PLA2R ranging from 70 to 89% in patients with MN, but not in those with secondary MN. It has been suggested that the serum level of anti-PLA2R could be used for the diagnosis of idiopathic MN and for the monitoring of response to treatment. However, the coexistence of autoantibodies suggests a complex pathogenic pathway that involves different podocyte targets. New experimental models are needed to elucidate the appearance time and the role of each antipodocyte antibody in MN development and progression.

Keywords: autoimmune diseases; glomerulonephritis, membranous; receptors, phospholipase A2.

Data de submissão: 03/10/2013.
Data de aprovação: 08/10/2013.

Correspondência para:

Francisco Roberto Lello Santos.
Faculdade de Medicina da Universidade José do Rosário Vellano - UNIFENAS Disciplina de Nefrologia/Departamento de Clínica Médica Alfenas-MG.
Rua Santos Anjos, nº 120, Centro, Varginha, MG, Brasil.
CEP: 37002-460.
E-mail: francisco.lello@unifenas.br

DOI: 10.5935/0101-2800.20140011

As glomerulopatias constituem a terceira causa de doença renal crônica dentre os que ingressam na terapia dialítica no Brasil.¹ Uma análise epidemiológica, retrospectiva, de 9.617 biópsias renais realizadas no Brasil, apontou a glomerulonefrite membranosa (GNM) como a segunda lesão glomerular primária mais prevalente, atingindo 20,7% da totalidade.² Esta glomerulopatia tem como característica histológica

a ausência de hiperplasia significativa e a microscopia eletrônica revela imunodepósitos subepiteliais/intramembranosos (imunoglobulina G e complemento), que acarretam dano podocitário e, comumente, síndrome nefrótica. A GNM pode assumir uma forma idiopática, sem patologia associada (70%-80%), ou secundária a várias condições clínicas, incluindo infecções (hepatites, sífilis), lúpus

eritematoso sistêmico, neoplasias ou medicamentos.³ Características histológicas encontradas na análise eletrônica e imunofluorescência podem ser úteis na distinção de formas idiopáticas (primárias) ou secundárias, porém, sua apresentação clínica e laboratorial são indistinguíveis. A falta de compreensão dos mecanismos envolvidos na patogênese da GNM é transmitida para seu manuseio terapêutico. Até o presente momento, critérios inespecíficos de gravidade são os balizadores das condutas terapêuticas adotadas.⁴

Os mecanismos patogênicos da GNM estão alicerçados nos estudos experimentais animais descritos por Heymann há mais de cinco décadas. A Nefrite de Heymann foi produzida após injeção de extratos de rim em ratos. Esta preparação antigênica promoveu lesão glomerular podocitária e proteinúria semelhante à GNM em humanos, também introduziu o conceito de um complexo patogênico autoimune autólogo para a GNM. No modelo animal descrito, alvos antigênicos podocitários, identificados como megalina, seriam os responsáveis pela formação *in situ* de imunocomplexos.⁵ Entretanto, este antígeno não é expresso no podócito humano. A partir destes fundamentos, anticorpos antipodócitos têm sido extensivamente investigados. Os podócitos são células altamente especializadas e têm um papel crucial na barreira glomerular. Alterações em moléculas de sua superfície podem demandar uma resposta imunológica com ligação de anticorpos, ativação de complemento e dano celular. A retração podocitária acarreta proteinúria, destruição da barreira glomerular e inicia a progressão para doença renal crônica.

Avanços dos conhecimentos moleculares na última década têm permitido a identificação de proteínas podocitárias que atuam como potenciais alvos antigênicos para a formação *in situ* de imunodepósitos, esclarecendo a concepção de “podocitopatia”. Nesta linha de estudo, alvos podocitários humanos têm sido identificados e responsabilizados como autoantígenos. Dois principais antígenos, ambos glicoproteínas de membrana, merecem destaques. Em 2002, Hanna Debiec e o grupo de Pierre Ronco estudaram uma forma rara de GNM antenatal e identificaram a endopeptidase neutra (NEP), uma metalopeptidase de 94 kDa que se localiza na superfície celular do podócito.⁶ A doença pode ser transferida para animais quando são infundidas imunoglobulinas extraídas do soro crianças (anti-NEP) com esta patologia, configurando

uma aloimunização.⁷ Um segundo antígeno foi descrito em 2009 por Beck *et al.*,⁸ o receptor de fosfolipase A₂ do tipo M (PLA₂R), uma proteína com 185 kDa, expressa no podócito humano. A ativação deste receptor induziria uma via patogênica com ativação de complemento e dano celular.

Utilizando técnicas imunoenzimáticas (*Western blotting*), proteínas glomerulares humanas foram adicionadas a amostras de soro de indivíduos com GNM, idiopática e secundária, e outras glomerulopatias (IgA, nefropatia diabética). Desta forma, foi possível identificar a reatividade específica contra uma proteína de 185 kDa em 70% das amostras com a forma idiopática. Posteriormente, estes alvos antigênicos tiveram seu epítipo identificado com a mesma sensibilidade para anticorpos direcionados contra o PLA₂R (anti-PLA₂R), com predomínio da subclasse 4 (IgG4). Técnicas de imunohistoquímica possibilitaram localizar a expressão deste antígeno entre o espaço urinário e a membrana basal com destaque no podócito. A partir da descrição deste autoantígeno, relevantes publicações têm destacado a presença do anti-PLA₂R, com especificidade variando de 57% a 89%, em portadores de GNM idiopática.⁹⁻¹² Foram demonstradas positividade para o anti-PLA₂R (*Western blotting*) em 81,7% de amostras sanguíneas de 60 chineses, portadores de GNM idiopática, com proteinúria superior a 3,5 g/24h.⁹

Aprofundando na pesquisa do anti-PLA₂R, o estudo de Debiec *et al.*¹⁰ pesquisou depósitos imunes de PLA₂R no tecido renal (glomérulos) de 42 pacientes com GNM sem indícios de formas secundárias. Estes pacientes tiveram amostras sanguíneas e tissulares coletadas antes da terapia imunossupressora. A sensibilidade do soro para anti-PLA₂R e a pesquisa do PLA₂R nos glomérulos foi de 57% e 74%, respectivamente. Em 10 pacientes com negatividade sérica para anti-PLA₂R, foi possível identificar depósitos glomerulares de PLA₂R. Estas observações mostraram que a determinação de ambos cenários, soro e tecido glomerular, poderiam estratificar diferentes estágios da patologia. Um clareamento sérico mais rápido e sua deposição no tecido renal poderiam justificar esta discrepância. Deste modo, extraímos uma importante informação de que a ausência do anti-PLA₂R circulante no momento da biópsia não excluiria o diagnóstico de GNM relacionada ao anti-PLA₂R. O estudo prospectivo conduzido em Hamburg por Hoxha *et al.*¹¹

incluiu 88 pacientes com diagnóstico histológico de GNM. Em 61 pacientes (69%), foi detectada forte positividade para PLA₂R nos glomérulos, com quase idêntica correlação sérica (anti-PLA₂R). A determinação de anti-PLA₂R também foi correlacionada com a atividade e resposta terapêutica instituída. Foi possível correlacionar níveis de anti-PLA₂R com redução de proteinúria em pacientes que receberam anticorpos monoclonais anti-CD20 (rituximab), sugerindo a monitorização do anti-PLA₂R como instrumento nas decisões terapêuticas. Elevados níveis de anti-PLA₂R estariam associados à atividade da doença (proteinúria) e risco aumentado de declínio da função renal.¹²

Uma questão que também tem sido discutida são os diferentes riscos detectados em subgrupos determinados pelo HLA DQA1, que exporiam grupos populacionais a maior suscetibilidade à GNM.^{13,14} O polimorfismo do PLA₂R pode acrescentar esclarecimentos a esta suscetibilidade individual da GNM. O estudo de Liu *et al.*¹⁵ demonstrou que o SNPs (*Single nucleotide polymorphisms*) rs35771982 teria uma expressão mais seletiva na população chinesa com GNM. A frequência do alelo G no rs35771982 e o genótipo G/G deste SNP estão associados inclusive à baixa taxa de remissão da GNM. Um estudo europeu, após isolar o DNA e realizar a genotipagem de 556 pacientes (franceses, holandeses e ingleses) portadores de GNM idiopática, sugeriu a hipótese de que existiria um PLA₂R de “risco elevado” para uma aloimunização. Estes resultados revelam uma estreita relação entre GNM idiopática e alelos de risco de HLA-DQA1 e PLA₂R.¹⁶

A GNM pode recorrer em até 42% dos transplantados renais. As manifestações iniciais são sutis, mas evoluem com proteinúria e perda do enxerto.¹⁷ A utilização de rituximab é efetiva no tratamento da recidiva da GNM pós-transplante, inclusive com regressão dos depósitos imunes.¹⁸ Debiec *et al.*¹⁹ demonstraram um caso de recorrência de GNM pós-transplante, onde os achados de biópsia mostravam depósitos glomerulares subepiteliais de PLA₂R em ambos, rins nativos e enxerto. O tratamento com rituximab estabilizou proteinúria e creatinina sérica; adicionalmente, os níveis séricos de anti-PLA₂R tornaram-se indetectáveis. Neste relato de recidiva precoce excepcional, ficaram demonstradas a participação da subclasse IgG3 e também da ativação do complemento pela via MBL (lecitina). A detecção da presença do imunodepósito

de PLA₂R em amostras de biópsias podem ser, no atual momento, mais sensível que testes sorológicos para avaliar GNM mediada por anti-PLA₂R.²⁰

O PLA₂R é expresso naturalmente na membrana celular do podócito e atua como um receptor da fosfolipase A₂ (PLA₂). Este receptor participa da regulação de respostas biológicas da PLA₂ que envolvem proliferação celular, adesão, produção de mediadores lipídicos, e liberação de ácido aracdônico. Estudos na oncogênese impõem o PLA₂R como um receptor multifuncional, modificações na expressão deste receptor têm um importante impacto na senescência de células humanas, via geração de espécies reativas de oxigênio. A sinalização para lesão celular poderia seguir a via p-53, uma proteína que desempenha um papel central na resposta celular que inclui a parada do ciclo celular, permitindo o reparo do dano no DNA, ou indução da morte celular.²¹

As etapas lesivas que sucedem a ligação com o alvo antigênico (PLA₂R) acarretariam expressão adicional de uma série de autoantígenos citoplasmáticos secundários (aldose reductase-AR, superoxide dismutase 2-SOD2 e α -enolase) também descritos na GNM idiopática com ausência de anti-PLA₂R circulante. Em 50% dos pacientes com GNM, não respondedores ou parciais a terapia, foram detectados anti-AR e anti-SOD2 séricos, tornando mais intrigada a compreensão do caráter autoimune da GNM. Estudos adicionais ainda serão necessários para esclarecer a etapa de aparecimento e o papel de cada anticorpo antipodócito no aparecimento e progressão da GNM.²²

Diante de evidências acumuladas, reunimos argumentos para eleger o anti-PLA₂R como um biomarcador glomerular. É mensurável, informa o estado de um processo patológico e a resposta clínica/laboratorial diante de uma intervenção medicamentosa.²³ Porém, estudos adicionais, prospectivos, com diferentes subclasses de imunoglobulinas, elucidando a participação do complemento, são necessários para aprofundarmos neste mecanismo de doença autoimune. Também é necessário desvendar o papel dos vários alvos antigênicos podocitários descritos.²⁴ Estudos com microdissecção a laser e análise proteômica glomerular possibilitarão auxiliar a elucidação da sequência complexa intracelular de estimulação antigênica. Poderemos correlacionar estágios evolutivos da GNM com a detecção de seus anticorpos específicos na circulação e intervenção terapêutica apropriada.²⁵

REFERÊNCIAS

1. Sesso RCC, Lopes AA, Thomé FS, Lugon JR, Watanabe Y, Santos DR. Diálise crônica no Brasil - Relatório do Censo Brasileiro de Diálise, 2011. *J Bras Nefrol* 2012;34:272-7. DOI: <http://dx.doi.org/10.5935/0101-2800.20120009>
2. Polito MG, de Moura LA, Kirsztajn GM. An overview on frequency of renal biopsy diagnosis in Brazil: clinical and pathological patterns based on 9,617 native kidney biopsies. *Nephrol Dial Transplant* 2010;25:490-6. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfp355>
3. Glasscock RJ. The pathogenesis of idiopathic membranous nephropathy: a 50-year odyssey. *Am J Kidney Dis* 2010;56:157-67. DOI: <http://dx.doi.org/10.1053/j.ajkd.2010.01.008>
4. Waldman M, Austin HA 3rd. Treatment of idiopathic membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2012;23:1617-30. DOI: <http://dx.doi.org/10.1681/ASN.2012010058>
5. Heymann W, Hackel DB, Harwood J, Wilson SG, Hunter JL. Production of nephrotic syndrome in rats by Freund's adjuvants and rat kidney suspensions. *Proc Soc Exp Biol Med* 1959;100:660-4. DOI: <http://dx.doi.org/10.3181/00379727-100-24736>
6. Debiec H, Guignon V, Mougenot B, Decobert F, Haymann JP, Bensman A, et al. Antenatal membranous glomerulonephritis due to anti-neutral endopeptidase antibodies. *N Engl J Med* 2002;346:2053-60. PMID: 12087141 DOI: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa012895>
7. Ronco P, Debiec H. Molecular pathomechanisms of membranous nephropathy: from Heymann nephritis to alloimmunization. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:1205-13. DOI: <http://dx.doi.org/10.1681/ASN.2004121080>
8. Beck LH Jr, Bonegio RG, Lambeau G, Beck DM, Powell DW, Cummins TD, et al. M-type phospholipase A2 receptor as target antigen in idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med* 2009;361:11-21. PMID: 19571279 DOI: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa0810457>
9. Qin W, Beck LH Jr, Zeng C, Chen Z, Li S, Zuo K, et al. Anti-phospholipase A2 receptor antibody in membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2011;22:1137-43. DOI: <http://dx.doi.org/10.1681/ASN.2010090967>
10. Debiec H, Ronco P. PLA2R autoantibodies and PLA2R glomerular deposits in membranous nephropathy. *N Engl J Med* 2011;364:689-90. PMID: 21323563 DOI: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMc1011678>
11. Hoxha E, Harendza S, Zahner G, Panzer U, Steinmetz O, Fechner K, et al. An immunofluorescence test for phospholipase-A₂-receptor antibodies and its clinical usefulness in patients with membranous glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant* 2011;26:2526-32. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfr247>
12. Hofstra JM, Beck LH Jr, Beck DM, Wetzels JF, Salant DJ. Anti-phospholipase A₂ receptor antibodies correlate with clinical status in idiopathic membranous nephropathy. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011;6:1286-91. DOI: <http://dx.doi.org/10.2215/CJN.07210810>
13. Kanigicherla D, Gummadova J, McKenzie EA, Roberts SA, Harris S, Nikam M, 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;83:940-8. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/ki.2012.486>
14. Lv J, Hou W, Zhou X, Liu G, Zhou F, Zhao N, et al. Interaction between PLA2R1 and HLA-DQA1 variants associates with anti-PLA2R antibodies and membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2013;24:1323-9. DOI: <http://dx.doi.org/10.1681/ASN.2012080771>
15. Liu YH, Chen CH, Chen SY, Lin YJ, Liao WL, Tsai CH, et al. Association of phospholipase A2 receptor 1 polymorphisms with idiopathic membranous nephropathy in Chinese patients in Taiwan. *J Biomed Sci* 2010;17:81. DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/1423-0127-17-81>
16. Stanescu HC, Arcos-Burgos M, Medlar A, Bockenhauer D, Kottgen A, Dragomirescu L, et al. Risk HLA-DQA1 and PLA(2)R1 alleles in idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med* 2011;364:616-26. PMID: 21323541 DOI: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1009742>
17. Dabade TS, Grande JP, Norby SM, Fervenza FC, Cosio FG. Recurrent idiopathic membranous nephropathy after kidney transplantation: a surveillance biopsy study. *Am J Transplant* 2008;8:1318-22. PMID: 18444918 DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-6143.2008.02237.x>
18. El-Zoghby ZM, Grande JP, Fraile MG, Norby SM, Fervenza FC, Cosio FG. Recurrent idiopathic membranous nephropathy: early diagnosis by protocol biopsies and treatment with anti-CD20 monoclonal antibodies. *Am J Transplant* 2009;9:2800-7. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-6143.2009.02851.x>
19. Debiec H, Hanoy M, Francois A, Guerrot D, Ferlicot S, Johanne C, et al. Recurrent membranous nephropathy in an allograft caused by IgG3κ targeting the PLA2 receptor. *J Am Soc Nephrol* 2012;23:1949-54. DOI: <http://dx.doi.org/10.1681/ASN.2012060577>
20. Svobodova B, Honsova E, Ronco P, Tesar V, Debiec H. Kidney biopsy is a sensitive tool for retrospective diagnosis of PLA2R-related membranous nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2013;28:1839-44. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfs439>
21. Augert A, Payré C, de Launoit Y, Gil J, Lambeau G, Bernard D. The M-type receptor PLA2R regulates senescence through the p53 pathway. *EMBO Rep* 2009;10:271-7. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/embor.2008.255>
22. Murtas C, Bruschi M, Candiano G, Moroni G, Magistroni R, Magnano A, et al. Coexistence of different circulating anti-podocyte antibodies in membranous nephropathy. *Clin J Am Soc Nephrol* 2012;7:1394-400. DOI: <http://dx.doi.org/10.2215/CJN.02170312>
23. McMahon GM, Waikar SS. Biomarkers in nephrology: Core Curriculum 2013. *Am J Kidney Dis* 2013;62:165-78. DOI: <http://dx.doi.org/10.1053/j.ajkd.2012.12.022>
24. Prunotto M, Carnevali ML, Candiano G, Murtas C, Bruschi M, Corradini E, et al. Autoimmunity in membranous nephropathy targets aldose reductase and SOD2. *J Am Soc Nephrol* 2010;21:507-19. DOI: <http://dx.doi.org/10.1681/ASN.2008121259>
25. Bruschi M, Carnevali ML, Murtas C, Candiano G, Petretto A, Prunotto M, et al. Direct characterization of target podocyte antigens and auto-antibodies in human membranous glomerulonephritis: Alfa-enolase and borderline antigens. *J Proteomics* 2011;74:2008-17. PMID: 21640210 DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2011.05.021>