

*Praca na stopień doktora nauk medycznych*

**Katarzyna Kanclerz**

***Poszukiwanie współzależności pomiędzy obrazem morfologicznym zmian w nerkach a wskaźnikami aktywności choroby u pacjentów z nefropatią toczniową.***

Promotor: dr hab. med. Barbara Bułło - Pionecka

***Gdańsk 2017***

KATEDRA I KLINIKA NEFROLOGII, TRANSPLANTOLOGII I  
CHORÓB WEWNĘTRZNYCH  
GDAŃSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY

Kierownik: prof. dr hab. med. Alicja Dębska - Ślizień

*Składam serdeczne podziękowania  
Pani dr hab. med. Barbarze Bułto – Pionteckiej  
za okazaną pomoc i życzliwość  
podczas przygotowywania tej pracy  
Dziękuję Rodzicom za wsparcie i Mężowi za motywację*

## SPIS STOSOWANYCH SKRÓTÓW

A - zmiany aktywne

ACA - przeciwciała antykardiolipinowe (ang. anti-cardiolipin antibodies)

A/C - zmiany aktywne i przewlekłe

ACR - Amerykańskie Towarzystwo Reumatologiczne (ang. American College of Rheumatology)

AI - indeks aktywności (ang. activity index)

ANA - przeciwciała przeciwjądrowe (ang. antinuclear antibodies)

aPL - przeciwciała antyfosfolipidowe (ang. antiphospholipid antibodies)

APS - zespół antyfosfolipidowy (ang. antiphospholipid syndrome)

C - zmiany przewlekłe

CI - indeks zmian przewlekłych (ang. chronicity index)

C1q - składowa dopełniacza C1q (ang. complement component C1q)

C3 - składowa dopełniacza C3 (ang. complement component C3)

C4 - składowa dopełniacza C4 (ang. complement component C4)

CKD-EPI - ang. chronic kidney disease epidemiology collaboration

DNA - kwas deoksyrybonukleinowy (ang. deoxyribonucleic acid)

DWB - dobowe wydalanie białka

eGFR - szacowana filtracja kłębuszkowa (ang. estimated glomerular filtration rate)

ELISA - metoda immunoenzymatyczna (ang. enzyme-linked immunosorbent assay)

EM - obraz w mikroskopie elektronowym (ang. electron microscopy)

FIH - hiperplazja włóknista błony środkowej (ang. fibrous intimal hyperplasia)

FTA - ABS - test immunofluorescencji krętków w modyfikacji absorpcyjnej (ang. fluorescent treponemal antibody absorbent test)

G - globalne

GBM - błona podstawna kłębuszków nerkowych (ang. glomerular basement membrane)

HBV - zapalenie wątroby typu B (ang. hepatitis B virus)

HCV - zapalenie wątroby typu C (ang. hepatitis C virus)

HIV - wirus HIV (ang. human immunodeficiency virus)

HEp - ludzkie komórki nabłonka (ang. Human Epithelial cell)

HLA - ludzkie antygeny leukocytarne (ang. human leukocyte antigens)

IF - obraz w mikroskopie immunofluorescencyjnym (ang. immunofluorescens)

IgA - immunoglobulina typu A

IgG - immunoglobulina typu G

IgM - immunoglobulina typu M

ISN - Międzynarodowe Towarzystwo Nefrologiczne (ang. International Society of Nephrology)

KKI - krążące kompleksy immunologiczne

KKI-C1q - krążące kompleksy immunologiczne wiążące C1q

KKI-C3d - krążące kompleksy immunologiczne wiążące C3d

KZN - kłębuszkowe zapalenie nerek

LA - antykoagulant toczniowy (ang. lupus anticoagulant)

LM - obraz w mikroskopie świetlnym (ang. light microscopy)

LN - nefropatia toczniowa (ang. lupus nephritis)

MCN - nefropatia zmian minimalnych (ang. minimal changes nephropathy)

MDRD - ang. Modification of Diet in Renal Disease

NIH - Narodowy Instytut Zdrowia (ang. National Institute of Health)

pAPS - pierwotny APS (ang. primary APS)

pc - przeciwciała

pc anty-c1q - przeciwciała przeciw c1q składowej dopełniacza

pc anty-dsDNA - przeciwciała przeciw dwuniciowemu DNA (ang. anti-double stranded DNA antibodies)

pc anty-nDNA - przeciwciała przeciw natywnemu DNA

pc p-histonom - przeciwciała przeciw histonom

pc p-kardiolipinie - przeciwciała przeciw kardiolipinie

pc p-La/SS-B - przeciwciała przeciw antygenowi La (ang. Sjögren Syndrome-B)

pc p-nRNP/Sm - przeciwciała przeciw natywnej rybonukleinie U1 (ang. antibodies against native ribonucleoprotein)

pc p-PCNA - przeciwciała przeciw jądrowemu antygenowi proliferujących komórek (ang. antibodies against proliferating cell nuclear antigen)

pc p-Ro/SS-A - przeciwciała przeciw antygenowi Ro (ang. Sjögren Syndrome-A)

pc p-rybosomalnemu białku P - przeciwciała przeciw rybosomalnemu białku P

pc p-Smith - przeciwciała przeciw antygenowi Smith

PM - zapalenie wielomięśniowe (łac. polymyositis)

ppw - pokrywające pole widzenia

RPS - Towarzystwo Patologii Nerek (ang. Renal Pathology Society)

RZS - reumatoidalne zapalenie stawów

sAPS - wtórny APS (ang. secondary APS)

S - segmentalne

SLE - Toczeń Rumieniowaty Układowy (ang. Systemic Lupus erythematosus)

SLICC - (ang. Systemic Lupus International Collaborative Clinics)

TLR 9 - toll-podobny receptor 9 (ang. toll-like receptor 9)

TPI - krętek blady (łac. Treponema palidum )

TTP - zakrzepowa plamica małopłytkowa (ang. thrombotic thrombocytopenic purpura)

VDRL - tzw. mikroskopowy test kłaczkowania. Badanie przesiewowe wykonywane w kierunku kiły.

WHO - Światowa Organizacja Zdrowia (ang. World Health Organisation)

wpw - w polu widzenia

ZN - zespół nerczycowy

## SPIS TREŚCI

SPIS STOSOWANYCH SKRÓTÓW	3
SPIS TREŚCI	6
1. WSTĘP	9
1.1. Dane ogólne, epidemiologia tocznia rumieniowatego układowego	9
1.2. Patofizjologia, kryteria rozpoznania tocznia rumieniowatego układowego	10
1.3. Nefropatia toczniowa: dane kliniczne, klasyfikacja, obraz histopatologiczny	14
1.4. Immunopatologia tocznia rumieniowatego układowego; wskaźniki istotne w monitorowaniu przebiegu tocznia rumieniowatego układowego i nefropatii toczniowej	21
1.4.1. Przeciwciała anty-dsDNA	24
1.4.2. Przeciwciała anty-C1q	25
1.4.3. Inne wskaźniki aktywności choroby	26
1.4.4. Przeciwciała antyfosfolipidowe	27
1.5. Postacie nefropatii spoza klasyfikacji ISN/RPS obserwowane u chorych z toczniem rumieniowatym układowym	30
2. CEL	31
3. MATERIAŁ I METODY	32
3.1. Materiał kliniczny	32
3.2. Badanie histopatologiczne bioptatu nerki	33
3.3. Metody laboratoryjne	35
3.4. Metody statystyczne	38
4. WYNIKI	39
4.1. Parametry biochemiczne i immunologiczne w badanej grupie pacjentów	39

w momencie wykonania biopsji nerki	
4.1.1. Wyniki badań laboratoryjnych	39
4.1.2. Wyniki badań immunologicznych	40
4.2. Obraz histopatologiczny biopsji nerki	41
4.2.1. Rozpoznanie klasy nefropatii toczniowej wg ISN/RPS	41
4.2.2. Obraz morfologiczny biopsji nerki: zmiany kłębuszkowe	43
4.2.3. Obraz morfologiczny biopsji nerki: zmiany śródmiąższowe i naczyniowe	44
4.2.4. Obraz morfologiczny biopsji nerki: badanie w mikroskopie immunofluorescencyjnym (IF)	45
4.3. Parametry biochemiczne i immunologiczne w zależności od wskazania do wykonania biopsji nerki	46
4.4. Parametry biochemiczne i immunologiczne w zależności od rozpoznania poszczególnych klas nefropatii toczniowej ISN/RPS	49
4.5. Parametry biochemiczne, immunologiczne i histopatologiczne w zależności od obecności przeciwciał: anty-dsDNA i anty-C1q	51
4.6. Badanie zależności pomiędzy wybranymi parametrami immunologicznymi, biochemicznymi oraz histopatologicznymi	55
4.6.1. Ocena korelacji pomiędzy wskaźnikami aktywności immunologicznej LN a wybranymi parametrami biochemicznymi	55
4.6.2. Badanie zależności pomiędzy parametrami aktywności immunologicznej nefropatii toczniowej oraz obrazem histopatologicznym biopsji nerki badanych pacjentów	59
4.6.3. Poszukiwanie zależności pomiędzy obecnością niektórych zmian morfologicznych w biopsji nerek a wskaźnikami aktywności nefropatii toczniowej	63
5. OMÓWIENIE WYNIKÓW I DYSKUSJA	67
5.1. Obraz histopatologiczny biopsji nerki w nefropatii toczniowej	67
5.2. Zmiany śródmiąższowe i naczyniowe	70
5.3. Nietypowy przypadek nefropatii toczniowej	72
5.4. Badanie w mikroskopie immunofluorescencyjnym (IF)	74

5.5. Badania immunologiczne – a biopsja nerki	75
5.6. Nowe markery pomocne w rozpoznawaniu nefropatii toczniowej	78
6. PODSUMOWANIE	80
7. WNIOSKI	81
8. PIŚMIENNICTWO	82
9. SPIS TABEL I RYCIN	93
10. STRESZCZENIE	96
11. SUMMARY	99



## 1. WSTĘP

### 1.1. Dane ogólne, epidemiologia tocznia rumieniowatego układowego

Toczeń rumieniowaty układowy (ang. systemic lupus erythematosus, SLE) jest układową chorobą tkanki łącznej o zróżnicowanym obrazie klinicznym, charakteryzującą się zajęciem wielu narządów, obecnością w surowicy autoprzeciwciał oraz przebiegającą z okresami remisji i zaostrzeń<sup>1</sup>. Etiopatogeneza SLE nie jest do końca poznana a jej zbadanie nadal stanowi wyzwanie dla wielu naukowców. Biorąc pod uwagę różnice w częstości występowania choroby w zależności od wieku, płci czy rejonu świata prawdopodobne jest, że zarówno czynniki środowiskowe, genetyczne jak i hormonalne mają wpływ na rozwój choroby. W 1984 roku Alarcon-Segovia wprowadził pojęcie „trójki patogenetycznej” wskazując na rolę tych trzech czynników w rozwoju zaburzeń immunologicznych, prowadzących do powstania choroby oraz występowania zaostrzeń. Zapadalność na SLE waha się od 1 do 10 przypadków / 100 000 populacji / rok, chorobowość według różnych źródeł wynosi od 20 do 70 przypadków na 100 000 mieszkańców<sup>2</sup>. Wykazano, iż występowanie ludzkich antygenów leukocytarnych (ang. human leukocyte antigens, HLA) klasy II DR2 i DR3 wiąże się z trzykrotnie większym ryzykiem zachorowania na SLE<sup>3</sup>. 9/10 pacjentów z rozpoznaniem SLE to kobiety, co jednoznacznie wskazuje na rolę płci, czyli czynników genetycznych i hormonalnych na rozwój choroby<sup>4</sup>. Płeć żeńska stanowi najsilniejszy czynnik ryzyka wystąpienia SLE. Częstość występowania znacząco różni się w różnych grupach etnicznych. Zapadalność i chorobowość wśród Afroamerykanów i Azjatów jest dwa do trzy razy wyższa niż w białej populacji<sup>5</sup>. Choroba częściej również występuje u Aborygenów niż u pozostałych mieszkańców Australii<sup>6,7</sup>. Według różnych badań epidemiologicznych chorobowość SLE w Stanach Zjednoczonych Ameryki waha się od 1,4 w populacji białej do 4,5 przypadków w populacji czarnej / 100 000 mieszkańców. Również na terenie Europy istnieją różnice w występowaniu SLE, przykładowo: w Hiszpanii wynosi 2,2 przypadków / 100 000 (w populacji białej), w Szwecji 4,7 / 100 000 a w samej Wielkiej Brytanii od 3 / 100 000 w

populacji białej, poprzez 10 / 100 000 w populacji azjatyckiej do 21,9 / 100 000 w populacji afroamerykańskiej<sup>8</sup>. Zaobserwowano tendencję do wzrostu częstości zachorowań na SLE w Europie i Australii, przy zmniejszaniu się zachorowań w Japonii. Największą częstość występowania choroby w Europie obserwuje się w Szwecji, Islandii i Hiszpanii. Nie są dostępne dokładne dane wykazujące częstość występowania SLE w Polsce, częstość jest prawdopodobnie podobna do tej, jaka jest podawana dla Europy Północnej. Szacuje się więc że w Polsce mieszka około 20 000 osób z rozpoznaniem SLE<sup>9</sup>. SLE jest chorobą dotykającą najczęściej kobiety w wieku reprodukcyjnym. Jest to widoczne zwłaszcza w populacji czarnych kobiet w Stanach Zjednoczonych. Dzieci chorują zdecydowanie rzadziej niż dorośli. Roczna zapadalność w Stanach Zjednoczonych u dzieci < 16 roku życia jest mniejsza niż 1 na 100 000 mieszkańców<sup>2</sup>.

## 1.2. Patofizjologia, kryteria rozpoznania toczenia rumieniowatego układowego

Do wystąpienia objawów choroby dochodzi, gdy do czynników hormonalno-genetycznych dołączają się czynniki środowiskowe. Według licznych doniesień, do czynników mogących inicjować proces chorobowy oraz wpływać na jego przebieg należą między innymi: ekspozycja na promieniowanie UV-B, infekcje wirusowe, bakteryjne, toksyny, leki, szczepienia, niedobór witaminy D, stres i inne. Ocena wpływu czynników środowiskowych na rozwój i przebieg SLE jest trudna lub wręcz niemożliwa. Związane jest to z różnym upływem czasu od momentu wystąpienia ekspozycji do rozwoju zaburzeń immunologicznych, inicjujących proces chorobowy lub jego zaostrzenie<sup>10-13</sup>. Z uwagi na różnorodność objawów klinicznych rozpoznanie SLE stanowi poważny problem diagnostyczny. W związku z tym Amerykańskie Towarzystwo Reumatologiczne (ang. American College of Rheumatology, ACR) w 1982 opracowało, a w 1997 zmodyfikowało kliniczno-diagnostyczne kryteria rozpoznania choroby. Warunkiem rozpoznania jest spełnienie 4 spośród 11 kryteriów (tabela 1.1)<sup>14</sup>.

Tabela 1.1 Kryteria rozpoznania SLE według ACR z 1982, po modyfikacji z 1997

	kryterium	określenie
1.	Rumień twarzy, tzw. <i>malar rash</i>	Utrwalony rumień płaski lub lekko uniesiony, umiejscowiony na policzkach, nieprzekraczający bruzd nosowo-wargowych
2.	Rumień krążkowy, tzw. <i>discoid rash</i>	Wyniosłe zmiany rumieniowate, nadmiernie złuszczone i rogowaciejące przymieszkowo, w starszych zmianach może się pojawić zanikowe bliznowacenie
3.	Nadwrażliwość na światło	Osutka w wyniku nietypowej reakcji na światło słoneczne, stwierdzana przez lekarza lub zgłaszana przez chorego
4.	Owzrodenia jamy ustnej	Nadżerki błony śluzowej jamy ustnej lub nosowo-gardłowej, zwykle niebolesne, stwierdzone przez lekarza
5.	Zapalenie stawów	Zapalenie dotyczące co najmniej dwóch stawów obwodowych, charakteryzujące się bolesnością, obrzękiem lub wysiękiem, bez nadżerek w badaniu radiologicznym
6.	Zapalenie błon surowiczych	Zapalenie opłucnej (pleuritis), ból opłucnowy w wywiadzie lub stwierdzenie tarcia opłucnej lub wysięku w jamie opłucnej, Zapalenie osierdzia (pericarditis) udokumentowane na podstawie zmian w EKG lub stwierdzenie tarcia osierdzia, albo wysięku w jamie osierdzia
7.	Zajęcie nerek	Utrzymujący się białkomocz powyżej 0,5g/dobę lub, jeśli badanie ilościowe nie są wykonywane, w teście paskowym występowanie białka > 3+, Występowanie wałeczków komórkowych (erytrocytarnych, hemoglobinowych, ziarnistych, cewkowych lub mieszanych)
8.	Zaburzenia neurologiczne	Napady drgawkowe lub zaburzenia psychiczne - po wykluczeniu reakcji polekowych oraz zaburzeń metabolicznych (np. mocznica, kwasica ketonowa, zaburzenia elektrolitowe)
9.	Zaburzenia hematologiczne	Anemia hemolityczna z retikulocytozą, Leukopenia < 4000/mm <sup>3</sup> , stwierdzane co najmniej dwukrotnie Limfopenia < 1500/mm <sup>3</sup> , stwierdzane co najmniej dwukrotnie Trombocytopenia < 100 000/mm <sup>3</sup> , po wykluczeniu wpływu leków
10.	Zaburzenia immunologiczne	Obecność przeciwciał przeciw natywnemu DNA (pc anti-nDNA), przeciwciał przeciw antygenowi Sm (pc anti-Sm), Obecność przeciwciał antyfosfolipidowych (ang. antiphospholipid antibodies, aPL) stwierdzone na podstawie: - obecności aPL w klasie G lub M w mianie uznanym za nieprawidłowe - obecności antykoagulantu toczniowego (ang. lupus anticoagulant, LA) wykrywanego metodami standardowymi, - fałszywie dodatniego wyniku testu VDRL, utrzymującego się co najmniej 6 miesięcy i potwierdzonego ujemnym wynikiem testu immobilizacji krętka błędnego (łac. Treponema palidum, TPI) lub testu immunofluorescencji krętków w modyfikacji absorpcyjnej (ang. fluorescent treponemal antibody absorbent test, FTA-Abs)
11.	Przeciwciała przeciwjądrowe (ang. antinuclear antibodies, ANA)	Występowanie ANA w mianie uznanym za nieprawidłowe, badane metodą immunofluorescencji lub inną odpowiednią, stwierdzone aktualnie lub w przeszłości, po wykluczeniu wpływu leków indukujących toczeń polekowy

Z powodu ograniczeń kryteriów ustalonych przez ACR, grupa the Systemic Lupus International Collaborative Clinics (SLICC) zmodyfikowała dotychczasowe kryteria rozpoznania SLE włączając 11 elementów klinicznych i 6 serologicznych do nowych kryteriów SLICC z 2012<sup>15</sup>. Ustalono, iż rozpoznanie SLE można postawić, gdy:

1. występuje nefropatia potwierdzona biopsją nerki i pozytywne ANA lub przeciwciała przeciw dwuniciowemu DNA (ang. anti-double stranded DNA antibodies, pc anty-dsDNA)

lub

2. pacjent spełnia cztery z 17 kryteriów, w tym co najmniej jedno kliniczne i jedno immunologiczne.

Tabela 1.2 Kryteria klasyfikacji toczenia rumieniowatego układowego wg SLICC z 2012. Kryteria kliniczne

1.	ostry toczeń skóry	rumień toczniowy, toczniowe zmiany pęcherzowe, toksyyczna nekroliza naskórkowa – wariant toczniowy, rumień toczniowy grudkowy, umień toczniowy z nadwrażliwości na światło lub podostry toczeń skóry (niestwardniałe zmiany łuszczycopodobne i/lub wielopierścieniowe zmiany które ustępują bez bliznowacenia, czasami z pozapalną depigmentacją lub teleangiektazją)
2.	przewlekły toczeń skóry	klasyczny rumień krążkowy (zlokalizowany powyżej szyi) uogólniony rumień krążkowy (zlokalizowany powyżej i poniżej szyi) przerostowy rumień krążkowy toczniowe zapalenie tkanki podskórnej toczeń błon śluzowych lupus erythematosus tumidus toczeń odmrożeniowy
3.	owrzodzenia błony śluzowej jamy ustnej	obejmujące podniebienie, policzki, język lub owrzodzenia w nosie
4.	łysienie plackowate ( <i>alopecia</i> ) - bez bliznowacenia	rozlane ścięczenie i łamliwość włosów z widocznymi ubytkami owłosienia
5.	zapalenie błony maziowej	obejmujące 2 lub więcej stawów, charakteryzujące się obrzękiem lub wysiękiem lub bolesność 2 lub więcej stawów i przynajmniej 30 minut trwająca sztywność poranna
6.	zapalenie błon surowiczych	– klasyczne zapalenie opłucnej trwające ponad 1 dzień lub wysięk opłucnowy lub tarcie opłucnowe – klasyczny ból osierdziowy trwający ponad 1 dzień

		lub wysięk osierdziowy lub tarcie osierdziowe lub zapalenie osierdzia uwidocznione w ECHO serca
7	zajęcie nerek	– DWB > 0,5g/24h (lub współczynnik albuminy do kreatyniny w porcji moczu > 0,5mg/g) lub obecność walczków z krwinek czerwonych
8.	zajęcie układu nerwowego (centralnego i obwodowego)	drgawki psychozy mononeuritis multiplex (przy braku innych przyczyn, takich jak pierwotne zapalenie naczyń), zapalenie rdzenia kręgowego, obwodowa i mózgową neuropatia (przy braku innych przyczyn, takich jak pierwotne zapalenie naczyń, infekcja, cukrzyca), ostry stan otępienny (przy braku innych przyczyn takich jak: zaburzenia toksyczno-metaboliczne, mocznica, leki)
9	niedokrwistość hemolityczna	
10	leukopenia	<4000/mm <sup>3</sup> przynajmniej raz (przy braku innych przyczyn, jak: zespół Felty, leki, nadciśnienie wrotne) lub limfopenia (< 1000/mm <sup>3</sup> ) przynajmniej raz (przy braku innych przyczyn jak: leki, infekcja)
11.	trombocytopenia	<100 000 mm <sup>3</sup> przynajmniej raz (przy braku innych przyczyn jak: leki, nadciśnienie wrotne, zakrzepowa plamica małopłytkowa (ang. thrombotic thrombocytopenic purpura, TTP)

Tabela 1.3 Kryteria klasyfikacji tocznia rumieniowatego układowego wg SLICC z 2012. Kryteria immunologiczne

1.	ANA	Powyżej zakresu wartości referencyjnych
2.	pc anti-dsDNA	Powyżej zakresu wartości referencyjnych
3.	pc anti-Sm	Obecność pc anti-Sm
4.	aPL	Fałszywie dodatni test kiłowy, średnie lub wysokie miano przeciwciał antykardiolipinowych (ACA) (IgA, IgG lub IgM), dodatni test na obecność przeciwciał przeciw β2 glikoproteinie (IgA, IgG, IgM)
5.	składowe dopełniacza	Obniżone stężenie: składowej dopełniacza C3 (C3), składowej dopełniacza C4 (C4), aktywności hemolitycznej dopełniacza (CH50)
6.	test Coombsa	Dodatni bezpośredni, przy braku niedokrwistości hemolitycznej

Istotną różnicą wynikającą z nowych kryteriów klasyfikacji SLE jest fakt, iż rozpoznana biopsyjnie nefropatia toczniowa (ang. lupus nephritis, LN), przy współistnieniu dodatnich ANA lub pc anti-dsDNA stanowi jednoznaczne potwierdzenie SLE. Rozpoznanie SLE można postawić, gdy pacjent spełnia 4 kryteria, w tym co najmniej

jedno kryterium kliniczne i jedno immunologiczne.

Kryteria SLICC znacząco rozszerzają się na dermatologiczne elementy poprzez zawarcie różnych typów ostrych, podostrych i przewlekłych toczniowych zmian skórnych. Kryteria ACR uznawały tylko wysypki policzkową i dyskoidalną. Usunięto kryterium „fotowrażliwość”, a dodano „łysienie niebliznowaciejące”. Do ataków drgawkowych i psychoz dodano inne objawy neurologiczne tocznia, jak: mnogie zapalenie pojedynczych nerwów, zapalenie rdzenia kręgowego, neuropatia obwodowa lub czaszkowa, ostry zespół mózgowy (majaczenie). Wśród grupy kryteriów immunologicznych dodatkowo znalazły się: niski poziom składowych dopełniacza i pozytywny bezpośredni odczyn Coombsa przy braku anemii hemolitycznej.

### 1.3. Nefropatia toczniowa: dane kliniczne, klasyfikacja, obraz histopatologiczny

U większości chorych z SLE rozwija się LN. Jest ona ciężkim powikłaniem choroby oraz istotnym czynnikiem zwiększającym śmiertelność w tej grupie chorych. Uważa się, że rozwija się aż u 60-80% pacjentów z SLE. LN częściej występuje u dzieci i nastolatków (aż do 80% populacji chorej na SLE) niż u dorosłych, częściej dotyczy Afroamerykanów i Latynosów niż chorych rasy kaukaskiej<sup>16,17</sup>. Wykazano związek występowania LN z określonymi antygenami zgodności tkankowej<sup>16,18</sup>. Zarówno przebieg kliniczny choroby jak i powikłania LN mogą prezentować się w bardzo różnorodny sposób. Na obraz kliniczny LN może składać się jedynie niewielki białkomocz z albo bez erytrocyturii, jak również ciężki ZN z DWB sięgającym nawet kilkunastu gramów czy szybko postępująca niewydolność nerek. U 10-25% pacjentów nefropatia prowadzi do schyłkowej niewydolności nerek i konieczności leczenia nerkozastępczego<sup>18</sup>. W momencie postawienia rozpoznania SLE już u 50% pacjentów występują cechy LN. U 15-20% pacjentów nefropatia stanowi pierwszą manifestację choroby<sup>18,19</sup>. Tak różnorodny obraz kliniczny przekłada się na występowanie szerokiego wachlarza zmian morfologicznych w biopsji nerki. Mimo iż patologia LN dotyczy wszystkich składowych miąższu nerkowego to o odległym rokowaniu odnośnie utrzymania funkcji nerek decyduje zajęcie kłębuszków nerkowych przez proces chorobowy, co stanowi także podstawę przyporządkowania do odpowiedniej klasy nefropatii<sup>20-22</sup>.

Biopsja nerki jest podstawowym badaniem diagnostycznym umożliwiającym zakwalifikowanie zmian w kłębuszkach do odpowiedniej klasy LN, a także pozwalającym na uzyskanie informacji o rodzaju, aktywności i zaawansowaniu procesu chorobowego<sup>23-25</sup>.

Badanie patomorfologiczne fragmentu nerki pobranej w trakcie biopsji gruboigłowej składa się z oceny materiału w mikroskopie świetlnym (ang. light microscopy, LM), immunofluorescencyjnym (ang. immunofluorescens, IF) oraz optymalnie w mikroskopie elektronowym (ang. electron microscopy, EM). Badanie w LM, dzięki dostępnym różnym metodom barwienia uwidacznia rozplam mezangialny, śródwłośniczkowy, zewnątrzwłośniczkowy, pogrubienie ścian włośniczek, martwicę pętli włośniczek, stwardnienie i/lub szklwienie kłębuszków. Standardowy zestaw do badania immunomorfologicznego obejmuje wykonanie odczynów z przeciwciałami skierowanymi przeciw: immunoglobulinie typu A (IgA), immunoglobulinie typu G (IgG), immunoglobulinie typu M (IgM), C3, C4, składowej dopełniacza C1q (C1q), łańcuchom lekkim lambda i kappa, fibrynogenowi. Wynik tego badania zawiera opis świecenia (ziarnisty, linijny), lokalizację poszczególnych złogów (mezangium, wzdłuż ścian włośniczek, naczynia, cewki) oraz nasilenie świecenia (ocena półilościowa: 1+ ślad świecenia, 2+ świecenie średnio obfite, 3+ świecenia obfite i bardzo obfite). Badanie w EM z uwagi na duży koszt wykonuje się w określonych sytuacjach klinicznych. Decyzję podejmuje się po otrzymaniu wyniku badania w LM i IF przy istniejących wątpliwościach diagnostycznych<sup>23,24</sup>. Miejsce odkładania się czy powstawania in situ kompleksów immunologicznych determinuje rodzaj uszkodzenia kłębuszka nerkowego.

Na tej podstawie można wyróżnić trzy typy uszkodzenia kłębuszka nerkowego w LN<sup>26-28</sup>:

a. mezangialne rozplamowe KZN, w którym dominuje rozplam komórek mezangialnych z współistniejącym przybytkiem macierzy pozakomórkowej. W IF uwidocznione zostają złogi IgG samodzielnie lub z IgM, IgA oraz C3, C4 i łańcuchów lekkich immunoglobulin w tym regionie,

b. błoniaste KZN cechujące się odkładaniem złogów immunologicznych (zwłaszcza IgG i składowych dopełniacza) po nabłonkowej stronie błony podstawnej kłębuszków (ang. glomerular basement membrane, GBM). W początkowym okresie można nie uwidocznić żadnych zmian. Z czasem pojawia się pogrubienie GBM oraz formowanie się wypustek



GBM między złoгами (tzw. kolce, uwidocznione metodą impregnacji solami srebra-srebrzenie metodą Jonesa). W IF widoczne są obwodowe, ziarniste złogi głównie IgG, C3 i C4 wzdłuż przebiegu GBM. Złogi te uszkodzając GBM zwiększają jej przepuszczalność dla białek. Główną manifestacją tego typu uszkodzenia jest duży białkomocz, często zespół nerczycowy (ZN). Przy długotrwałej stymulacji antygenowej dochodzi do odczepiania się wypustek stopowatych podocytów od GBM i ich zrostów z torebką Bowmana. Stanowi to wstępną fazę procesu segmentalnej sklerotyzacji kłębuszka<sup>29</sup>.

c. błoniasto-rozplemowe (wewnątrzwołniczkowe, śródwołniczkowe) KZN, w którym złogi odkładają się pod śródbłonkiem, co daje charakterystyczny obraz tzw. pętli drutu (ang. wire loops) oraz w mezangium. Z uwagi na bezpośredni kontakt przestrzeni podśródbłonkowej z mezangium i możliwość przechodzenia kompleksów immunologicznych z tej przestrzeni do mezangium, wewnątrzwołniczkowe uszkodzenie zazwyczaj współistnieje ze zmianami mezangialnymi. W IF widoczne są złogi IgG (głównie IgG1 i IgG3), C3, C4, C1q podśródbłonkowo oraz w mezangium (tu dodatkowo widoczne IgM i IgA). Kłębuszki cechują się nadmierną komórkowością i pogrubieniem GBM, co nadaje im strukturę zrazikową, tzw. lobulizacja kłębuszka. Obecność złogów stymuluje rozplem komórek mezangium, macierzy pozakomórkowej jak również przyczynia się do uszkodzenia komórek śródbłonka. Uszkodzenie śródbłonka wołniczek, kontakt składników morfotycznych krwi i wydzielanych przez nie enzymów i rodników ponadtlenkowych z błoną podstawną skutkuje jej uszkodzeniem, co dalej powoduje rozplem komórek warstwy ściennej torebki Bowmana i formowaniem się półksiężyców. O półksiężycu komórkowym mówimy, gdy stwierdza się w przestrzeni Bowmana co najmniej dwie warstwy komórek zajmujące 25% lub więcej obwodu torebki kłębuszka. Oprócz półksiężyców komórkowych można stwierdzić obecność półksiężyców komórkowo-włóknistych czy włóknistych świadczących o przewlekłym charakterze toczącego się procesu chorobowego. Obecność tego typu rozrostów w większości kłębuszków (>50%) upoważnia do rozpoznania zewnątrzwołniczkowego KZN, będącego konsekwencją toczącego się wewnątrzwołniczkowego KZN<sup>27,28</sup>.

Opisane zmiany morfologiczne w nerce często nie obejmują wszystkich kłębuszków lub też nie dotyczą wszystkich pętli wołniczkowych w obrębie kłębuszka. Jeśli obejmują >50% kłębuszków określa się je mianem zmian rozlanych. Jeżeli dotyczy to mniej niż 50%



kłębuszków klasyfikuje się je jako zmiany ogniskowe. Pojęcie zmian segmentalnych (S) oznacza zajęcie przez proces chorobowy mniej niż połowy pętli włosniczki w obrębie kłębuszka, natomiast zmiany globalne (G) dotyczą zajęcia procesem chorobowym więcej niż 50% włosniczek w kłębuszku<sup>27,28</sup>. Przebieg kliniczny nefropatii jest w dużym stopniu powiązany ze zmianami morfologicznymi w kłębuszkach nerkowych. Typowo dla obrazu LN dominujące są zmiany mezangialne. Pierwszym członem w reakcji zapalnej zachodzącej w mezangium jest odkładanie się w tym rejonie złogów kompleksów immunologicznych, co powoduje migrację komórek zapalnych produkujących cytokiny, czego konsekwencją jest proliferacja komórek mezangialnych i przybytek macierzy mezangialnej. Gdy proces chorobowy ogranicza się tylko do mezangium kłębuszka w obrazie klinicznym dominuje niewielki białkomocz z albo bez erytrocyturii z zachowaną lub nieznacznie obniżoną filtracją kłębuszkową. Zmiany wewnątrzwołniczkowe zazwyczaj manifestują się nagłym obniżeniem filtracji kłębuszkowej, erytrocyturią i nieznacznym lub umiarkowanym białkomoczem. Błoniasta nefropatia zazwyczaj objawia się znacznym białkomoczem, często pod postacią ZN, z zachowaną prawidłową filtracją kłębuszkową lub stopniowym jej obniżaniem<sup>21,26</sup>. Te trzy typy zmian morfologicznych w kłębuszkach nerkowych w LN często współistnieją, w różnym nasileniu u jednego pacjenta. Postawienie diagnozy u pacjenta z niewielkim lub umiarkowanym białkomoczem i zachowaną funkcją nerek jest szczególnie trudne, gdyż może być manifestacją zarówno klasy II, V, jak i klasy III i IV, ale we wczesnym ich stadium lub przy niskiej aktywności zmian proliferacyjnych<sup>21</sup>. Dlatego na podstawie obrazu klinicznego nie jest możliwe jednoznaczne zakwalifikowanie do danego typu uszkodzenia, czy klasy LN. Jedynie na podstawie biopsji nerki można określić, który rodzaj zmian morfologicznych dominuje oraz postawić jednoznacznie rozpoznanie.

Zmiany morfologiczne obecne w biopsji nerek pacjentów z LN zawierają szerokie spektrum zmian kłębuszkowych, naczyniowych oraz cewkowo-śródmiaższowych. Utworzenie klasyfikacji, w której zmiany histopatologiczne korelują z obrazem klinicznym, odpowiedzią na leczenie czy rokowaniem było i jest ogromnym wyzwaniem dla histopatologów i klinicystów. Tłumaczy to również, dlaczego przez ostatnich 40 lat klasyfikacja ta ulegała przekształceniom, a istniejąca wciąż nie satysfakcjonuje wielu badaczy. Pierwsza klasyfikacja LN została sformułowana przez Pirani i Pollock w 1974, a

poraz pierwszy opublikowana w 1975<sup>30</sup>. W 1982 Światowa Organizacja Zdrowia (ang. *World Health Organization*, WHO) zaproponowała klasyfikację LN, którą w kolejnych latach poddawano modyfikacjom<sup>21</sup>. Poszczególnym klasom nefropatii przypisano występowanie pewnych zmian morfologicznych. Istnieje również możliwość współwystępowania dwóch klas (np. III i V). Do niedawna obowiązywała klasyfikacja WHO po modyfikacji w 1995 (Tabela 1.4)<sup>31</sup>, ale ostatecznie w 2004 podano obowiązującą obecnie klasyfikację LN, ustaloną przez Międzynarodowe Towarzystwo Nefrologiczne (ang. *International Society of Nephrology*, ISN) i Towarzystwo Patologii Nerek (ang. *Renal Pathology Society*, RPS) (Tabela 1.5)<sup>26</sup>. Podobnie jest kolejną modyfikacją klasyfikacji WHO, ale opisuje znacznie większą ilość potencjalnie możliwych do zaobserwowania zmian w biopsji nerki.

Mimo, iż LN klasyfikuje się na podstawie zmian obecnych w kłębuszkach nerkowych, każdy opis biopsji nerki zawiera również informacje o patologii naczyń, cewek i śródmiaższu oraz stopień ich nasilenia<sup>26</sup>. Bardzo rzadko zdarza się zajęcie tkanki cewkowo-śródmiaższowej bez zmian w kłębuszkach nerkowych.

Tabela 1.4 Klasyfikacja nefropatii toczniowej według WHO (po modyfikacji w 1995)

Klasa I	<p>Prawidłowe kłębuszki</p> <p>a) obraz prawidłowy LM, IF, EM</p> <p>b) obraz prawidłowy LM, lecz złogi w IF lub EM</p>
Klasa II	<p>Czyste zmiany mezangialne (mezangiopatia)</p> <p>a) przyrost macierzy i/lub niewielki rozplem komórek mezangialnych (+)</p> <p>b) znaczny rozplem komórek mezangialnych (++)</p>
Klasa III	<p>Ogniskowe segmentalne kłębuszkowe zapalenie nerek (KZN) z obecnością niewielkich lub znacznych zmian w mezangium</p> <p>a) z aktywnymi zmianami martwiczymi</p> <p>b) ze zmianami aktywnymi i stwardnieniowymi</p> <p>c) ze zmianami stwardnieniowymi</p>
Klasa IV	<p>Rozlane rozplemowe KZN (nasilony rozplem wewnątrzwołniczkowy i mezangialny z/lub znaczne złogi podśróbłonkowe)</p> <p>a) bez zmian segmentalnych</p> <p>b) z aktywnymi zmianami martwiczymi</p> <p>c) zmiany aktywne i stwardnienie kłębuszków</p> <p>d) ze stwardnieniem kłębuszków</p>

Klasa V	Rozlane błoniaste KZN a) czyste błoniaste KZN b) obecne zmiany klasy II (a lub b) c) obecne zmiany klasy III (a do c) d) obecne zmiany klasy IV (a do d)
Klasa VI	Zaawansowane stwardnienie kłębuszków

Tabela 1.5. Klasyfikacja nefropatii toczniowej według ISN/RPS z 2004

Klasa I	Minimalne zmiany mezangialne Prawidłowe kłębuszki w LM Złogi mezangialne w IF
Klasa II	Mezangialne rozplemowe LN rozplem komórek mezangium różnego stopnia, przerost macierzy mezangialnej w LM ze złogi mezangialnymi w IF, pojedyncze złogi podśródbłonkowe lub podnabłonkowe, obecne w IF lub EM, lecz nie w LM
Klasa III	Ogniskowe LN aktywne (A) lub nieaktywne (C) ogniskowe, segmentalne (S) lub globalne (G) wewnątrz- lub zewnątrzwnościkowe KZN, zajmujące poniżej 50% kłębuszków, typowe złogi pośródbłonkowe ogniskowo, ze zmianami w mezangium, lub bez takich zmian III(A): zmiany aktywne: ogniskowe proliferacyjne III(A/C): zmiany aktywne (A) i przewlekłe (C): ogniskowe proliferacyjne i stwardnieniowe III(C): ogniskowe LN ze zmianami stwardnieniowymi (nieaktywnymi)
Klasa IV	Rozlane LN aktywne (A) lub nieaktywne, segmentalne (S) lub globalne (G), wewnątrz- lub zewnątrzwnościkowe KZN, zajmujące powyżej 50% kłębuszków, typowe rozlane złogi pośródbłonkowe, ze zmianami w mezangium, lub bez takich zmian IV-S(A): zmiany aktywne (rozlane segmentalne proliferacyjne LN) IV-G(A): zmiany aktywne (rozlane globalne proliferacyjne LN) IV-S(A/C): zmiany aktywne i przewlekłe (rozlane segmentalne proliferacyjne i stwardniające LN) IV-G(A/C): zmiany aktywne i przewlekłe (rozlane globalne proliferacyjne i stwardniające LN) IV-S(C): przewlekłe nieaktywne zmiany (rozlane segmentalne stwardniające LN) IV-G(C): przewlekłe zmiany nieaktywne (rozlane globalne stwardniające LN)
Klasa V	Błoniaste LN globalne lub segmentalne podnabłonkowe złogi immunoglobulin lub podobnej morfologii zmiany w LM, IF, EM ze zmianami w mezangium, lub bez takich zmian, klasa V może występować: - z towarzyszącymi zmianami klasy III lub IV - z zaawansowanym stwardnieniem kłębuszków
Klasa VI	Zaawansowane stwardnienie kłębuszków >90% kłębuszków globalnie stwardniałych, bez cech aktywności

Ponadto jako uzupełnienie klasyfikacji i oceny histopatologicznej Amerykański Narodowy Instytut Zdrowia (ang. National Instytut of Health, NIH) zaproponował system punktowy, uwzględniający parametry morfologiczne będące wskaźnikami aktywności i przewlekłości procesu chorobowego w nerkach<sup>28</sup>. Definicja zmian aktywnych i przewlekłych po raz pierwszy pojawiła się w pionierskiej pracy Poolacka i wsp. w 1964<sup>32</sup>. W 1976 Morel-Morgel i wsp. wprowadzili pojęcie indeksu (wskaźnika) aktywności i przewlekłości<sup>33</sup>. Indeks aktywności (ang. activity index, AI) (tabela 1.6) stanowi sumę punktów (od 0 do 24) przypisanych sześciu typom zmian aktywnych opisanych w materiale biopsyjnym (od 0 do 3 punktów za każdy typ zmian). Indeks przewlekłości (ang. chronicity index, CI) (tabela 1.7) stanowi sumę punktów (od 0 do 12) przypisanych czterem typom zmian przewlekłych opisanych w materiale biopsyjnym (0-3). Następujące wykładniki morfologiczne korelują z przebiegiem klinicznym i rokowaniem<sup>28</sup>:

- 1) Klasa III i IV LN
- 2) AI > 7 / 24 pkt
- 3) CI > 3 / 12 pkt
- 4) obecność półksiężyców i włóknienie tkanki śródmiąższowej
- 5) mikroangiopatia zakrzepowa

Tabela 1.6 Ocena indeksu aktywności w nefropatii toczniowej

AI (punkty)	0 - 24
rozplem wewnątrzwołniczkwy	0 - 3
nacieki leukocytarne	0 - 3
podśródbłonkowe złogi szkliste	0 - 3
martwica włóknikowata/ogniska karyorrhexis	0 - 3
półksiężyce komórkowe	0 - 3
zapalenie śródmiąższowe	0 - 3

Tabela 1.7 Ocena indeksu przewlekłości w nefropatii toczniowej

CI (punkty)	0 -12
stwardnienie kłębuszków	0 - 3
półksiężycy włókniste	0 - 3
zanik cewek	0 - 3
włóknienie śródmiąższowe	0 – 3

#### 1.4. Immunopatologia tocznia rumieniowatego układowego; wskaźniki istotne w monitorowaniu przebiegu tocznia rumieniowatego układowego i nefropatii toczniowej

Za opisane zmiany histopatologiczne w nerkach u pacjentów z SLE, jak również inne objawy choroby odpowiada wadliwy system immunologiczny chorego. SLE jest chorobą zapalną o podłożu autoimmunologicznym. Przyczyną schorzenia są zaburzenia funkcjonowania układu odpornościowego, charakteryzujące się nietolerancją własnych antygenów i wytwarzaniem przeciwko nim autoprzeciwciał. Powstające z udziałem autoprzeciwciał kompleksy immunologiczne odkładają się w tkankach i narządach, prowadząc do ich uszkodzenia. Autoprzeciwciała (opisano ponad 116 typów) stanowią centralny punkt w patogenezie SLE<sup>34</sup>. Są to autoprzeciwciała skierowane przeciwko antygenom jądra komórkowego, cytoplazmatycznym oraz błony komórkowej. Przeciwciała przeciwjądrowe to różnorodna grupa przeciwciał, do której należą między innymi przeciwciała skierowane przeciw jedno- i dwuniciowemu DNA, białkom histonów, centromerów, nukleosomom czy wyizolowanym antygenom jądrowym (Smith antygen, antygen Ro, antygen La, rybonukleoproteina - RNP i inne). ANA są obecne u ponad 95% pacjentów z aktywnym SLE. Przeciwciała te występują również w innych chorobach autoimmunologicznych, takich jak: twardzina układowa, zespół Sjögren'a czy autoimmunologiczne choroby wątroby. Mogą pojawiać się również w populacji osób zdrowych. ANA są autoprzeciwciałami reagującymi ze stałymi i rozpuszczalnymi (ENA – *Extractable Nuclear Antigen*) antygenami jądra komórkowego. Immunofluorescencja pośrednia jest najczęściej używaną metodą do ich oceny. Służy ona do określenia miana ANA oraz typu fluorescencji jąder komórkowych. Jako źródła antygenów używane są skrawki wątroby szczura, linia komórkowa HEp-2 (linia komórek raka krtani), HEp-2000, a

także antygeny pierwotniaka *Crithidium luciliae* oraz granulocyty obojętnochłonne. Wykorzystując linię komórkową HEP-2 można wyodrębnić pięć podstawowych typów fluorescencji jądra komórkowego: typ homogenny, obwodowy, jąderkowy, plamisty oraz centromerowy. Fluorescencję homogeną obserwuje się głównie u chorych na SLE, jąderkową u chorych na twardzinę układową, centromerową fluorescencję w zespole CREST (Calcinosis, Raynaud phenomenon, Esophagus, Sclerodactylia, Teleangiectasie). Jednak najczęściej stwierdzanym typem fluorescencji jest plamiste „świecenie” jąder komórkowych. Nie jest ono swoiste dla żadnej z układowych chorób tkanki łącznej, wykazuje jedynie obecność ANA. Ogromna różnorodność objawów klinicznych SLE, od łagodnej postaci zapalenia stawów, po zagrażające życiu zajęcie nerek czy centralnego układu nerwowego jest najprawdopodobniej powiązana z tak dużą liczbą możliwie obecnych autoprzeciwciał oraz możliwością ich współwystępowania u jednego pacjenta. Mimo iż o roli przeciwciał w patogenezie SLE wiadomo od ponad 60 lat, ciągle istnieje wiele niejasności w rozumieniu ich znaczenia w rozwoju choroby czy rokowaniu. Według licznych badań pc anty-dsDNA mogą być wykorzystane w monitorowaniu aktywności choroby oraz mogą wskazywać na uszkodzenie nerek i centralnego układu nerwowego. Pc anty-Sm są wysoko specyficzne dla SLE, ale występują tylko u 8-10 % chorych z SLE. Przeciwciała skierowane przeciw nukleosomom (pc p-nukleosomom) stanowią dobry wskaźnik prognostyczny w przypadku wystąpienia zaostrzenia choroby. Przeciwciała przeciw histonom (pc p-histonom) charakteryzują tocznia polekowego, a przeciwciała przeciw antygenowi Ro (pc p-Ro/SS-A ang. Sjögren Syndrome-A) i przeciwciała przeciw antygenowi La (pc p-La/SS-B ang. Sjögren Syndrome-B) są powiązane z wystąpieniem tocznia układowego noworodków. Szereg różnych przeciwciał, ogólnie nazywanych przeciwciałami antyfosfolipidowymi odpowiedzialne są za wystąpienie zespołu antyfosfolipidowego (ang. antiphospholipid syndrome, APS), z objawami np.: zaburzeń neuropsychiatrycznych czy incydentów naczyniowo-mózgowych. Według części doniesień pc anty-C1q powiązane są z uszkodzeniem kłębuszków nerkowych, a wzrost ich miana może poprzedzać zaostrzenie LN. Obecność przeciwciał przeciw rybosomalnemu białku P (pc p-rybosomalnemu białku P) wiąże się z zajęciem centralnego układu nerwowego, a

przeciwciała przeciw jądrowemu antygenowi proliferujących komórek (ang. antibodies against proliferating cell nuclear antigen, pc p-PCNA) obserwuje się u 5-10% chorych, głównie z zapaleniem stawów i hipokomplementemią<sup>35</sup>. Nadal pozostaje niepewnym, które z parametrów immunologicznych mogą brać udział w patogenezie LN, czy wyprzedzać jego zaostrzenie. Krótką charakterystykę przeciwciał mogących brać udział w patogenezie SLE i LN, zebraną na podstawie piśmiennictwa przedstawiono w tabeli 1.8<sup>35</sup>.

Tabela 1.8 Przeciwciała obecne w toczeniu rumieniowatym układowym i ich przydatność diagnostyczna

Przeciwciała	Cel reakcji	Przydatność diagnostyczna	Częstość występowania	Występowanie w innych chorobach niż SLE
ANA	jądro komórkowe	wysoka czułość, niska specyficzność	SLE 98% LN 100%	choroby wątroby, tarczycy, nowotwory złośliwe, przewlekłe infekcje, osoby starsze, reumatoidalne zapalenie stawów (RZS), zapalenie wielomięśniowe, zapalenie skórno-mięśniowe
Pc anti-dsDNA	podwójna nić DNA	wysoka czułość i specyficzność dla SLE koreluje z aktywnością choroby	SLE 70-98% LN 70%	RZS, HIV, infekcja parwowirusem B19, immunologiczne zapalenie wątroby typu I, szpiczak mnogi
Pc anti-Sm	Smith kompleks rybonukleinowy	niska czułość, wysoka specyficzność	SLE 20-40% LN 14%	wirus Ebsteina-Barr
Pc p-nukleosomom	nukleosom	wysoka czułość i specyficzność dla SLE, koreluje z aktywnością choroby	SLE 61-85% LN 60-90%	RZS, twardzina układowa, zespół suchości
Pc p- histonom	histony	IgM-niska IgG- wyższa	SLE 70% LN 37%	RZS, twardzina układowa, pierwotna marskość żółciowa, choroba Alzheimerera, demencja, infekcje
Pc p-SSA/Ro	Kompleks małocząsteczkowego RNA i dwóch białek o ciężarze cząsteczkowym 52 i 60 kDa	wysoka wartość prognostyczna dla SLE noworodków, u kobiet w ciąży	SLE 30% LN 31%	Twardzina układowa, pierwotna marskość żółciowa, RZS, zespół suchości, toczeń noworodków

Przeciwciała	Cel reakcji	Przydatność diagnostyczna	Częstość występowania	Występowanie w innych chorobach niż SLE
Pc p-SSB/La	Kompleks małocząsteczkowego RNA i dwóch białek o ciężarze cząsteczkowym 52 i 60 kDa	umiarkowana	SLE 10% LN 14%	zespół suchości
Pc p-rybosomalnemu białku P	rybosomalne białko P	umiarkowana	SLE 13-40% LN 6%	choroby wątroby, nowotwory złośliwe, RZS
aPL	fosfolipidy	wysoka przy podejrzeniu APS	SLE 30-40% LN 20-80%	inne choroby autoimmunologiczne, infekcje, nowotwory złośliwe, zaburzenia polekowe, RZS
Pc anty-C1q	C1q	niska, przydatne w monitorowaniu LN	SLE 17-46% LN 40-100%	przewlekła pokrzywka z zapaleniem naczyń i hipokomplementem, zespół Felty'ego, mieszana choroba tkanki łącznej, różne postacie KZN
przeciwciała przeciw natywnej rybonukleinie U1 (ang. antibodies against native ribonucleoprotein, p c p-nRNP/Sm)	Kompleks białek i małocząsteczkowy RNA o dużej zawartości urydyny	niejasna	SLE 20-30%	choroba Sharpa, RZS, zespół suchości, twardzina układowa, zapalenie wielomięśniowe
Pc p-PCNA	PCNA2	niska	SLE 5-10%	zapalenie wątroby typu B lub C

W ostatnich latach badań nad SLE na świecie postawiono szczególny nacisk na zrozumienie roli w patogenezie SLE i LN pc anty-dsDNA, anty-C1q oraz aPL. Wydaje się, że są to najlepiej jak dotąd poznane przeciwciała, a mimo to budzą wciąż wiele kontrowersji. Ich powiązanie z aktywnością choroby i zajęciem nerek pozostaje nadal niejasne, a wyniki badań z wielu ośrodków są sprzeczne.

#### 1.4.1. Przeciwciała anty-dsDNA

Pc anty-dsDNA skierowane są przeciwko DNA, należą do grupy przeciwciał mających duże znaczenie w diagnostyce chorób układowych. Wykonuje się oznaczenia przeciwciał przeciw natywnemu DNA (nDNA) i natywnemu dwuniciowemu DNA (dsDNA).



Pc anti-nDNA i pc anti-dsDNA uważane są za wskaźnik powikłań nerkowych SLE. Wiele badań jednak nie potwierdziło tej tezy, gdyż u 20-30% pacjentów z aktywnym LN przeciwciała te nie występują. W 2007 obchodzono 50 lat od odkrycia pc anti-dsDNA. Wraz z czynnikiem reumatoidalnym są one, jak dotąd najszerzej przebadanymi przeciwciałami w historii reumatologii<sup>36</sup>. Przeciwciała te są wysoko specyficzne dla SLE i występują u 70-98% chorych. Posiadają również znaczenie w monitorowaniu odpowiedzi na leczenie immunosupresyjne czy oceny remisji choroby<sup>36,37</sup>. Wystąpienie pc anti-dsDNA silnie wiąże się z zajęciem nerek u pacjentów z SLE. Według wielu (choć nie wszystkich) badań ich poziom koreluje z aktywnością choroby, a ich wzrost może wyprzedzać zaostrzenie procesu chorobowego<sup>38</sup>. Wykryto, iż przeciwciała te mogą być obecne w surowicy jeszcze przed wystąpieniem objawów SLE<sup>36,39</sup>. Wiele badań wskazuje na patogeniczną rolę tych przeciwciał w SLE. W szczególności wykazanie ich depozytów w wszystkich strukturach kłębuszków nerkowych oraz cewkach pacjentów z aktywnym LN wskazuje na ich rolę w patogenezie LN<sup>39</sup>. Ponadto, poprzez interakcję z toll-podobnym receptorem 9 (ang. toll-like receptor 9, TLR 9) pc anti-dsDNA, w kompleksie z DNA, mogą determinować aktywację komórek dendrytycznych, a w konsekwencji limfocytów B i T oraz uwolnienie cytokin prozapalnych<sup>39</sup>.

#### 1.4.2. Przeciwciała anti-C1q

Badania z ostatnich lat potwierdziły ważne znaczenie układu dopełniacza nie tylko w kształtowaniu odpowiedzi przeciwzakaźnej, ale również patogenezie chorób z autoagresji, zwłaszcza SLE. Rola układu dopełniacza może być rozpatrywana dwukierunkowo. Z jednej strony jego nadmierna aktywacja doprowadza do niekontrolowanego procesu zapalnego, podczas gdy z drugiej strony, niedobór jego składowych upośledza usuwanie kompleksów immunologicznych i komórek apoptotycznych<sup>40,41</sup>. Ten stan może zapoczątkować nadmierną produkcję autoprzeciwciał. Szczególną rolę w patofizjologii SLE odkrywa C1q, wytwarzana przez monocyty i makrofagi, która w połączeniu z C1r i C1s tworzy pierwszy składnik klasycznej drogi aktywacji układu dopełniacza. Odkryto, iż niedobór C1q wiąże się nie tylko z wystąpieniem

nawracających infekcji bakteryjnych i wirusowych, ale również predysponuje do rozwoju SLE lub zespołu toczniopodobnego<sup>42</sup>. Kolejnym etapem w zrozumieniu patofizjologii SLE było odkrycie, iż C1q może stanowić cel nieprawidłowej odpowiedzi immunologicznej, czego wyrazem jest powstawanie przeciwciał skierowanych przeciw C1q. Wrodzony niedobór C1q predysponuje do rozwoju SLE. Znacznie częściej jednak niedobór ten jest wtórny do obecnych, krążących autoprzeciwciał przeciw C1q.

Przeciwciała te poraz pierwszy opisał Uwatoko w 1984<sup>43</sup>. Częstość występowania ich u pacjentów z SLE waha się od 30 do 50%. W przypadku chorych z LN, według niektórych badań, może wynosić nawet 100%<sup>44-47</sup>. Przeciwciała te mogą być obecne w surowicy chorych z zespołem Felty'ego, z przewlekłą pokrzywką z zapaleniem naczyń i hipokomplementem, mieszaną chorobą tkanki łącznej oraz różnymi postaciami kłębuszkowych zapaleń nerek<sup>48</sup>. Mogą występować również w populacji osób zdrowych: od 4% w piątej do 15% w ósmej dekadzie życia<sup>45,49</sup>. Zdecydowanie rzadziej są wykrywane u dzieci, zarówno chorych na SLE, jak i zdrowych<sup>50</sup>. Według części badań stężenie tych przeciwciał w surowicy koreluje z aktywnością choroby oraz zajęciem nerek<sup>47,51</sup>. Wiele doniesień wykazało powiązanie podwyższonego poziomu pc anti-C1q z proliferacyjną formą LN<sup>47</sup>. Istnieją jednak prace, które nie potwierdziły takiej zależności. Poziom pc anti-C1q w grupie pacjentów z proliferacyjnym i nieproliferacyjnym LN był podobny<sup>42</sup>. Niektórzy badacze wykazali jedynie ich związek z aktywnością choroby, natomiast nie obserwowali zależności z wystąpieniem nefropatii.<sup>52</sup> Na chwilę obecną, opierając się na dostępnych wynikach badań można sugerować, iż wpływ podwyższonego poziomu pc anti-C1q na wystąpienie LN pozostaje nieznany i na pewno wymaga prowadzenia dalszych badań.

#### 1.4.3. Inne wskaźniki aktywności choroby

W ocenie aktywności immunologicznej SLE pomocne jest oznaczanie C3 i C4, jak również stężenia IgG, IgM, IgA. U zdecydowanej większości pacjentów z aktywną formą choroby układowej występuje hipokomplementemia, czyli obniżenie stężenia C3, rzadziej C4. Obniżenie stężenia tych białek w surowicy nie jest swoiste wyłącznie dla SLE, a może towarzyszyć innym chorobom przebiegającym z nadmierną aktywacją układu dopełniacza.

Samodzielne oznaczenia poziomu C3 i C4 nie jest wystarczającym markerem aktywności SLE i nie ma też swoistości narządowej. Wielu badaczy uważa, iż oznaczenie poziomu białek C3, C4, pc anti-dsDNA i anti-C1q jednocześnie może stanowić wiarygodną informację o aktualnej aktywności SLE u chorego<sup>53,54</sup>.

Dodatkowo, u chorych z LN może występować podwyższony poziom IgG (hipergammaglobulinemia), zazwyczaj obserwowany u chorych w momencie rozpoznania choroby układowej. Odmienny obraz można zaobserwować u pacjentów z nefropatią manifestującą się ZN. Poziom IgG w surowicy może być prawidłowy lub nawet obniżony, pomimo dużej aktywności immunologicznej i klinicznej SLE. Obniżone (poniżej zakresu wartości referencyjnych) stężenie IgG w surowicy obserwuje się typowo w LN z ZN opornym na leczenie immunosupresyjne. W tym przypadku niskie stężenie IgG w surowicy związane jest z ich utratą z moczem<sup>29,55</sup>.

#### 1.4.4. Przeciwciała antyfosfolipidowe

APS jest przewlekłą, autoimmunologiczną chorobą układową charakteryzującą się nawracającą zakrzepicą żylną i tętniczą, powikłaniami położniczymi oraz obecnością aPL. Pierwsze kryteria klasyfikacyjne APS, sformułowane przez grupę ekspertów w Sapporo, opublikowano w 1999<sup>56</sup>. Następnie w 2004 na konferencji w Sydney zostały one zrewidowane i ostatecznie opublikowane w 2006<sup>57</sup>. Objawy kliniczne uwzględnione w kryteriach klasyfikacyjnych APS nie obejmują zajęcia nerek, pomimo iż nefropatia w przebiegu APS była sygnalizowana przez Hughes'a już w pierwszych opisach choroby<sup>57,58</sup>. APL stanowią grupę przeciwciał skierowanych przeciwko kompleksom fosfolipidów błon komórkowych z białkami wiążącymi fosfolipidy. Do chwili obecnej wykryto kilkanaście rodzajów aPL nazywanych od rodzaju antygenu, dzięki któremu zostały wykryte. Są to: przeciwciała przeciw kardiolipinie (ACA), przeciwciała przeciw fosfatydyloserynie, przeciwko protrombinie, przeciwko  $\beta$ 2glikoproteinie-I i LA (zawdzięczający swoją nazwę paradoksalnie odmiennym właściwościom in vitro - wydłuża czas krzepnięcia)<sup>59</sup>. Nerki, jako narząd bardzo bogato unaczyniony, często zostają zajęte procesem chorobowym w przebiegu APS. Różne składowe unaczynienia nerek takie jak: tętnice nerkowe,

segmentalne, międzypłatowe, łukowate, międzypłacikowe, doprowadzające kłębuszków, włosniczki okołocewkowe, tętniczki odprowadzające nefronów, nerkowy układ żylny zostają zajęte przez proces chorobowy. Z tak różnej lokalizacji zmian w nerkach wynika również szeroki wachlarz manifestacji klinicznej ich zajęcia w przebiegu APS, od niewielkiego białkomoczu po zawał nerki z ostrą niewydolnością nerek<sup>58,59</sup>. Uthman i Khamashta na podstawie danych zawartych w piśmiennictwie na temat APS do 2005 zestawili objawy kliniczne kojarzone z zajęciem nerek w przebiegu APS. Analiza 12 opracowań doprowadziła do podziału na zespoły kliniczne zajęcia nerek w przebiegu APS. Na jej podstawie określono również najbardziej przydatne do ustalenia rozpoznania badania diagnostyczne<sup>60</sup>.

Wyodrębnione przez autorów 6 postaci klinicznych zajęcia nerek w przebiegu APS przedstawia tabela 1.9.

APS może mieć charakter choroby pierwotnej (primary APS - pAPS), jak również występować w skojarzeniu z innymi chorobami układowymi, najczęściej SLE - mówimy wtedy o wtórnym APS (secondary APS - sAPS)<sup>61</sup>. Ponieważ zajęcie nerek w przebiegu SLE należy do obrazu choroby podstawowej, w jakim stopniu aktywność nefropatii jest uzależniona od współistnienia sAPS czy wysokiego miana aPL nie jest jasne. APL wykrywa się u 1-5% zdrowych młodych ludzi, a częstość ich występowania wzrasta z wiekiem. Ich wykrycie wiąże się jednak z zwiększonym ryzykiem wystąpienia APS, a przy współistnieniu SLE towarzyszący APS rozwija się u 30-50%<sup>59</sup>.

Zmiany histopatologiczne w nerkach u chorych z APS nie różnią się od tych obserwowanych w innych procesach zakrzepowych. Wyróżnia się triadę objawów histopatologicznych: mikroangiopatia zakrzepowa w następstwie zakrzepicy w drobnych naczyniach, hiperplazja włóknista błony środkowej (ang. fibrous intimal hyperplasia, FIH) oraz zanik niedokrwienny kory nerki<sup>59</sup>. Fakhouri i wsp. wykazali obecność wszystkich typów kłębuszkowych zapaleń nerek od nefropatii zmian minimalnych (ang. minimal change nephropathy, MCN) poprzez zmiany błoniaste, ogniskowe szklawiejące jak i gwałtownie postępujące w LM u pacjentów z APS<sup>62</sup>. Należy podkreślić iż zarówno klasyfikacja histopatologiczna LN wg WHO, jak i nowsza ISN/RPS nie uwzględnia zmian

histopatologicznych występujących w przebiegu sAPS. Nadal w strefie badań pozostaje odpowiedź na pytanie, czy zwiększone miano aPL bez pozanerkowych objawów zakrzepicy ma związek z rozwojem nefropatii lub cięższym jej przebiegiem. Z danych z piśmiennictwa wynika jednak, że chorzy na SLE z obecnymi aPL mają cięższy przebieg choroby nerek i szybciej dochodzi u nich do progresji w kierunku niewydolności nerek<sup>62-64</sup>.

Tabela 1.9 Postacie kliniczne zajęcia nerek w zespole antyfosfolipidowym

postać kliniczna	manifestacja kliniczna, zmiany morfologiczne, badania diagnostyczne
zajęcie tętnic nerkowych	nadciśnienie tętnicze, obniżenie GFR. <b>Zmiany morfologiczne:</b> może przebiegać jako zwężenie proksymalnej bądź dystalnej części tętnicy nerkowej. <b>Badania diagnostyczne:</b> angiografia wykonana metodą rezonansu magnetycznego i badania ultrasonograficzne. Skuteczne leczenie przeciwkrzepliwie może doprowadzić do cofania się zmian i znacznego złagodzenia nadciśnienia tętniczego towarzyszącego zwężeniu
nadciśnienie tętnicze	nadciśnienie tętnicze, obniżenie GFR; <b>Zmiany morfologiczne:</b> miażdżyca tętnic, FIH, włókniste i włóknisto-komórkowe zamykanie ściany tętnic. <b>Badania diagnostyczne:</b> ultrasonografia, angiografia metodą rezonansu magnetycznego
nefropatia APS	nadciśnienie tętnicze, białkomocz, krwinkomocz, obniżenie GFR; <b>Zmiany morfologiczne:</b> ogniskowe lub rozlane zmiany mikroangiopatyczne obejmujące całe unaczynienie nerek łącznie z kłębuszkami. <b>Badania diagnostyczne:</b> biopsja nerki
zakrzepica żył nerkowych	białkomocz, krwinkomocz; <b>Zmiany morfologiczne:</b> zakrzepica. <b>Badania diagnostyczne:</b> badanie ultrasonograficzne metodą Dopplera, tomografia komputerowa, wenografia nerkowa
schyłkowa niewydolność nerek i transplantacja nerki	pogorszenie GFR; <b>Zmiany morfologiczne:</b> zakrzepica. <b>Badania diagnostyczne:</b> ultrasonografia, angiografia metodą rezonansu magnetycznego
APS i LN	białkomocz, krwinkomocz, zmniejszenie GFR; <b>Zmiany morfologiczne:</b> ogniskowe lub rozlane zmiany o charakterze mikroangiopatii. <b>Badania diagnostyczne:</b> biopsja nerki

## 1.5 Postacie nefropatii spoza klasyfikacji ISN/RPS obserwowane u chorych z toczniem rumieniowatym układowym

W literaturze opisuje się współistnienie u pacjentów z rozpoznaniem SLE innych nefropatii, nie uwzględnionych przez klasyfikację ISN/RPS. Należą do nich: zmiany w przebiegu amyloidozy (najczęściej opisywane), ogniskowe/segmentalne stwardnienie kłębuszków nerkowych (focal/segmental glomerulosclerosis, FSGS), MCN (submikroskopowe KZN), nefropatia IgA, nefropatie związane z chorobami zakaźnymi (HBV, HCV, HIV) czy cewkowo-śródmiąższowe zapalenie nerek. Biopsja nerki jest koniecznym narzędziem służącym do rozpoznawania typu nefropatii w przebiegu SLE.

W literaturze z ostatnich lat stosunkowo często pojawia się pojęcie podocytopatii toczniowej (lupus podocytopathy). Dotyczy ona chorych z rozpoznaniem SLE, u których w biopsji nerki w IF nie obserwuje się typowych dla LN złogów kompleksów immunologicznych, natomiast w ME opisuje się spłaszczenie wypustek stopowatych podocytów. Klinicznie najczęściej występuje ZN, a charakterystyczna jest dobra reakcja na leczenie steroidami. Zmiany tego typu występują łącznie ze zmianami klasy II, wyjątkowo klasy I LN.<sup>65,66</sup> Ponadto wg danych z piśmiennictwa glomerulopatia typu zmian minimalnych stanowi < 2% rozpoznań histopatologicznych u pacjentów z SLE. W związku z faktem, że coraz częściej pojawiają się publikacje naukowe, opisujące nefropatię w przebiegu SLE z obrazem morfologicznym idiopatycznego submikroskopowego kłębuszkowego zapalenia nerek, postuluje się o włączenie tej podocytopatii do klasyfikacji zmian nerkowych w SLE.

Klasyfikacja zmian morfologicznych w LN, jak wspomniano powyżej, była poddawana wielu modyfikacjom. Ze względu rokrocznie poszerzaną wiedzę na temat możliwości występowania różnych zmian morfologicznych w przebiegu LN, obecna klasyfikacja nie satysfakcjonuje wielu nefrologów czy patonefrologów. Jak dotąd nie udało się stworzyć klasyfikacji, która obejmowałaby wszystkie zmiany morfologiczne, które mogą występować w nerce w przebiegu SLE.

## 2. CEL

Celem głównym podjętych badań było poszukiwanie zależności pomiędzy obrazem morfologicznym biopsji nerki u pacjentów z rozpoznaniem LN a stanem immunologicznym badanych w momencie jej wykonywania.

Cele szczegółowe obejmowały:

- analizę szczegółową obrazu morfologicznego biopsji nerki u pacjentów z LN
- analizę szczegółową wyników badań immunologicznych pacjentów z LN w momencie wykonania biopsji nerki
- poszukiwanie zależności pomiędzy wybranymi parametrami biochemicznymi i immunologicznymi a zmianami morfologicznymi występującymi w biopsji nerki w badanej grupie chorych

### 3. MATERIAŁ I METODY

#### 3.1. Materiał kliniczny

Materiał kliniczny stanowiła grupa 37 chorych z rozpoznaną nefropatią w przebiegu SLE, u których wykonano biopsję nerki w latach 2009-2015 w Klinice Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. W badanej grupie było 29 kobiet i 8 mężczyzn w wieku od 18 do 66 lat, średni wiek wynosił  $35,43 \pm 11,22$  lat. U wszystkich badanych stwierdzono obecność co najmniej czterech z jedenastu kryteriów rozpoznania SLE według *American College of Rheumatology* (tabela 1.1).

Rozpoznanie LN postawiono na podstawie obecności zmian w moczu: wielkość DWB powyżej 0,5 g na dobę i/lub erytrocyturii powyżej 5 erytrocytów wpw w badaniu osadu moczu. W badanej grupie wyróżniono kilka wskazań do przeprowadzenia zabiegu biopsji nerki. U 23 pacjentów wykonano ją w okresie pojawienia się zmian w moczu, zatem była to biopsja diagnostyczna, potwierdzająca rozpoznanie glomerulopatii. W 3 przypadkach biopsję wykonano po kilku latach leczenia i w zależności od uzyskanego wyniku, podejmowano decyzję o ewentualnej modyfikacji terapii immunosupresyjnej LN. Natomiast u 13 pacjentów biopsję wykonano z powodu kolejnego nawrotu nefropatii. W przypadku 7 badanych była to kolejna (zwykle druga) biopsja nerki wykonana w okresie obserwacji klinicznej nefropatii. Charakterystykę badanych pacjentów z rozpoznaniem LN przed wykonaniem biopsji nerki przedstawiono w tabeli 3.1. Wielkość białkomoczu dobowego w badanej grupie zawierała się pomiędzy 0,28 g/dobę a 12,6 g/dobę, średnio wynosiła  $3,59 \pm 3,06$  g/dobę. U 14 (37,8%) chorych rozpoznano ZN. Erytrocyturia (powyżej 5 erytrocytów wpw) występowała u 26 chorych - 70,3%. Dodatkowo u 10 (27,0%) badanych stwierdzono podwyższone stężenie kreatyniny powyżej 1,2 mg/dl, w tym u 4 (10,8%) chorych wynosiło ono powyżej 3 mg/dl. Średni czas trwania SLE wynosił  $7,6 \pm 6,9$  lata, natomiast średni czas trwania nefropatii  $5,9 \pm 6,3$  lata.



Tabela 3.1 Charakterystyka badanych pacjentów w momencie wykonania biopsji nerki

Liczba badanych	37 pacjentów
Płeć: kobiety / mężczyźni	29/8
Wiek (lata): średnia $\pm$ SD	35,4 $\pm$ 11,2
Zakres (lata)	18 - 66
Białkomocz:	
Nerczycowy	14 pacjentów
Nienerczycowy	23 pacjentów
DWB (g/24h): średnia $\pm$ SD	3,59 $\pm$ 3,06
Zakres (g/24h)	0,28 - 12,6
Erytrocyturia > 5 wpw	26
Zakresy:	
4 - 10	12
11 - 15	5
16 - 25	3
pokrywające pole widzenia (ppw)	6
Kreatynina w surowicy (mg/dl):	
$\leq$ 1,2	27 pacjentów
1,3 – 3,0	6 pacjentów
>3,0	4 pacjentów
Wskazania do biopsji nerki:	
Rozpoznanie nefropatii (biopsja diagnostyczna)	21
Nawrót nefropatii	13
Zmiana leczenia immunosupresyjnego	3
Przebieg choroby:	
Nefropatia od początku rozpoznania SLE	26
Zespół nerczycowy jako pierwszy objaw nefropatii	16
Leczenie immunosupresyjne w przeszłości:	
Steroidy	28
Cyklofosfamid	17
Azatiopryna	8
Mykofenolan mofetilu	8
Czas trwania SLE (lata): średnia $\pm$ SD	7,6 $\pm$ 6,9
Czas trwania LN (lata): średnia $\pm$ SD	5,9 $\pm$ 6,3

### 3.2. Badanie histopatologiczne bioptatu nerki

Biopsję nerki przeprowadzano po uzyskaniu pisemnej zgody od każdego pacjenta. Materiał diagnostyczny pobierano za pomocą gruboigłowej biopsji przezskórnej (lewej nerki) wykonanej pod kontrolą ultrasonograficzną i w znieczuleniu miejscowym 1% roztworem lignokainy. Zabieg diagnostyczny biopsji nerki wykonywał doświadczony

specjalista nefrolog. Pobierano dwa fragmenty nerki, z których jeden przeznaczony był do badania w LM, a drugi do oceny immunomorfologicznej i badania w EM. Materiał był utrwalany w roztworze formaliny, a następnie przesyłany do Instytutu Transplantologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Wszystkie etapy badania histopatologicznego wykonane były przez dr hab. n. med. Agnieszkę Perkowską-Ptasińską. Na wynik badania składała się ocena materiału w LM i IF. Celem dokładniejszej oceny morfologicznej zmian w biopsji nerki, w przypadku 12 chorych rozszerzono o badanie w EM.

Do oceny w LM przeprowadzono następujące barwienia histochemiczne:

1. Barwienie hematoksyliną i eozyną (H&E, barwienie przeglądowe).
2. Barwienie wg metody trójbarwnej Masson'a pozwalające na wybiórczą ocenę ognisk stwardnienia kłębuszków i włóknienia śródmiąższowego, obecności skrzeplin i martwicy włóknikowatej.
3. Srebrzenie wg metody Jones'a pozwalające na ocenę błon podstawnych, naczyń, ognisk stwardnienia w kłębuszkach.
4. Odczyn PAS (*Periodic Acid Schiff*) umożliwiający ocenę błon podstawnych, terenu mezangium i naczyń.
5. Barwienie czerwienią Kongo na amyloid i ocena w świetle spolaryzowanym.
6. Barwienie AFOG (*Acid fuchsin orange G*) umożliwiający ocenę kompleksów immunologicznych, które barwią się na kolor czerwony. Ocena immunomorfologiczna obejmowała wykonanie odczynów z przeciwciałami skierowanymi przeciwko IgA, IgG, IgM, C3, C1q, fibrynogenowi, łańcuchom lekkim lambda i kappa.

Badanie immunomorfologiczne obejmowało ocenę jakościową oraz półilościową natężenia świecenia w skali od 0 do +3. W przypadku zaistnienia wątpliwości kierowano materiał biopsyjny na badanie w EM. Decyzję podejmował opisujący biopsję patolog. Rozpoznanie klasy LN postawiono w oparciu o klasyfikację ISN/RPS z 2004 (tabela 1.5). Ponadto w każdym badaniu wyliczono AI i CI na podstawie systemu punktowego stworzonego przez NIH (tabela 1.6 i 1.7).

### 3.3. Metody laboratoryjne

U wszystkich chorych w momencie przeprowadzenia zabiegu biopsji nerki wykonywano następujące badania:

1. Morfologia krwi obwodowej - badanie wykonano przy pomocy automatycznego analizatora hematologicznego (Sysmex XE-2100). Spośród wszystkich parametrów morfotycznych krwi do badania wykorzystano: oznaczenie stężenia hemoglobiny, wielkości hematokrytu oraz liczbę krwinek białych, neutrocytów i limfocytów.

2. Oznaczenie stężenia kreatyniny w surowicy wykonano metodą immunoenzymatyczną na analizatorze ARCHITECT c system - test MULTIGENT creatinine (enzymatic), (Creatinine, REF 8L24-31 oraz 8L 24-41, Abbott Clinical Chemistry).

3. Wielkość filtracji kłębuszkowej (eGFR, ang. estimated glomerular filtration rate) oceniano według uproszczonej wersji wzoru MDRD (Modification of Diet in Renal Disease Study):  
 $GFR (ml/min/1,73m^2) = 186,3 \times Cr^{-0,14} [mg/dl] \times \text{wiek}^{-0,203} [lata] \times 0,742$  (kobiety)  $\times 1,21$  (rasa czarna) oraz CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration):

$$GFR (ml/min/1,73m^2) = a \times (Cr[mg/dl]/b)^c \times (0,993)^{\text{wiek}}$$

a – 144 (dla kobiet) lub 141 (dla mężczyzn),

b – 0,7 (dla kobiet) lub 0,9 (dla mężczyzn),

c – –0,329 (jeśli kobieta ma Cr 0,7 mg/dl) lub –1,209 (jeśli kobieta ma Cr > 0,7 mg/dl), lub –0,411 (jeśli mężczyzna ma Cr 0,9 mg/dl), lub –1,209 (jeśli mężczyzna ma Cr > 0,9 md/dl).

4. Badanie ogólne moczu wraz z oceną osadu moczu wykonano z pierwszej porcji rannego moczu, przy użyciu pasków do analizy moczu (ichem Velocity, ichem 10 SG) oraz za pomocą analizatora: badanie ogólne moczu - ichem velocity firmy IRIS, osad moczu - IQ Elite 200 firmy IRIS.

Pomiar liczby erytrocytów w osadzie moczu jest badaniem półilościowym, a wynik podaje się jako zakres liczby erytrocytów w polu widzenia. Uzyskane wyniki nie mają charakteru zależności liniowych. Zatem zaproponowano punktowy wskaźnik Ecyt (tabela 3.2). Poszczególnym zakresom liczby erytrocytów w polu widzenia przypisano wartości liczbowe. Umożliwiło to opracowanie wyników badań.

Tabela 3.2 Ocena punktowa wielkości erytrocyturii

Zakres erytrocyturii (liczba wpp)	wskaźnik Ecyt (punkty)
0 - 3	0
4 - 10	0,5
11 - 15	1
16 - 25	2
ppw	3

5. Oznaczenie stężenie białka całkowitego wykonano metodą biuretową na analizatorach ARCHITECT c system oraz AEROSET (Total Protein, REF 7D73-21, Abbott Clinical Chemistry).

6. Stężenie albuminy w surowicy - metodą z użyciem purpury bromokrezolowej na analizatorach ARCHITECT c system oraz AEROSET (Albumin BCP, REF 7D54-21, Abbott Clinical Chemistry).

7. Oznaczenie stężenia cholesterolu całkowitego wykonano przy użyciu metody immunoenzymatycznej na analizatorach ARCHITECT c system oraz AEROSET (Cholesterol, REF7D62-21, Abbott Clinical Chemistry).

8. Oznaczenie trójglicerydów – wykonano metodą z wykorzystaniem oksydazy glicerolofosforanu na analizatorach ARCHITECT c system oraz AEROSET (Triglyceride, REF 7D74-21, Abbott Clinical Chemistry).

9. Oznaczenie C3 i C4 wykonano przy użyciu metody immunonefelometrycznej (N Antisera to Human Complement Factors C3, C4, Siemens).

10. Oznaczenie stężenia immunoglobulin wykonano metodą immunoturbidometryczną na analizatorach ARCHITECT c system oraz AEROSET (Immunoglobulin A REF 9D98-21, Immunoglobulin G REF 9D99-21, Immunoglobulin M REF 1E01-21, Abbott Clinical Chemistry).

11. Oznaczenie ANA wykonano metodą immunofluorescencji pośredniej używając jako

substratu antygenowego komórek Hep-2 (ANA Hep-2) HEP-2010 (EUROIMMUN).

12. Oznaczenie pc anty-dsDNA wykonano metodą ELISA:

- 2009-22.9.2014 dsDNA EUROIMMUN EA 1571-9601G
- od 22.9.2014 dsDNA+nukleosomy EUROIMMUN EA 1572-9601G

13. Pc p-kardiolipinie w klasie IgG i IgM oceniano przy użyciu metody ELISA

- 2009- 3.2011 IgG - QUANTA Life ACH IgG 708625, IgM QUANTA Life ACH IgM 708630
- 3.2011- 9.2014 EUROIMMUN IgG: EA 1621-9601G, IgM: EA 1621-9601M
- od 9.2014 ORGANTEC IgG/IgM - ORG 515

14. Oznaczenie pc anty-C1q wykonano metodą ELISA, ORGANTEC ORG 549.

15. Oznaczenie KKI-C1q i KKI-C3d – stosowano również metodę ELISA: test wiązania C1q i CIC C3d:

- 2009-6.2013 C3d - Human, C1q - EUROIMMUN
- od 6.2013 - NOVATEC; C3d: NT-DNOV094, C1q: NT-DNOV093

Badania zostały wykonane w Laboratorium Centralnym oraz w Laboratorium Immunologii Klinicznej, Transplantacyjnej i Hematologii Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego w Gdańsku.

### 3.4. Metody statystyczne

Wszystkie obliczenia statystyczne zostały przeprowadzone przy użyciu pakietu statystycznego StatSoft. Inc. (2014). STATISTICA (data analysis software system) version 12.0. ([www.statsoft.com](http://www.statsoft.com)) oraz arkusza kalkulacyjnego Excel.

Zmienne ilościowe zostały scharakteryzowane za pomocą średniej arytmetycznej, odchylenia standardowego, wartości minimalnej i maksymalnej (zakres) oraz 95% CI (przedział ufności).

Znamienność statystyczną w przypadku porównywania dwóch rozkładów wyliczano posługując się parametrycznym testem t-Studenta albo nieparametrycznym testem U (Mann-Whitney'a). Istotność różnic pomiędzy więcej niż dwoma rozkładami sprawdzono testem F (ANOVA) lub Kruskal- Wallis'a ( w przypadku niespełnienia warunków stosowalności ANOVA). W celu stwierdzenia zależności pomiędzy dwoma zmiennymi zastosowano analizę korelacji, obliczając współczynnik korelacji r Spearman'a.

We wszystkich obliczeniach za poziom istotności przyjęto  $p = 0,05$ .

## 4. WYNIKI

### 4.1. Parametry biochemiczne i immunologiczne w badanej grupie pacjentów w momencie wykonania biopsji nerki

#### 4.1.1. Wyniki badań laboratoryjnych

W badanej grupie chorych w momencie wykonania badania biopsyjnego nerki średnia wartość stężenia kreatyniny wynosiła 1,3 ( $\pm$  0,9) mg/dl (zakres: 0,6 - 4,0), a średnia wartość klirensu kreatyniny szacowała się w zależności od użytego wzoru: dla CKD-EPI 76,8 ( $\pm$  32,2) ml/min/1,73m<sup>2</sup> (zakres: 12,9 - 129,0), dla MDRD 73,1( $\pm$  31,9) ml/min/1,73m<sup>2</sup> (zakres: 12,9 - 140,9). W badanej grupie stwierdzano niedokrwistość ze średnim poziomem hemoglobiny 11,4 ( $\pm$  1,8) g/dl (zakres: 7,7 - 14,9) i hematokrytu 34,5 ( $\pm$  5,3)% (zakres: 23,0 - 44,0), nieznaczną limfopenię oraz obniżone stężenie białka całkowitego i albuminy w surowicy, a podwyższone stężenie cholesterolu całkowitego i trójglicerydów. Zarówno średnia liczba płytek krwi czy leukocytów i granulocytów pozostawały w zakresie wartości referencyjnych (tabela 4.1).

Tabela 4.1 Wyniki badań laboratoryjnych w momencie wykonania biopsji nerki

Parametr	Jednostka	Średnia $\pm$ SD
Hemoglobina we krwi	g/dl	11,4 $\pm$ 1,8
Hematokryt	%	34,5 $\pm$ 5,3
Leukocytoza we krwi	G/l	8,3 $\pm$ 3,7
Neutrofile we krwi	G/l	6,5 $\pm$ 3,4
Limfocyty we krwi	G/l	1,2 $\pm$ 1,1
Płytki we krwi	G/l	228,0 $\pm$ 77,6
Białko całkowite w surowicy	g/l	59,0 $\pm$ 12,7
Albumina w surowicy	g/l	28,1 $\pm$ 6,9
Cholesterol w surowicy	mg/dl	273,8 $\pm$ 74,6
Trójglicerydy w surowicy	mg/dl	197,5 $\pm$ 73,8
Kreatynina	mg/dl	1,3 $\pm$ 0,9

Parametr	Jednostka	Średnia ± SD
GFR	ml/min/1,73m <sup>2</sup>	CKD-EPI 76,8 ± 32,2 MDRD 73,1 ± 31,9
DWB	g/24h	3,6 ± 3,1
Ecyt	punkty	0,9 ± 1,1

#### 4.1.2. Wyniki badań immunologicznych

U wszystkich badanych obserwowano podwyższone miano ANA Hep-2 (tabela 4.2). U 30 (81,1%) badanych stwierdzono występowanie dodatnich pc anty-dsDNA, a u 24 (64,9%) pc anty-C1q. Podwyższone miano ACA w klasie IgM obserwowano u 16,2% chorych, natomiast w klasie IgG u 21,6% pacjentów. W zdecydowanej większości badanych - 83,8% występowało obniżone C3, u 64,9% C4. Średnia wartość stężenia C3 wynosiła 0,6 (± 0,3) g/l (zakres: 0,1 - 1,5), a C4 0,1 (± 0,1) g/l (zakres: 0,0 - 0,3). W przypadku 16,2% chorych zaobserwowano obniżone stężenie IgG w surowicy, natomiast u 10,8% pacjentów to stężenie było podwyższone. Mimo to średnie wartości stężenia IgG, IgA oraz IgM pozostawały w zakresie wartości referencyjnych. Podwyższone stężenie krążących kompleksów immunologicznych (KKI) obserwowano zdecydowanie rzadziej: KKI-C1q u 8 (21,6%) a KKI-C3d u 7 (18,9%) badanych.

Tabela 4.2 Wyniki badań immunologicznych w momencie wykonania biopsji nerki

Parametr	Liczba badanych (%)
ANA Hep-2 (≥ 1 : 80)	37 (100,0%)
Przeciwciała anty-C1q	24 (64,9%)
Przeciwciała anty-dsDNA (> 100 IU/ml)	30 (81,1%)
aPL	
IgM	6 (16,2%)
IgG	8 (21,6%)



Parametr	Liczba badanych (%)
C3 (g/l)	średnia ± SD 0,6 ± 0,3 obniżenie stężenia: 31 pacjentów (83,8%)
C4 (g/l)	średnia ± SD 0,1 ± 0,1 obniżenie stężenia: 24 pacjentów (64,9%)
IgG (g/l)	średnia ± SD 10,4 ± 6,2 obniżenie stężenia: 6 pacjentów (16,2%) podwyższenie stężenia: 4 pacjentów (10,8%)
IgA (g/l)	2,4 ± 0,8
IgM (g/l)	0,9 ± 0,6
KKI-C1q	podwyższone stężenie: 8 (21,6%)
KKI-C3d	podwyższone stężenie: 7 (18,9%)

## 4.2. Obraz histopatologiczny biopsji nerki

### 4.2.1. Rozpoznanie klasy nefropatii toczniowej wg ISN/RPS

Przedstawiony materiał biopsji nerki pacjentów z LN stanowił bardzo różnorodną grupę reprezentującą klasy III i IV, z albo bez współistnienia klasy V zgodnie z klasyfikacją ISN/RPS (tabela 4.3). Najczęściej występowały zmiany rozpoznawane jako klasa IV LN - 23 pacjentów ( 62,2% ), z następującym podziałem na podklasy: IV-S (A) - 3 pacjentów (8%), IV-S (A/C) - 6 pacjentów (16,2%), IV-G (A) - 2 pacjentów (5,4%) i IV-G (A/C) - 12 pacjentów (32,4%). W przypadku 4 chorych (10,8%) zdiagnozowano klasę III, w tym u 2 chorych (5,4%) była to klasa III (A) i u 2 (5,4%) klasa III (A/C). U 5 badanych (13,5%) obserwowano współistnienie klasy IV i V z następującym podziałem na podklasy: IV-S (A/C) + V – 1 chory (2,7%), IV-G (A/C) + V – 3 chorych (8,1%), IV-G (A) + V - 1 chory (2,7%). U 4 pacjentów (10,8%) opisano współistnienie klasy III + V, w tym u 1 – klasę III

(A) + V (2,7%) i u 3 – III (A/C) + V (8,1%). W przypadku 1 pacjentki postawiono rozpoznanie nefropatii IgA (tabela 4.4). U żadnego z chorych nie stwierdzono zmian typowych dla klasy I albo II czy, tzw. „czystej” klasy V.

Tabela 4.3 Wyniki badania biopsyjnego nerki

Klasa LN (ISN/RPS)	Liczba badanych n=37	Rozpoznanie szczegółowe	
I	0		
II	0		
III	4	III (A)	2
		III (A/C)	2
IV	23	IV-S (A)	3
		IV-S (A/C)	6
		IV-G (A)	2
		IV-G (A/C)	12
III + V	4	III (A) + V	1
		III (A/C) + V	3
IV + V	5	IV-S (A/C) + V	1
		IV-G (A/C) + V	3
		IV-G (A) + V	1
inne	1	Nefropatia IgA	1

Tabela 4.4 Charakterystyka pacjenta z rozpoznaniem nefropatii IgA w biopsji nerki

Inicjały wiek płeć	Obraz kliniczny	Badania laboratoryjne	Obraz IF złogi/lokalizacja	Obraz LM
KJ 30 lat kobieta	Obrzęki kończyn dolnych, artralgia, RR 130/80 Leki: cilazapril 2,5mg/dobę, prednizon 5mg/dobę	DWB 4,42 g/24h Kreatynina 0,95 mg/dl eGFR >60 ml/min osad: eryocyty 11-15 wpw pc anti-dsDNA (-), pc anti-C1q (-), ANA Hep-2 (miano- 1:2560)	IgA +++ / mezangium IgM + / kapilary IgG brak C3 +++ / mezangium łańcuchy lekkie immunoglobulin λ i κ +++ / mezangium C1q + / kapilary	2 kłębuszki stwardniałe, w 4 odcinkowe twardnienie pętli naczyniowych, w 1 segmentalny półksiężyc włóknisty, miernego stopnia ogniskowe, segmentalne poszerzenie mezangium – przybytek macierzy i komórek w tym rejonie

#### 4.2.2. Obraz morfologiczny biopsji nerki: zmiany kłębuszkowe

We wszystkich biopsjach nerki zaobserwowano bardzo różnorodne zmiany morfologiczne w kłębuszkach nerkowych (Tabela 4.5). Typowo dla obrazu LN dominowały zmiany mezangialne, zarówno pod postacią proliferacji komórek mezangialnych jak i przybytku macierzy mezangialnej – występowały odpowiednio u 27 (73,0%) i 24 (64,9%) pacjentów. W grupie 20 (54,1%) badanych opisano zmiany błoniaste, pod postacią zdwojenia okonturowania błony podstawnej kapilar, zdecydowanie częściej występowały zmiany ogniskowe (18 chorych) niż rozlane (2 chorych). U 12 chorych (32,4%) opisano obecność złogów podnabłonkowych. Obecność złogów kompleksów immunologicznych zlokalizowanych podśródbłonkowo, charakterystycznych dla aktywnej postaci LN, opisano u 16 (43,2%) pacjentów. Ten typ zmian nie zawsze udaje się zauważyć w materiale biopsyjnym. W przypadku opisywanych biopsji nerki złogi podśródbłonkowe stwierdzono po wybarwieniu AFOG (6 pacjentów) albo w mikroskopie elektronowym (10 pacjentów). Stosunkowo często w materiale biopsyjnym obserwowano występowanie półksiężyców, dominowały półksiężyce komórkowe - 21 biopsji (56,8%), najczęściej występujące pojedynczo – 19 biopsji, tylko w 2 przypadkach uwidoczniono liczne – obecne w ponad 30 % kłębuszków danej biopsji nerki. Obecność innych zmian aktywnych w biopsji, jak np. nacieki komórkowe w świetle kapilar stwierdzano u 10 badanych (27%), a u 13 (35,1%) chorych obserwowano ogniska rozpadu jąder komórkowych (*karyorrhesis*).

Zmiany przewlekłe były obecne w biopsji nerki większości badanych pacjentów, ale najczęściej były to zmiany w postaci pojedynczych, całkowicie (31 pacjentów), bądź częściowo stwardniałych kłębuszków (26 pacjentów). W 20 (54%) biopsjach nerki opisano obecność półksiężyców komórkowo-włóknistych i włóknistych. W przypadku 6 (16%) badanych występowały one w ponad 30% kłębuszków. Obecność odcinkowego pogrubienia torebki Bowmana stwierdzano w grupie 33 badanych (89,2%).

Tabela 4.5 Morfologia zmian kłębuszkowych w biopsji nerek w badanej grupie

Typ zmian	Morfologia zmian	Ilościowe zmiany w kłębuszkach	Liczba chorych n=37
Mezangialne	Proliferacja komórek mezangialnych	Rozlane 18 Ogniskowe 9	27
	Przybytek macierzy mezangialnej	Rozlane 16 Ogniskowe 8	24
Błoniaste	Zdwojenie okonturowania błony podstawnej kapilar	Rozlane 2 Ogniskowe 18	20
	Obecność złogów podnabłonkowych		12
Półksiężycy	Komórkowe	Pojedyncze 19 Liczne* 2	21
	Włóknisto-komórkowe, włókniste	Pojedyncze 14 Liczne* 6	20
Twardnienie kłębuszka	całego	Pojedyncze 28 Liczne* 3	31
	segmentalnie	Pojedyncze 21 Liczne* 5	26
Złogi podśródbłonkowe	Barwienie AFOG	6	16
	uwidocznione w ME odcinkowe włókniste	10	
Torebka Bowmana	pogrubienie	części kłębuszków	33
Zwiększenie komórkowości części kapilar		18	
<i>karyorrhexis</i>		13	
Obecność komórek w świetle kapilar		10	

\*dotyczy ponad 30% kłębuszków w biopsji nerki

#### 4.2.3. Obraz morfologiczny biopsji nerki: zmiany śródmiąższowe i naczyniowe

Dość powszechnie obserwowano zmiany śródmiąższowe pod postacią ogniskowego nacieku z komórek zapalnych (31; 84%) oraz ognisk włóknienia zrębu (28; 76%) (tabela 4.6). Ogniskowy zanik cewek nerkowych opisano u 27 (73%) chorych. Powszechnie też obserwowane były zmiany degeneracyjne nabłonka cewek: obrzmienie cytoplazmy (30 biopsji; 81%) rzadziej wakuolizację nabłonka cewek (2 biopsje). Dodatkowo w badaniu biopsyjnym nerki obecne były zmiany naczyniowe: redukcję światła tętnic stwierdzano u 23 chorych (62%), natomiast u 5 pacjentów (14%) opisano szklwienie arterioli.

Tabela 4.6 Morfologia zmian śródmiąższowych i naczyniowych w biopsji nerek w badanej grupie

Typ zmian	Opis morfologiczny zmian	Ilościowe zmiany w kłębuszkach	Liczba chorych n=37
Śródmiąższowe	naciek z komórek zapalnych	drobne ogniska 19 miernie rozległy 9 umiarkowanie rozległy 3	31
	włóknienie zrębu	śladowe 13 miernie rozległe 11 umiarkowanie rozległe 4	28
Cewki	ogniska zaniku cewek	27	27
	obrzemie cytoplazmy nabłonka cewek	30	30
	wakuolizacja nabłonka części cewek	2	2
Naczynia tętnicze	redukcja światła tętnic	23	23
	szkliwienie arterioli	5	5

#### 4.2.4. Obraz morfologiczny biopsji nerki: badanie w mikroskopie immunofluorescencyjnym (IF)

Obraz biopsji nerek w IF (tabela 4.7) podobnie przedstawiał się bardzo niejednolicie. Najczęściej uwidoczniano złogi łańcuchów lekkich immunoglobulin (32 chorych; 86%), C3 (31 chorych; 84%), IgG (30 chorych; 81%) oraz C1q (29 chorych; 78%). We wszystkich przypadkach były to głównie obfite lub średnio-obfite złogi zlokalizowane zarówno w mezangium, jak i w błonie podstawnej kapilar kłębuszków nerkowych. Rzadziej stwierdzano obecność innych złogów: IgM (18 chorych; 49%), IgA (14 chorych; 38%) i fibrynogenu (3 chorych; 8%), które występowały głównie w ilościach śladowych lub średnio-obfitych.

Tabela 4.7 Obraz biopsji nerek w mikroskopie immunofluorescencyjnym

Typ złogów	Ilość złogów		Liczba chorych n=37	Lokalizacja	Ilość w danej lokalizacji*
IgG	+	3	30	mezangium	5
	++	16		kapilary	5
	+++	11		mezangium + kapilary	20
IgM	+	7	18	mezangium	1
	++	9		kapilary	7
	+++	2		mezangium + kapilary	8
IgA	+	7	14	mezangium	2
	++	5		kapilary	3
	+++	2		mezangium + kapilary	7
C1q	+	3	29	mezangium	4
	++	13		kapilary	5
	+++	13		mezangium + kapilary	18
C3	+	6	31	mezangium	5
	++	15		kapilary	5
	+++	10		mezangium + kapilary	19
Łańcuchy lekkie immunoglobulin	+	2	32	mezangium	6
	++	17		kapilary	5
	+++	13		mezangium + kapilary	19
Fibrynogen	+	1	3	mezangium	1
	++	1		kapilary	0
	+++	1		mezangium + kapilary	1

Ilość złogów: + - ślad; ++ - średnio-obfite; +++ - obfite

\*- w przypadku złogów w śladowej ilości nie zawsze było możliwe podanie ich lokalizacji

#### 4.3. Parametry biochemiczne i immunologiczne w zależności od wskazania do wykonania biopsji nerki

W zależności od wskazania klinicznego do wykonania biopsji nerki badanych pacjentów podzielono na trzy grupy: biopsja diagnostyczna, nawrót LN, zmiana leczenia immunosupresyjnego, co przedstawiono w tabeli 4.8. Średnie DWB było najwyższe w grupie pacjentów, u których wykonano biopsję z powodu nawrotu LN – 4,6 ( $\pm$  2,9) g/24h (zakres: 1,1 - 9,4), najniższe u chorych w momencie wykonywania biopsji diagnostycznej – 3,0 ( $\pm$  3,2) g/24h (zakres: 0,3 - 12,2). Jednak nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w wielkości proteinurii ze względu na wskazania do biopsji ( $p = 0,137$ ). Erytrocyturia najczęściej obecna była w grupie chorych, u których wykonano biopsję diagnostyczną – 76,2%, najrzadziej u pacjentów w momencie zmiany leczenia immunosupresyjnego – 33,3%. Podobnie badane grupy pacjentów nie różniły się statystycznie znamienne w wielkości erytrocyturii w zależności od wskazania do biopsji nerki ( $p = 0,683$ ). Średnie stężenie kreatyniny było najwyższe u chorych w momencie wykonywania biopsji

diagnostycznej – 1,5 ( $\pm$  1,1) mg/dl (zakres: 0,6 - 4,0), a najniższe w grupie z nawrotem LN – 1,0 ( $\pm$  0,3) mg/dl (zakres: 0,6 - 1,6). Podobnie nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic pomiędzy grupami w stężeniu kreatyniny ( $p = 0,614$ ) czy wielkości eGFR liczonego według wzoru CKD-EPI ( $p=0,564$ ) albo MDRD ( $p = 0,531$ ).

Tabela 4.8 Wskazania do biopsji nerki a wybrane parametry biochemiczne

wskazanie do biopsji n=37	biopsja diagnostyczna	zmiana leczenia	nawrót nefropatii	p
liczba chorych	21	3	13	
DWB (g/24h)				
średnia $\pm$ SD	3,0 $\pm$ 3,2	3,6 $\pm$ 2,1	4,6 $\pm$ 2,9	0,137
zakres	0,3 - 12,2	1,4 - 5,5	1,1 - 9,4	
Erytrocyturia > 5 wpw Liczba chorych (%)	16 (76,2%)	1 (33,3%)	8 (61,5%)	0,683
Kreatynina (mg/dl)				
średnia $\pm$ SD	1,5 $\pm$ 1,1	1,0 $\pm$ 0,7	1,0 $\pm$ 0,3	0,614
zakres	0,6 - 4,0	0,6 - 1,8	0,6 - 1,6	
eGFR - CKD-EPI (ml/min/1,73m <sup>2</sup> )				
średnia $\pm$ SD	71,8 $\pm$ 36,0	79,3 $\pm$ 35,6	84,1 $\pm$ 25,2	0,564
zakres	12,9 - 129,0	39,1 - 106,8	43,2 - 124,2	
eGFR - MDRD (ml/min/1,73m <sup>2</sup> )				
średnia $\pm$ SD	67,9 $\pm$ 34,4	81,4 $\pm$ 42,0	79,7 $\pm$ 26,2	0,531
zakres	12,9 - 140,9	36,9 - 120,4	40,5 - 125,2	

Zaobserwowano pewne różnice we wskaźnikach aktywności immunologicznej nefropatii w poszczególnych grupach pacjentów, w zależności od wskazania do biopsji nerki (tabela 4.9). Dodatkowo miano pc anti-dsDNA najczęściej było obecne u chorych w momencie wykonania biopsji diagnostycznej – 85,7%, najrzadziej u pacjentów, u których planowano zmianę leczenia immunosupresyjnego 33,3%. Podobnie u chorych w momencie rozpoznania LN najczęściej obserwowano podwyższone miano pc anti-C1q – 81%. Nie obserwowano natomiast podwyższonych pc anti-C1q u chorych, u których biopsję wykonano z powodu planowanej zmiany leczenia immunosupresyjnego. Natomiast u chorych z nawrotem LN występowały one u 53,8% chorych. Dodatkowo aPL, zarówno w klasie IgG czy IgM obserwowano przede wszystkim w grupie chorych, u których biopsję

wykonano z powodu planowanej zmiany leczenia immunosupresyjnego, obecne były u 1/3 pacjentów tej grupy.

Tabela 4.9 Wskazania do biopsji a wyniki badań immunologicznych: ocena przeciwciał

Parametr	biopsja diagnostyczna n = 21	zmiana leczenia n = 3	nawrót nefropatii n = 13
ANA Hep-2 ( $\geq 1: 80$ ) liczba chorych (%)	21 (100,0%)	3 (100,0%)	13 (100,0%)
pc anty-dsDNA ( $>100$ IU/ml) liczba chorych (%)	18 (85,7%)	1 (33,3%)	11 (84,6%)
aPL dodatnie liczba chorych (%)	IgG: 5 (23,8%) IgM: 2 (9,5%)	IgG: 1 (33,3%) IgM: 1 (33,3%)	IgG: 2 (15,4%) IgM: 3 (23,1%)
pc anty-C1q ( $>20$ IU/ml) liczba chorych (%)	17 (81,0%)	0 (0,0%)	7 (53,8%)

Obniżone stężenie C3 obserwowano przede wszystkim w grupie pacjentów, u których biopsję wykonano z powodu planowanej zmiany leczenia immunosupresyjnego – 100,0%, natomiast C4 u chorych z nawrotem LN – 69,2% (tabela 4.10). Stężenie IgG poniżej dolnej granicy zakresu wartości referencyjnych zaobserwowano u pojedynczych pacjentów z nawrotem LN, co stanowiło 23,1% tej grupy. U pojedynczych chorych, u których wykonano biopsję diagnostyczną stwierdzano podwyższone stężenie IgG (14,3%), czego nie obserwowano w innych grupach. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w stężeniu C3 ( $p = 0,603$ ) i C4 ( $p = 0,869$ ) ze względu na wskazania do biopsji nerki.

Tabela 4.10 Wskazania do biopsji a wyniki badań immunologicznych: ocena C3, C4, IgG

Parametr	biopsja diagnostyczna n = 21	zmiana leczenia n = 3	nawrót nefropatii n = 13
C3 (g/l) średnia $\pm$ SD	0,6 $\pm$ 0,3 obniżone C3 - 18 (85,7%)	0,7 $\pm$ 0,1 obniżone C3 - 3 (100,0%)	0,6 $\pm$ 0,2 obniżone C3 - 10 (76,9%)
C4 (g/l) średnia $\pm$ SD	0,1 $\pm$ 0,1 obniżone C4 - 13 (41,9%)	0,1 $\pm$ 0,1 obniżone C4 - 2 (66,7%)	0,1 $\pm$ 0,1 obniżone C4 - 9 (69,2%)
IgG (g/l) średnia $\pm$ SD	11,0 $\pm$ 6,3 obniżone - 3 (14,3%) podwyższone - 3 (14,3%)	8,4 $\pm$ 0,7 obniżone - 0 (0,0%) podwyższone - 0 (0,0%)	9,8 $\pm$ 7,0 obniżone - 3 (23,1%) podwyższone - 1 (7,7%)



#### 4.4. Parametry biochemiczne, immunologiczne i histopatologiczne w zależności od rozpoznania poszczególnych klas nefropatii toczniowej ISN/RPS

W badanej grupie chorych z rozpoznaniem LN obserwowano bardzo szeroki zakres stężeń pc anty-dsDNA i anty-C1q. W celu ułatwienia obliczeń oraz interpretacji uzyskanych wyników badań posłużono się ilorazem uzyskanego wyniku badania przeciwciał do górnej wartości zakresu referencyjnego. Podobnie przeprowadzono w przypadku oceny stężeń KKI-C3d i KKI-C1q, gdyż w okresie prowadzenia badań, w zależności od oznaczanej serii, występowały różnice w zakresie wartości referencyjnych. Zatem aby umożliwić ocenę statystyczną zastosowano iloraz (stosunek) otrzymanego wyniku badania do górnej wartości zakresu referencyjnego.

Tabela 4.11 Wyniki badań laboratoryjnych, immunologicznych i histopatologicznych w zależności od klasy nefropatii toczniowej

Parametr	III n=4	IV n=23	III+V n=4	IV+V n=5	p
Hemoglobina (g/dl)					
średnia ± SD	11,1 ± 1,1	11,0 ± 1,9	12,6 ± 1,1	11,8 ± 1,1	0,278
zakres	9,7 - 12,4	7,7 - 14,9	11,3 - 13,7	10,4 - 13,2	
Liczba limfocytów (G/l)					
średnia ± SD	1,2 ± 0,9	0,9 ± 0,5	2,6 ± 2,8	1,2 ± 0,5	0,274
zakres	0,3 - 2,4	0,2 - 2,1	0,7 - 6,8	0,8 - 1,8	
DWB (g/24h)					
średnia ± SD	0,8 ± 0,5	3,7 ± 3,3	5,0 ± 4,3	4,1 ± 1,1	0,054
zakres	0,3 - 1,4	0,3 - 12,2	0,3 - 10,4	2,8 - 5,5	
Ecyt (punkty)					
średnia ± SD	0,4 ± 0,5	1,2 ± 1,1	0,1 ± 0,3	1,1 ± 1,3	0,105
zakres	0,0 - 1,0	0,0 - 3,0	0,0 - 0,5	0,0 - 3,0	
anty-C1q					
średnia ± SD	4,1 ± 4,2	5,2 ± 8,2	1,3 ± 1,0	3,7 ± 3,2	0,712
zakres	0,2 - 10,0	0,0 - 30,7	0,0 - 2,4	0,8 - 7,8	
anty-dsDNA					
średnia ± SD	3,0 ± 1,3	3,3 ± 2,5	2,4 ± 1,3	3,8 ± 2,9	0,870
zakres	1,0 - 3,8	0,1 - 8,3	1,4-4,2	0,5-7,8	
C3 (g/l)					
średnia ± SD	0,7 ± 0,1	0,6 ± 0,3	0,5 ± 0,2	0,5 ± 0,2	0,501
zakres	0,6 - 0,9	0,2 - 1,5	0,4 - 0,8	0,1 - 0,7	

Parametr	III n=4	IV n=23	III+V n=4	IV+V n=5	p
C4 (g/l) średnia ± SD zakres	0,1 ± 0,1 0,1 - 0,3	0,1 ± 0,1 0,0 - 0,3	0,1 ± 0,0 0,1 - 0,1	0,1 ± 0,0 0,0 - 0,1	0,734
KKI-C1q średnia ± SD zakres	1,2 ± 1,2 0,0 - 2,3	1,2 ± 2,2 0,0 - 9,7	0,5 ± 0,3 0,3 - 0,9	1,0 ± 0,6 0,5 - 2,0	0,731
KKI-C3d średnia ± SD zakres	1,0 ± 0,6 0,2 - 1,6	0,7 ± 1,0 0,0 - 4,1	0,1 ± 0,1 0,0 - 0,3	0,4 ± 0,6 0,0 - 1,5	0,181
AI średnia ± SD zakres	3,0 ± 0,8 2,0 - 4,0	7,7 ± 3,8 3,0 - 16,0	5,5 ± 2,4 3,0 - 8,0	6,8 ± 3,3 3,0 - 12,0	0,037
CI średnia ± SD zakres	2,3 ± 2,1 0,0 - 5,0	4,1 ± 2,2 0,0 - 8,0	3,3 ± 1,3 2,0 - 5,0	3,0 ± 1,6 1,0 - 5,0	0,318

Wyniki: anty-dsDNA, anty-C1q, KKI-C3d, KKI-C1q przedstawiono jako iloraz uzyskanego wyniku badania do górnej wartości zakresu referencyjnego.

Nie stwierdzano statystycznie istotnych różnic pomiędzy grupami, porównując stężenie hemoglobiny we krwi ( $p = 0,278$ ) czy liczbę limfocytów krwi obwodowej ( $p = 0,274$ ). Badane grupy nie różniły się znamienne statystycznie także w wielkości proteinurii ( $p = 0,054$ ), wartości wskaźnika Ecyt ( $p = 0,105$ ) oraz stężeniach C3 i C4 czy innych parametrów immunologicznych: pc anty-C1q, pc anty-dsDNA oraz obecności KKI-C3d czy KKI-C1q. Zaobserwowano natomiast statystycznie istotne różnice ( $p = 0,037$ ) w wartości AI, który wynosił w grupie III 3,0 ( $\pm 0,8$ ) (zakres: 2,0 - 4,0), w grupie IV 7,7 ( $\pm 3,8$ ) (zakres: 3,0 - 16,0), w grupie III+V 5,5 ( $\pm 2,4$ ) (zakres: 3,0 - 8,0) oraz w grupie IV+V 6,8 ( $\pm 3,3$ ) (zakres: 3,0 - 12,0). W grupie III AI był istotnie mniejszy w porównaniu do grupy IV ( $p = 0,028$ ). Takich zależności nie obserwowano porównując wartości CI w badanych grupach (tabela 4.11).

#### 4.5. Parametry biochemiczne, immunologiczne i histopatologiczne w zależności od obecności przeciwciał: anty-dsDNA i anty-C1q

Badaną grupę pacjentów z LN podzielono na dwie podgrupy: pacjenci z obecnym dodatnim mianem pc anty-dsDNA (30 osób) oraz druga podgrupa, gdzie tych przeciwciał nie stwierdzono (7 badanych). Porównując obydwie podgrupy nie zaobserwowano statystycznie znamienych różnic w stężeniu hemoglobiny, liczby limfocytów, wielkości proteinurii czy erytrocyturii (tabela 4.12). Natomiast stężenie C3 było statystycznie znamienne niższe ( $p = 0,003$ ) w grupie pc anty-dsDNA (+). Zauważono również wyższe stężenie pc anty-C1q w grupie pc anty-dsDNA (+) i w tym przypadku różnica także była statystycznie znamienna ( $p = 0,023$ ).

Tabela 4.12 Wybrane parametry biochemiczne, immunologiczne i histopatologiczne w zależności od obecności przeciwciał anty-dsDNA

Parametr	pc anty-dsDNA (+) n=30	pc anty-dsDNA (-) n=7	p
Hemoglobina (g/dl) średnia $\pm$ SD zakres	11,2 $\pm$ 1,8 7,7 - 14,9	12,1 $\pm$ 1,5 9,5 - 14,4	0,255
Liczba limfocytów (G/l) średnia $\pm$ SD zakres	1,2 $\pm$ 1,2 0,2 - 6,8	1,2 $\pm$ 0,7 0,2 - 2,2	0,561
DWB (g/24h) średnia $\pm$ SD zakres	3,9 $\pm$ 3,2 0,3 - 12,1	2,2 $\pm$ 1,7 0,3 - 4,4	0,286
Ecyt (punkty) średnia $\pm$ SD zakres	1,0 $\pm$ 1,1 0,0 - 3,0	0,9 $\pm$ 1,1 0,0 - 3,0	0,892
anty-C1q średnia $\pm$ SD zakres	5,1 $\pm$ 7,3 0,0 - 30,7	1,0 $\pm$ 1,5 0,0 - 3,8	0,023
C3 (g/l) średnia $\pm$ SD zakres	0,6 $\pm$ 0,2 0,1 - 1,3	0,9 $\pm$ 0,3 0,7 - 1,5	0,003
C4 (g/l) średnia $\pm$ SD zakres	0,1 $\pm$ 0,1 0,0 - 0,3	0,1 $\pm$ 0,1 0,0 - 0,3	0,121

Parametr	pc anti-dsDNA (+) n=30	pc anti-dsDNA (-) n=7	p
KKI-C1q średnia ± SD zakres	1,2 ± 1,9 0,0 - 9,7	0,7 ± 0,9 0,0 - 2,3	0,304
KKI-C3d średnia ± SD zakres	0,6 ± 0,9 0,0 - 4,1	0,4 ± 0,4 0,0 - 1,0	0,535
AI średnia ± SD zakres	7,2 ± 3,7 2,0 - 16,0	5,2 ± 2,6 3,0 - 10,0	0,218
CI średnia ± SD zakres	3,7 ± 1,9 1,0 - 8,0	3,4 ± 3,0 0,0 - 7,5	0,849

Wyniki: anti-C1q, KKI-C3d, KKI-C1q przedstawiono jako iloraz uzyskanego wyniku badania do górnej wartości zakresu referencyjnego.

Podobnie badaną grupę pacjentów z LN podzielono na dwie podgrupy: pacjenci z obecnym dodatnim mianem pc anti-C1q (24 pacjentów) oraz druga podgrupa, gdzie tych przeciwciał nie stwierdzono (13 pacjentów). Porównując obydwie podgrupy nie zaobserwowano statystycznie znamienych różnic porównując: stężenie hemoglobiny, liczbę limfocytów, DWB, erytrocyturię, stężenie C3, C4, AI, CI, pc anti-dsDNA, czy obecność KKI-C1q (tabela 4.13). Jedynie w grupie pc anti-C1q (+) istotnie statystycznie częściej obserwowano obecność KKI-C3d (p = 0,040) (tabela 4.13).

Tabela 4.13 Wybrane parametry biochemiczne, immunologiczne i histopatologiczne w zależności od obecności przeciwciał anti-C1q

Parametr	pc anti-C1q (+) n=24	pc anti-C1q (-) n=13	p
Hemoglobina (g/dl) średnia ± SD zakres	11,0 ± 1,9 7,7 - 14,5	12,1 ± 1,5 9,5 - 14,9	0,090
Liczba limfocytów (G/l) średnia ± SD zakres	1,2 ± 1,3 0,2 - 6,8	1,2 ± 0,7 0,2 - 2,4	0,600
DWB (g/24h) średnia ± SD zakres	2,9 ± 2,5 0,3 - 10,4	4,9 ± 3,6 0,7 - 12,2	0,054

Parametr	pc anti-C1q (+) n=24	pc anti-C1q (-) n=13	p
Ecyt (punkty) średnia ± SD zakres	1,0 ± 1,1 0,0 - 3,0	0,8 ± 1,0 0,0 - 3,0	0,408
anty-dsDNA średnia ± SD zakres	3,5 ± 2,4 0,4 - 8,3	2,5 ± 2,1 0,1 - 6,2	0,221
C3 (g/l) średnia ± SD zakres	0,6 ± 0,3 0,1 - 1,5	0,6 ± 0,2 0,3 - 1,1	0,763
C4 (g/l) średnia ± SD zakres	0,1 ± 0,1 0,0 - 0,3	0,1 ± 0,1 0,0 - 0,3	0,356
KKI-C1q średnia ± SD zakres	1,1 ± 1,9 0,0 - 9,7	1,0 ± 1,6 0,0 - 5,8	0,309
KKI-C3d średnia ± SD zakres	0,8 ± 1,0 0,0 - 4,1	0,3 ± 0,4 0,0 - 1,2	0,040
AI średnia ± SD zakres	6,7 ± 3,2 2,0 - 13,5	7,0 ± 4,6 3,0 - 16,0	0,814
CI średnia ± SD zakres	3,5 ± 2,0 0,0 - 8,0	3,8 ± 2,3 0,0 - 7,5	0,737

Wyniki: anti-C1q, KKI-C3d, KKI-C1q przedstawiono jako iloraz uzyskanego wyniku badania do górnej wartości zakresu referencyjnego.

Spośród wszystkich badanych wyodrębniono grupę pacjentów, u których występowało dodatnie miano zarówno pc anti-C1q, jak i anti-dsDNA (21 osób) i porównano ją z pozostałymi chorymi (16 osób) (tabela 4.14). W grupie tej stwierdzono istotną statystycznie niższą wartość hemoglobiny ( $p = 0,026$ ). Natomiast nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic porównując parametry biochemiczne czy immunologiczne aktywności nefropatii w przebiegu SLE.

Tabela 4.14 Wybrane parametry biochemiczne, immunologiczne i histopatologiczne w zależności od obecności przeciwciał anty C1q i anty-dsDNA

Parametr	pc anty-C1q (+) i pc anty-dsDNA (+) n=21	pozostali n=16	p
Hemoglobina (g/dl) średnia ± SD zakres	10,8 ± 1,9 7,7 - 14,5	12,1 ± 1,3 9,5 - 14,9	0,026
Liczba limfocytów (G/l) średnia ± SD zakres	1,2 ± 1,4 0,2 - 6,8	1,2 ± 0,7 0,2 - 2,4	0,244
DWB (g/24h) średnia ± SD zakres	3,1 ± 2,6 0,3 - 10,4	4,2 ± 3,6 0,3 - 12,2	0,304
Ecyt (punkty) średnia ± SD zakres	1,0 ± 1,1 0,0 - 3,0	0,8 ± 1,1 0,0 - 3,0	0,443
C3 (g/l) średnia ± SD zakres	0,6 ± 0,3 0,1 - 1,3	0,7 ± 0,3 0,3 - 1,5	0,288
C4 (g/l) średnia ± SD zakres	0,1 ± 0,1 0,0 - 0,3	0,1 ± 0,1 0,0 - 0,3	0,226
KKI-C1q średnia ± SD zakres	1,2 ± 2,0 0,0 - 9,7	1,0 ± 1,5 0,0 - 5,8	0,391
KKI-C3d średnia ± SD zakres	0,8 ± 1,0 0,0 - 4,1	0,3 ± 0,4 0,0 - 1,2	0,145
AI średnia ± SD zakres	6,6 ± 3,3 3,0 - 13,5	7,1 ± 4,1 2,0 - 16,0	0,673
CI średnia ± SD zakres	3,7 ± 1,8 0,0 - 7,5	3,6 ± 2,4 0,0 - 8,0	0,872

Wyniki: anty-C1q, KKI-C3d, KKI-C1q przedstawiono jako iloraz uzyskanego wyniku badania do górnej wartości zakresu referencyjnego.

#### 4.6. Badanie zależności pomiędzy wybranymi parametrami immunologicznymi, biochemicznymi oraz histopatologicznymi

##### 4.6.1. Ocena korelacji pomiędzy wskaźnikami aktywności immunologicznej nefropatii toczniowej a wybranymi parametrami biochemicznymi

W celu poszukiwania zależności pomiędzy wskaźnikami aktywności immunologicznej LN a parametrami aktywności klinicznej nefropatii zbadano korelacje pomiędzy poszczególnymi wskaźnikami.

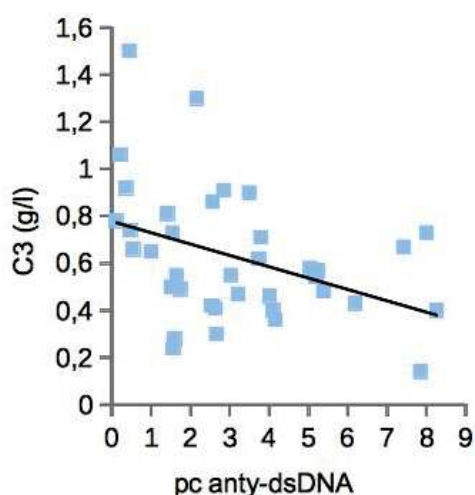
Jako parametry **aktywności klinicznej nefropatii** wzięto pod uwagę: **DWB i Ecyt** oraz **eGFR** według wzoru CKD-EPI. Natomiast badania: poziom pc **anty-dsDNA**, **anty-C1q** oraz stężenie **C3** i **IgG** stanowiły **parametry aktywności immunologicznej LN**. W przypadku przeciwciał (anty-dsDNA, anty-C1q) i kompleksów immunologicznych (KKI-C3d i KKI-C1q) do wszystkich obliczeń używano wartości uzyskanych z ilorazu: otrzymany wynik do wartości górnego zakresu referencyjnego. Oceniano również czy istnieją zależności pomiędzy wybranymi wskaźnikami aktywności immunologicznej SLE. Zatem oceniano korelacje m.in: pc anty-dsDNA i C3, pc anty-dsDNA i anty-C1q oraz C3 i pc anty-C1q. Otrzymane wyniki przedstawiono w tabelach 4.15, 4.16 oraz 4.17.

Tabela 4.15 Wyniki badania korelacji poziomu przeciwciał anty-dsDNA z wybranymi parametrami biochemicznymi i immunologicznymi

Parametr	r	p
DWB (g/24h)	0,18	0,281
Ecyt (punkty)	-0,06	0,704
eGFR - CKD-EPI (ml/min)	0,15	0,367
Limfocyty (G/l)	-0,28	0,093
Hemoglobina (g/dl)	-0,27	0,107
C3 (g/l)	<b>-0,43</b>	<b>0,0075</b>
C4 (g/l)	-0,25	0,138
anty-C1q	<b>0,36</b>	<b>0,028</b>
KKI-C1q	0,23	0,172
KKI-C3d	0,21	0,221

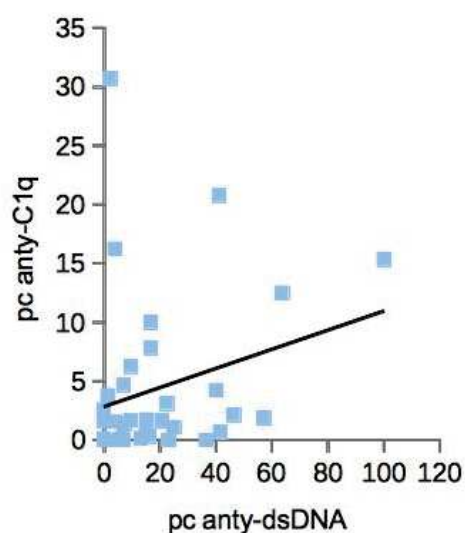
r – współczynnik korelacji Spearman'a

Wykazano istotne statystycznie korelacje między stężeniem pc anty-dsDNA ze stężeniem C3 (rycina 4.1) i stężeniem pc anty-C1q (rycina 4.2).



Rycina 4.1

Współzależność pomiędzy poziomem przeciwciał anti-dsDNA i stężeniem C3 w badanej grupie  
( $r = -0,43$ ;  $p = 0,0075$ )



Rycina 4.2

Współzależność pomiędzy poziomem przeciwciał anti-dsDNA i anti-C1q w badanej grupie  
( $r = 0,36$ ;  $p = 0,028$ )

W tabeli 4.16 przedstawiono wyniki badania korelacji pomiędzy poziomem pc anti-C1q a wybranymi parametrami biochemicznymi i immunologicznymi.

Tabela 4.16 Wyniki badania korelacji poziomu przeciwciał anti-C1q z wybranymi parametrami biochemicznymi i immunologicznymi

Parametr	r	p
DWB (g/24h)	-0,21	0,212
Ecyt (punkty)	0,15	0,364
eGFR - CKD-EPI (ml/min)	0,11	0,528
Limfocyty (G/l)	-0,14	0,417
Hemoglobina (g/dl)	-0,26	0,120
C3 (g/l)	-0,18	0,279
C4 (g/l)	-0,31	0,065
anti-dsDNA	0,36	0,028
KKI-C1q	0,31	0,064
KKI-C3d	0,45	0,006

r – współczynnik korelacji Spearman'a

Wykazano istotne statystycznie dodatnie korelacje między stężeniem pc anti-C1q i KKI-C3d ( $r=0,45$ ;  $p=0,006$ ) oraz przedstawioną powyżej korelację pc anti-dsDNA i anti-C1q.



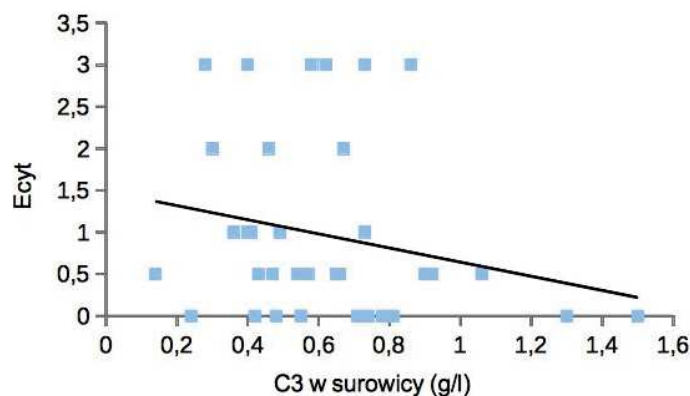
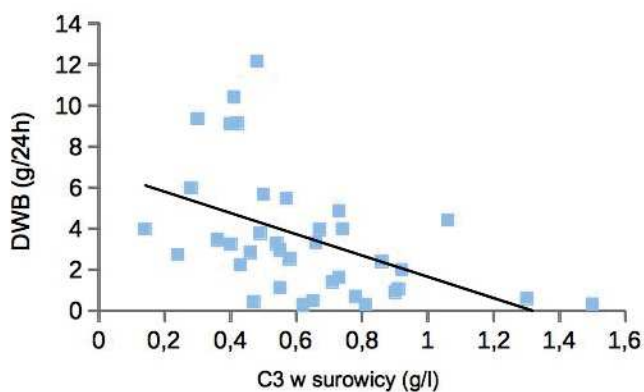
Następnie oceniano zależności pomiędzy stężeniem C3 i parametrami biochemicznymi i immunologicznymi, co przedstawiono poniżej w tabeli 4.17.

Tabela 4.17 Wyniki badania korelacji pomiędzy stężeniem C3 w surowicy a wybranymi parametrami biochemicznymi i immunologicznymi

Parametr	r	p
DWB (g/24h)	-0,53	0,001
Ecyt (punkty)	-0,36	0,029
eGFR- CKD-EPI (ml/min)	0,21	0,219
Limfocyty (G/l)	0,15	0,381
Hemoglobina (g/dl)	0,32	0,055
anty-dsDNA	-0,43	0,0075
anty-C1q	-0,18	0,279
KKI-C1q	-0,15	0,365
KKI-C3d	-0,04	0,807

r – współczynnik korelacji Spearman'a

Zaobserwowano związek pomiędzy stężeniem C3 a parametrami biochemicznymi aktywności LN. Stężenie C3 korelowało znamienne statystycznie ujemnie z wielkością DWB ( $r = -0,53$ ;  $p = 0,001$ ) (rycina 4.3) oraz wskaźnikiem Ecyt ( $r = -0,36$ ;  $p = 0,029$ ) (rycina 4.4).



Rycina 4.3  
Współzależność pomiędzy stężeniem C3 a wielkością DWB w badanej grupie ( $r = -0,53$ ;  $p = 0,001$ )

Rycina 4.4  
Współzależność pomiędzy stężeniem C3 a wielkością Ecyt w badanej grupie ( $r = -0,36$ ;  $p = 0,029$ )

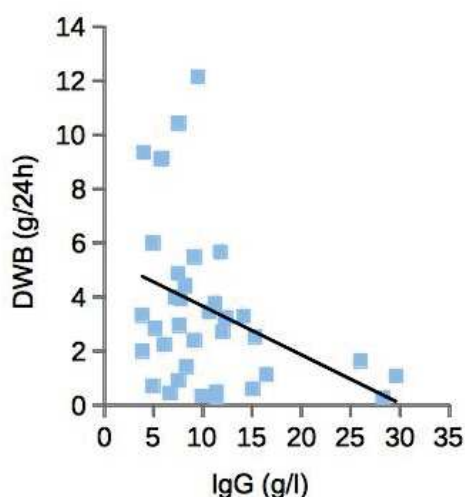
Kolejnym etapem pracy była ocena zależności pomiędzy stężeniem IgG w surowicy a parametrami aktywności klinicznej oraz immunologicznej LN. Uzyskane wyniki przedstawiono poniżej w tabeli 4.18.

Tabela 4.18 Wyniki badania korelacji pomiędzy stężeniem IgG w surowicy a wybranymi parametrami biochemicznymi i immunologicznymi

Parametr	r	p
DWB (g/24h)	-0,36	0,027
Ecyt (punkty)	-0,08	0,644
eGFR –CKD EPI (ml/min)	0,27	0,102
Limfocyty (G/l)	0,06	0,710
Hemoglobina (g/dl)	-0,06	0,717
C3 (g/l)	0,20	0,238
C4 (g/l)	-0,03	0,857
anty-dsDNA	0,15	0,372
anty-C1q	0,27	0,112
KKI-C1q	0,15	0,372
KKI-C3d	0,32	0,053

r – współczynnik korelacji Sierpman'a

Zaobserwowano statystycznie znamiennej ujemnej korelację pomiędzy stężeniem IgG w surowicy i wielkością DWB ( $r = -0,36$ ;  $p = 0,027$ ) (rycina 4.5).



Rycina 4.5

Współzależność pomiędzy wielkością DWB a stężeniem IgG w surowicy w badanej grupie ( $r = -0,36$ ;  $p = 0,027$ )

#### 4.6.2. Badanie zależności pomiędzy parametrami aktywności immunologicznej nefropatii toczniowej oraz obrazem histopatologicznym biopsji nerki badanych pacjentów

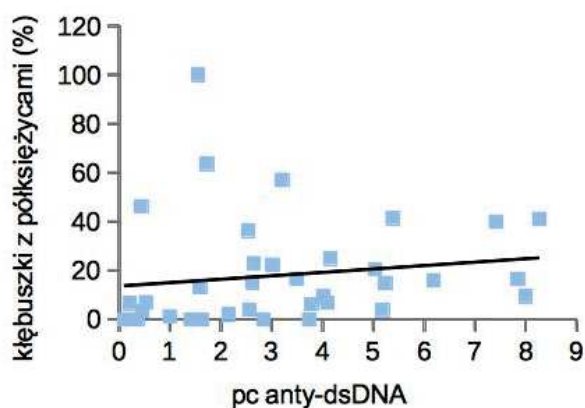
Kolejnym etapem badań była ocena korelacji pomiędzy wskaźnikami aktywności immunologicznej nefropatii takimi jak: poziom pc anty-dsDNA, pc anty-C1q, stężenie C3 i IgG w surowicy a obrazem histopatologicznym biopsji nerki. W ocenie obrazu morfologicznego biopsji nerki wzięto pod uwagę: AI, CI, procent kłębuszków z półksiężycami komórkowymi w biopsji nerki, procent kłębuszków z wszystkimi (komórkowymi, włóknisto-komórkowymi, włóknistymi) półksiężycami.

Tabela 4.19 Wyniki badania korelacji poziomu przeciwciał anty-dsDNA z wybranymi parametrami histopatologicznymi

Parametr	r	p
AI	0,29	0,090
CI	0,13	0,459
procent kłębuszków z półksiężycami komórkowymi	0,20	0,227
procent kłębuszków z półksiężycami komórkowymi, włóknistymi i włóknisto-komórkowymi	0,40	0,015

r – współczynnik korelacji Spearman'a

Wykazano istotną statystycznie ujemną korelację między stężeniem pc anty-dsDNA i procentem kłębuszków z półksiężycami (łącznie: komórkowymi, komórkowo-włóknistymi i włóknistymi) w biopsji nerki (tabela 4.19) (rycina 4.6).



Rycina 4.6

Współzależność pomiędzy poziomem przeciwciał anti-dsDNA a ilością kłębuszków z półksiężycami komórkowymi, komórkowo-włóknistymi i włóknistymi w badanej grupie  
( $r = 0,40$ ;  $p = 0,015$ )

Nie wykazano istotnych statystycznie korelacji między stężeniem anti-C1q i wybranymi parametrami histopatologicznymi, co przedstawiono w tabeli 4.20.

Tabela 4.20 Wyniki badania korelacji poziomu przeciwciał anti-C1q z wybranymi parametrami histopatologicznymi

Parametr	r	p
AI	0,13	0,436
CI	-0,11	0,512
procent kłębuszków z półksiężycami komórkowymi	0,04	0,833
procent kłębuszków z półksiężycami komórkowymi, włóknistymi i włóknisto-komórkowymi	0,27	0,109

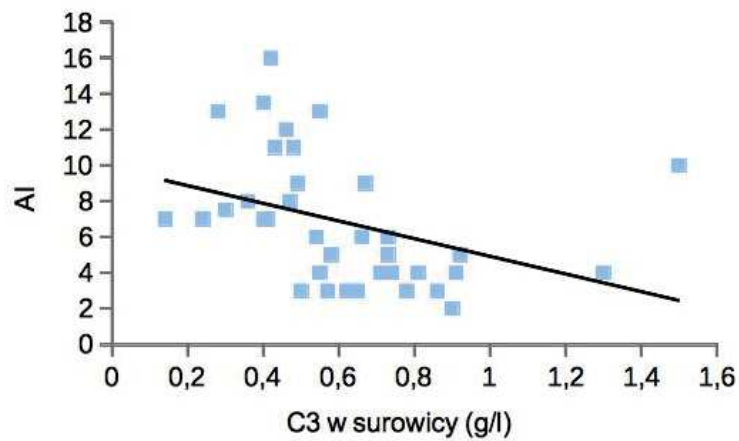
r – współczynnik korelacji Spearman'a

Spośród wskaźników immunologicznych nefropatii stężenie C3 okazało się najlepszym markerem. W badanej grupie pacjentów stężenie C3 korelowało zarówno z AI, procentem kłębuszków z półksiężycami komórkowymi oraz procentem kłębuszków z półksiężycami komórkowymi, komórkowo-włóknistymi i włóknistymi łącznie, co przedstawiono poniżej w tabeli 4.21 oraz graficznie na rycinach 4.7, 4.8, 4.9.

Tabela 4. 21 Wyniki badania korelacji stężenia C3 w surowicy z wybranymi parametrami histopatologicznymi

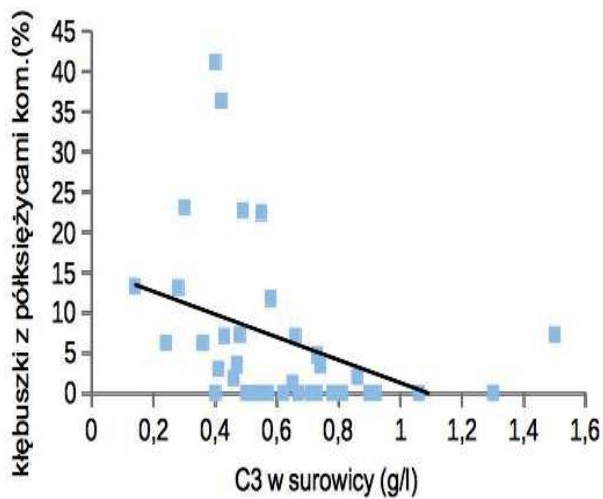
Parametr	r	p
AI	-0,58	0,0002
CI	0,12	0,493
procent kłębuszków z półksiężycami komórkowymi	-0,55	0,0004
procent kłębuszków z półksiężycami komórkowymi, włóknistymi i włóknisto-komórkowymi	-0,50	0,002

r – współczynnik korelacji Spearman'a



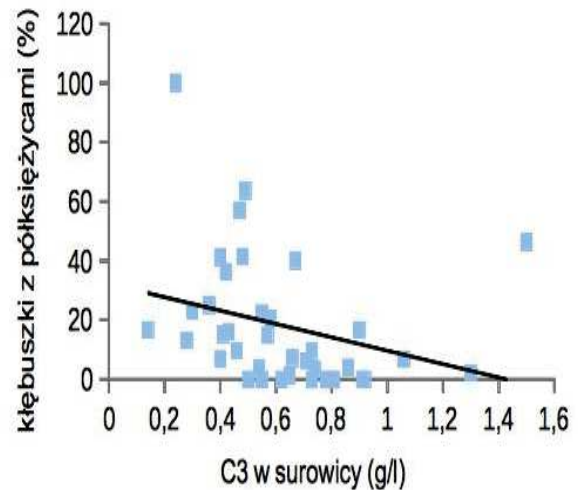
Rycina 4.7

Współzależność pomiędzy stężeniem C3 w surowicy a wielkością AI w badanej grupie  
( $r = -0,058$ ;  $p = 0,0002$ )



Rycina 4.8

Współzależność pomiędzy stężeniem C3 a ilością kłębuszków z półksiężycami komórkowymi w badanej grupie  
( $r = -0,55$ ;  $p = 0,0004$ )



Rycina 4.9

Współzależność pomiędzy stężeniem C3 a ilością kłębuszków z półksiężycami komórkowymi, komórkowo-włóknistymi i włóknistymi w badanej grupie  
( $r = -0,50$ ;  $p = 0,002$ )

Stężenie IgG w surowicy również okazało się dobrym wskaźnikiem aktywności nefropatii. W badaniach zaobserwowano istotne statystycznie ujemne korelacje między stężeniem IgG w surowicy i AI oraz procentem kłębuszków z półksiężycami komórkowymi (tabela 4.22).

Tabela 4.22 Wyniki badania korelacji stężenia IgG w surowicy z wybranymi parametrami histopatologicznymi

Parametr	r	p
AI	-0,39	0,0195
CI	0,07	0,704
procent kłębuszków z półksiężycami komórkowymi	-0,34	0,039
procent kłębuszków z półksiężycami komórkowymi, włóknistymi i włóknisto-komórkowymi	-0,21	0,203

r – współczynnik korelacji Spearman'a

#### 4.6.3. Poszukiwanie zależności pomiędzy obecnością niektórych zmian morfologicznych w biopsji nerek a wskaźnikami aktywności LN

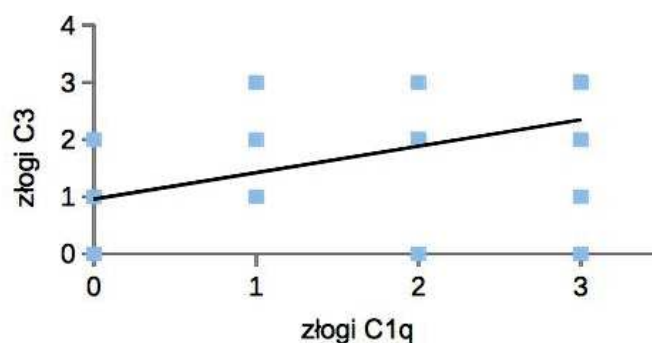
W badaniu IF biopsji nerek badanych pacjentów zdecydowanie częściej obecne były złogi: C3 oraz C1q. Obecność złogów C1q jest charakterystyczna dla LN. Zatem kolejnym etapem badań była ocena korelacji pomiędzy obecnością złogów C1q a wybranymi parametrami biochemicznymi i immunologicznymi aktywności LN. W zależności od ilości złogów C1q w badaniu IF przypisano wartości liczbowe następująco: brak złogów jako 0, (+) jako 1, (++) jako 2, (+++) jako 3. Zaobserwowano znamiennej statystycznie dodatnią korelację pomiędzy obecnością złogów C1q a wielkością DWB. Nie stwierdzono zależności pomiędzy obecnością C1q w biopsji nerki a immunologicznymi parametrami aktywności nefropatii takimi jak: stężenie pc anty-dsDNA, stężenie C3 w surowicy czy nawet stężenie pc anty-C1q w surowicy (tabela 4.23).

Tabela 4.23 Wyniki badania korelacji pomiędzy obecnością złogów C1q w biopsji nerki a wybranymi parametrami biochemicznymi i immunologicznymi

Parametr	r	p
DWB (g/24h)	0,38	0,022
C3 w surowicy (g/l)	-0,30	0,07
IgG w surowicy (g/l)	-0,19	0,248
anty-dsDNA	0,06	0,736
anty-C1q	-0,03	0,843

r – współczynnik korelacji Spearman'a

Zaobserwowano także, że u chorych z obecnością złogów C1q w kłębuszku nerkowym, podobnie częściej występowały złogi C3, co potwierdziła znamiennej statystycznie korelacja:  $r = 0,52$   $p = 0,0009$  (rycina 4.10).



Rycina 4.10 Współzależność pomiędzy ilością złogów C1q a ilością złogów C3 w biopsji nerek w badanej grupie  
( $r = 0,52$ ;  $p = 0,0009$ )

W większości biopsji nerek badanej grupy stwierdzano w badaniu IF występowanie złogów C3. Obecność tych złogów korelowała ujemnie z występowaniem pc anti-C1q w surowicy. Natomiast nie zaobserwowano związku pomiędzy występowaniem złogów C3 w biopsji a pozostałymi wskaźnikami aktywności nefropatii (tabela 4.24).

Tabela 4.24 Wyniki badania korelacji pomiędzy obecnością złogów C3 w biopsji nerki z wybranymi parametrami biochemicznymi i immunologicznymi

Parametr	r	p
DWB (g/24h)	0,15	0,375
C3 w surowicy (g/l)	0,03	0,86
IgG w surowicy (g/l)	-0,17	0,334
anty-dsDNA	-0,08	0,659
anty-C1q	<b>-0,37</b>	<b>0,028</b>

r – współczynnik korelacji Spearman'a

W badanej grupie chorych podjęto próbę oceny obecności zmian mezangialnych i błoniastych w biopsji nerki a następnie poszukiwano zależności pomiędzy ich występowaniem a wskaźnikami aktywności LN.

W zależności od ilości tych zmian przypisano im wartości liczbowe w następujący sposób: brak - 0, ogniskowe - 1, rozplemowe - 2, bardzo nasilone - 3.

W przypadku występowania zmian mezangialnych poszukiwano związku z parametrami aktywności proliferacyjnej LN: wielkość DWB i stężenie kreatyniny oraz stężenie C3, pc anti-dsDNA, pc anti-C1q.



Nie zaobserwowano statystycznie znamiennej korelacji pomiędzy wymienionymi powyżej wskaźnikami biochemicznymi i immunologicznymi nefropatii a nasileniem zmian mezangialnych w biopsji nerki w badanej grupie (tabela 4.25).

Tabela 4.25 Wyniki badania korelacji obecności zmian mezangialnych w biopsji nerki z wybranymi parametrami biochemicznymi i immunologicznymi

Parametr	r	p
DWB (g/24h)	0,08	0,640
Kreatynina (mg/dl)	-0,01	0,932
C3 w surowicy (g/l)	-0,09	0,605
anty-dsDNA	0,26	0,116
anty-C1q	0,32	0,054

r – współczynnik korelacji Spearman'a

Podobnie poszukiwano związku pomiędzy nasileniem zmian błoniastych w biopsji nerki a parametrami aktywności nefropatii.

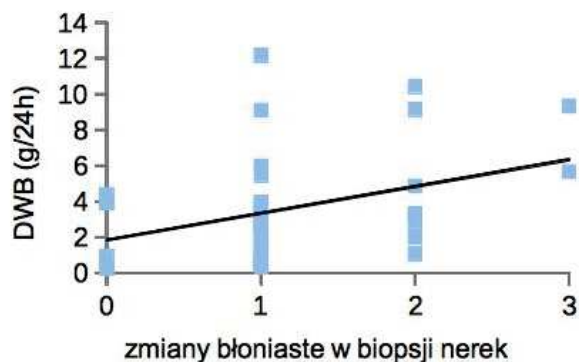
W tym przypadku jako wskaźniki biochemiczne nefropatii oceniano: DWB, stężenie albuminy i białka całkowitego w surowicy. Jako wskaźniki aktywności immunologicznej nefropatii oprócz: stężenia C3, pc anty-dsDNA, pc anty-C1q wzięto pod uwagę także stężenie IgG w surowicy (tabela 4.26).

Tabela 4.26 Wyniki badania korelacji obecności zmian błoniastych w biopsji nerki z wybranymi parametrami biochemicznymi i immunologicznymi

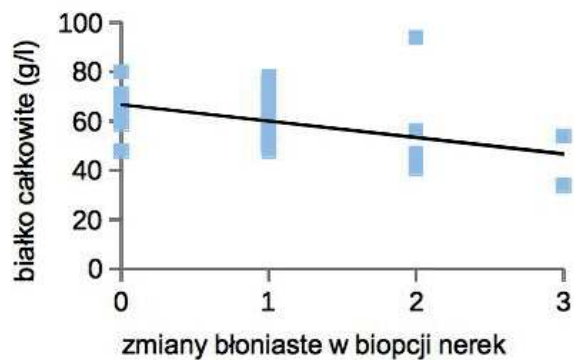
Parametr	r	p
DWB (g/24h)	0,34	0,041
Białko całkowite (g/l)	-0,47	0,004
Albumina (g/l)	-0,27	0,119
IgG w surowicy (g/l)	-0,23	0,180
C3 w surowicy (g/l)	-0,29	0,081
anty-dsDNA	-0,06	0,719
anty-C1q	-0,17	0,324

r – współczynnik korelacji Spearman'a

Zaobserwowano znamiennej statystycznie korelację pomiędzy obecnością zmian błoniastych w biopsji nerek a wielkością DWB i stężeniem białka całkowitego w surowicy, co przedstawiono w tabeli 4.26 (rycina 4.11 i 4.12).



Rycina 4.11 Współzależność pomiędzy obecnością zmian błoniastych w biopsji nerek a wielkością DWB w badanej grupie ( $r = 0,34$ ;  $p = 0,041$ )



Rycina 4.12 Współzależność pomiędzy obecnością zmian błoniastych w biopsji nerek a stężeniem białka całkowitego w badanej grupie ( $r = -0,47$ ;  $p = 0,004$ )

## 5. OMÓWIENIE WYNIKÓW I DYSKUSJA

### 5.1 Obraz histopatologiczny biopsji nerki w nefropatii toczniowej

Przedstawione w pracy wyniki potwierdziły różnorodność obrazu morfologicznego w biopsji nerki u chorych z rozpoznaniem LN. W piśmiennictwie naukowym zwraca się na to szczególną uwagę. Przemawia to także za koniecznością wykonywania biopsji nerki nawet w przypadku obecności niewielkich zmian w moczu<sup>18,67,68</sup>. Grupa pacjentów opisywana w pracy jest niejednorodna. Biopsję nerki wykonywano u chorych z pierwszym rzutem nefropatii oraz stosunkowo licznie, bo u 13/37 z kolejnym nawrotem choroby nerek. Badania miały na celu ocenę kliniczną pewnej populacji pacjentów z rozpoznaniem LN, którzy w danym okresie czasowym mieli wykonaną biopsję nerki w Klinice Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Badania zatem opisują wyniki w grupie chorych diagnozowanych w naszej Klinice w danym okresie czasowym i w pewnym sensie mogą świadczyć o epidemiologii LN. W badanej grupie pacjentów na podstawie badania biopsyjnego najczęściej postawiono rozpoznanie klasy IV LN ISN/RPS (62,16%). Według większości badaczy zajmujących się LN, klasa IV jest najczęściej stawianym rozpoznaniem. Należy zwrócić uwagę, że w opisanej przez nas grupie występowała nawet częściej niż w innych krajach tj.: USA - 36,6%, Wielkiej Brytanii - 46% czy Japonii – 52%<sup>18,69,70</sup>. Natomiast stosunkowo rzadko w przedstawionej grupie chorych postawiono rozpoznanie klasy III ISN/RPS – 10,81 %. Przykładowo w USA stanowi - 19,8% rozpoznań biopsyjnych, Wielkiej Brytanii - 12,2% a w Japonii – 12,9%. Klasa V ISN/RPS jest rzadziej rozpoznawaną klasy LN i według doniesień stanowi około 9-16% rozpoznań biopsyjnych<sup>18,69,70</sup>. W badanej grupie nie postawiono rozpoznania, tzw. „czystej” klasy V, natomiast zaobserwowano nakładanie się zmian klasy V i klasy IV u pięciu pacjentów (13,51%), a u czterech (10,81%) współistnienie klasy V z klasą III.

Nietypowy rozkład postaci LN w badanej grupie związany był między innymi z faktem, że u 13 chorych wskazaniem do biopsji nerki był nawrót nefropatii. W przypadku kolejnych trzech badanych, wskazaniem był brak efektywności leczenia. Od uzyskanego wówczas wyniku biopsji nerki zależało, czy należy zmodyfikować terapię

immunosupresyjną, czy zmiany w biopsji są na tyle zaawansowane, że nie ma już możliwości ich leczenia. W sytuacji nawrotu nefropatii, zwłaszcza kolejnego, spodziewano się, że w obrazie morfologicznym mogą być obecne zaawansowane zmiany przewlekłe w kłębuszkach, także w śródmiąższu i naczyniach. Zmiany błoniaste, współistniejące z klasą III lub IV wynikały z wieloletniego przebiegu choroby, świadczyły o przewlekłości nefropatii a nie jej aktywności. Występowały ponadto u chorych, u których wykonano kolejną biopsję nerki, a w przeszłości otrzymywali oni leki immunosupresyjne. Zastanawiający jest jednak brak rozpoznania klas "nieproliferacyjnych" w grupie 21 pacjentów, u których wykonano biopsję diagnostyczną - potwierdzającą rozpoznanie nefropatii. Może to wynikać z małej liczebności grupy. W innym badaniu z naszego ośrodka, które przedstawiało obraz morfologiczny biopsji nerek w grupie 43 pacjentów, takie rozpoznanie nefropatii było postawione u 21% badanych. Wyniki biopsji nerek opisane w tej pracy przedstawiają nieco odmienną populację chorych i krótszy okres obserwacji. Znaczny procent badanych stanowili pacjenci z wieloletnim przebiegiem choroby nerek. W przypadku wykonywania biopsji nerki u chorych z pierwszym rzutem nefropatii, obserwuje się mniej zmian przewlekłych a więcej aktywnych proliferacyjnych.

W przebiegu LN obraz zmian morfologicznych w kłębuszku nerkowym jest dosyć charakterystyczny. Dominuje rozplem komórek mezangium i współistnieje pogrubienie błony podstawnej naczyń kłębuszka, związany z odkładaniem się po obu jej stronach złogów kompleksów immunologicznych, co potwierdziły badania nasze oraz innych ośrodków klinicznych<sup>71,72</sup>. W przedstawionej grupie występowały jednak różnice, które dotyczyły częstości występowania pewnej morfologii zmian kłębuszkowych, np. obecności złogów kompleksów immunologicznych zlokalizowanych podśródbłonkowo, czyli tzw. „pętli drutu”. Uważane są one za bardzo charakterystyczny obraz aktywnej postaci LN, który występuje co najmniej w 50% biopsji u chorych z rozpoznaniem klasy IV, w około 15-20% chorych z rozpoznaniem klasy III, a także u około 15-20% w klasie V LN<sup>71,72</sup>. W badanym materiale biopsyjnym obecne były tylko u 16 pacjentów (43,24%) mimo iż aktywną postać LN obserwowano w zdecydowanej większości biopsji. W obserwacjach z naszego ośrodka w latach 2006-2011 obecność pętli drutu opisano w mniej niż 1/3 biopsji<sup>73</sup>.

Jest to prawdopodobnie wynikiem możliwości procedury. Aby jednoznacznie potwierdzić ich obecność konieczne jest badanie w mikroskopie elektronowym, którego nie wykonuje

się standardowo przy ocenie biopsji nerki u chorych z LN. Zatem nieobecność tych zmian w biopsji nerki, kiedy nie wykonano badania w mikroskopie elektronowym nie musi oznaczać, że takie zmiany nie występują. Jednak, z drugiej strony, należy wziąć pod uwagę fakt, iż większość badanych pacjentów wcześniej była poddana terapii lekami immunosupresyjnymi. Po okresie aktywnego leczenia nefropatii złogi podśródbłonkowe mogą być nieobecne. Różnice w częstości występowania złogów podśródbłonkowych w przedstawionej grupie badanych w porównaniu z badaniami z lat 2006-2011 najprawdopodobniej wynikają z faktu, iż rzadziej wówczas wykonywano badanie w EM.

W prezentowanych wynikach biopsji nerki zaobserwowano stosunkowo często występowanie półksiężyców w różnym stadium rozwoju: komórkowych, włóknisto-komórkowych, włóknistych, chociaż najczęściej były to półksiężyce komórkowe. Pojedyncze półksiężyce obserwuje się powszechnie w LN. Ich występowanie może towarzyszyć każdej klasie nefropatii, np.: III – ok.20%, klasa IV od 17% –56% czy w V – 13%.<sup>70-72,74</sup> W naszym materiale pojedyncze półksiężyce komórkowe obecne były w ponad połowie badanych biopsji (51,35%) oraz w przypadku 20 (54%) biopsji zaobserwowano obecność półksiężyców komórkowo-włóknistych i włóknistych. Natomiast u 8 chorych (21%) stwierdzano liczne półksiężyce, co oznaczało obecność około 30% kłębuszków z półksiężycami w różnej fazie rozwoju. W obserwacjach z naszego ośrodka (2006-2011) półksiężyce, zwykle pojedyncze obecne były w większości badanych biopsji<sup>73</sup>. Ponadto liczne półksiężyce obecne były aż u 28% chorych. Te różnice w obecności półksiężyców pojedynczych albo licznych w biopsji nerek pochodzących z jednego ośrodka mogą wynikać z faktu, że zbadano dwie odmienne grupy chorych. W przypadku badań prezentowanych w niniejszej pracy znaczącą grupę stanowili pacjenci z nawrotem nefropatii, którzy wcześniej otrzymywali leczenie immunosupresyjne. Zatem częściej obserwowano u nich zmiany o charakterze przewlekłym (półksiężyce włókniste, włóknisto-komórkowe) a rzadziej zmiany aktywne, jak półksiężyce komórkowe. Obecność licznych kłębuszków z półksiężycami jest ważnym czynnikiem prognostycznym, wskazującym na utrzymanie odległej funkcji nerek. Obraz kliniczny nefropatii, manifestujący się, np: ciężkim zespołem nerczycowym, obniżeniem GFR uzależniony jest

od obecności różnych zmian w biopsji nerki, ale procent kłębuszków z półksiężycami z pewnością jest czynnikiem posiadającym duże znaczenie i powinien być uwzględniany przy wyborze terapii immunosupresyjnej. EULAR i ACR zalecają, aby wybór leczenia indukcyjnego LN był uzależniony od wyniku badania histopatologicznego, rekomendując stosowanie bardziej agresywnego schematu terapeutycznego u chorych z proliferacyjnym LN, u których m.in. opisano występowanie komórkowych półksiężyców w biopsji nerki.

## 5.2. Zmiany śródmiąższowe i naczyniowe

W badanej grupie stosunkowo często obserwowano występowanie zmian śródmiąższowych przewlekłych w biopsji. Taki obraz LN najczęściej spotyka się w grupie chorych z wieloletnim przebiegiem choroby, z towarzyszącymi licznymi jej nawrotami. Przy długotrwałym przebiegu nefropatii zwraca się szczególną uwagę na morfologię zmian śródmiąższowych i naczyniowych. Badacze, którzy przedstawiali obraz zmian w biopsji nerek opisują zmiany śródmiąższowe jako obecne w zdecydowanej większości biopsji - w około 75%<sup>18,75,76</sup>. W naszym materiale biopsyjnym uzyskano podobne wyniki. Zmiany śródmiąższowe w postaci: włóknienia zrębu obecne były u 75,7% badanych a atrofii cewek w 83,8%. We wczesnych fazach nefropatii włóknienie śródmiąższu i atrofia cewek są nieznacznego stopnia, przedstawiane jako niewielki procent zmian i dopiero, kiedy włóknienie śródmiąższu przekracza 25% uwzględnia się to jako czynnik prognostyczny. W przedstawionej grupie zmiany przewlekłe występowały również u chorych, u których biopsję nerki wykonano w momencie rozpoznania choroby, przy braku jakichkolwiek danych z wywiadu wskazujących na trwający latami proces chorobowy. Ten fakt posiada ważne znaczenie terapeutyczne, gdyż chorzy z obecnością nawet niewielkich zmian aktywnych wymagają terapii immunosupresyjnej. Jest to również potwierdzeniem danych z piśmiennictwa wskazujących na bardzo wczesne zajęcie nerek w przebiegu SLE<sup>77</sup>. Wczesne zastosowanie leczenia może ograniczyć ciężkość występowania zmian przewlekłych nieodwracalnych, zatem wydłuża czas utrzymania odległej funkcji nerek. Obraz morfologiczny biopsji potwierdza jednak, że w chwili obecnej nie jesteśmy w stanie całkowicie zapobiec występowaniu zmian przewlekłych, nawet w grupie chorych, u których

wcześnie zdiagnozowano nefropatię i odpowiednio wcześniej rozpoczęto terapię.

Wg piśmiennictwa zapalenie cewkowo-śródmiąższowe jest często obserwowane w LN i może klinicznie manifestować się upośledzeniem funkcji nerek oraz rzadziej może prezentować obraz kliniczny kwasicy cewkowej. Naciek zapalny w śródmiąższu składa się głównie z limfocytów T (CD4+, CD8+), w mniejszym stopniu z limfocytów B (CD20+), które z kolei odgrywają dominującą rolę w uszkodzeniu cewek. Obecność nacieku z limfocytów T świadczy o postępie choroby, o jej przewlekłości. Naciek komórkowy, zanik cewek i włóknienie śródmiąższu są niezależnymi czynnikami prognostycznymi rozwoju i progresji przewlekłej choroby nerek w LN<sup>75</sup>.

Zmiany naczyniowe pod postacią depozytów kompleksów immunologicznych w arteriolach i drobnych tętniczkach, mikroangiopatii zakrzepowej czy waskulopatii toczniowej (martwiczego, niezapalnego uszkodzenia ściany naczynia z depozytami immunologicznymi) są opisywane w LN, choć też niestety często niezauważane przez patologów<sup>75</sup>. W grupie 37 biopsji z naszego ośrodka opisano zmiany naczyniowe pod postacią redukcji światła tętnic u 23 chorych, natomiast u 5 pacjentów opisano szkliwienie arterioli. Dotyczyły więc ponad połowy biopsji. Obecność ich ma znaczenie prognostyczne i rokownicze. Powszechnie obserwuje się u chorych z wieloletnim przebiegiem nefropatii, z towarzyszącym nadciśnieniem tętniczym i świadczy o postępującym w kierunku niewydolności charakterze choroby nerek.

Występowanie zmian w postaci mikroangiopatii zakrzepowej wraz z hiperplazją włóknistą i zanikiem niedokrwinnym kory nerki to triada objawów histopatologicznych charakterystyczna dla zespołu antyfosfolipidowego (APS)<sup>62,64</sup>. W pierwotnym APS nefropatia pojawia się u 25-30% chorych, częściej występuje w zespole towarzyszącym innym procesom chorobowym, z których SLE ma największe znaczenie. Analiza 29 publikacji obejmujących ponad 1000 chorych z SLE wykazała obecność antykoagulanta toczniowego u 34%, a przeciwciał antyfosfolipidowych (antiphospholipid antibodies, aPL) u 44% chorych<sup>78</sup>. Tektonidou i wsp. stwierdzili cechy nefropatii w przebiegu APS u blisko 40% chorych z SLE z dodatnimi aPL, natomiast tylko u 4% bez aPL<sup>79</sup>. W pracy własnej u 10 chorych występowało podwyższone miano aPL (27%) - u 6 chorych w klasie IgM, u 8



IgG. Nie wykonywano rutynowo LA u wszystkich pacjentów. W badanej grupie zaledwie u jednego pacjenta opisano w biopsji nerki ostrą mikroangiopatię zakrzepową, nasilone szkliwienie arterioli, komponent ostrej glomerulopatii niedokrwiennej związanej ze zmianami w arteriolach. W przypadku tego pacjenta stwierdzono jedynie obecność LA, przy ujemnych pc p-kardiolipinie i  $\beta$ 2-glikoproteinie. Ze względu na obraz biopsji nerki (głównie) chory otrzymał leczenie przeciwkrzepliwe.

### 5.3. Nietypowy przypadek nefropatii toczniowej

W przypadku jednej pacjentki rozpoznano nefropatię IgA. Ten typ nefropatii bardzo rzadko rozpoznaje się w LN. W badaniu IF bioptatu wspomnianej pacjentki dominowały złogi IgA i IgM, a co więcej nie towarzyszyły im złogi IgG charakterystyczne dla LN. Ponadto opisano w badaniu immunofluorescencyjnym obecność obfitych złogów C3, fibrynogenu, łańcuchów lekkich  $\lambda$  i  $\kappa$  zlokalizowanych głównie w mezangium kłębuszków oraz złogi C1q w twardniejących fragmentach pętli naczyniowej.

W piśmiennictwie opisano zaledwie kilka przypadków nefropatii IgA współistniejącej z SLE. Różniły się one jednak od opisanej pacjentki, zarówno pod względem przebiegu klinicznego, jak i obrazu histopatologicznego. W większości opisanych przypadków nie obserwowano współistnienia złogów C3 czy C1q ze złoгами IgA<sup>80-83</sup>, a których obecność stwierdzono w badaniu histopatologicznym bioptatu u pacjentki z naszego ośrodka. Obecność C3 i C1q jest charakterystyczna dla LN zdecydowanie bardziej niż nefropatii IgA. Również przebieg kliniczny choroby nerek u tej pacjentki był nietypowy dla nefropatii IgA. Duży, oporny na leczenie białkomocz i erytrocyturia rzadko są manifestacją nefropatii IgA, a sugerują raczej rozpoznanie III, IV lub V klasy LN. W przypadkach opisanych w literaturze naukowej nefropatia IgA u pacjentów z SLE manifestowała się głównie niewielkim białkomoczem i erytrocyturią oraz dobrą reakcją na leczenie inhibitorami enzymu konwertującego angiotensynę II<sup>80-83</sup>. W 2010 roku Horino i wsp. opisali przypadek pacjenta z SLE, u którego w biopsji nerki opisano II klasę LN wg ISN/RPS. W ponownej biopsji nerki, wykonanej z powodu nawrotu białkomoczu, wysunięto już podejrzenie nefropatii IgA. Autorzy zaproponowali uznanie nefropatii IgA jako podtyp LN<sup>84</sup>. W sytuacjach wykonywania kilku biopsji nerki u jednego pacjenta, np. z powodu kolejnych nawrotów nefropatii, uzyskany obraz morfologiczny danej biopsji może się różnić od poprzednich, włącznie z rozpoznaniem innej klasy LN. Podobnie można zaobserwować



pojawienie się zmian o typie nefropatii IgA, których wcześniej nie obserwowano. Wydaje się również, że częstość występowania nefropatii IgA u pacjentów z SLE może być większa niż sugeruje ilość opisanych w literaturze przypadków. W niespełna 3,5 letniej obserwacji chorych z LN prowadzonej przez badaczy w Pekinie obserwowano aż 5 przypadków nefropatii IgA<sup>82</sup>. Z kolei inni badacze uważają, iż pojawienie się nefropatii IgA u pacjenta z SLE jest wynikiem nakładania się tych dwóch patologii. Argumentują to dużą zachorowalnością na nefropatię IgA, co oznaczałoby, że w konkretnym przypadku mamy do czynienia z rozpoznaniem dwóch nefropatii: LN i nefropatii IgA<sup>80,83,85</sup>.

W literaturze opisuje się także współistnienie innych nefropatii w SLE, nie uwzględnionych przez klasyfikację międzynarodową, najczęściej są to zmiany typu wtórnej amyloidozy. Spośród 43 biopsji wykonanych w GUMed w latach 2006-2011 u pacjentów z SLE aż w dwóch przypadkach były to rozpoznania spoza klasyfikacji ISN/RNP, u jednej pacjentki rozpoznano nefropatię IgA, u kolejnej MCN. Ten typ nefropatii rzadko obserwuje się w SLE, stanowi, według doniesień naukowych < 2% rozpoznań histopatologicznych w LN. Rozpoznanie MCN może być postawione u chorego z SLE w pierwszej biopsji, na podstawie której zdiagnozowano nefropatię, ale również wykonanej podczas kolejnego nawrotu choroby i po wielu latach trwania choroby<sup>86</sup>. Na temat podocytopatii toczniowej przebiegającej z ZN, pozytywnie reagującej na leczenie steroidami, ukazało się ostatnio sporo publikacji<sup>86-88</sup>. W badaniu histopatologicznym biopsji nerki typowo nie widać patologii, natomiast rozpoznanie potwierdza badanie w ME. W mikroskopie IF nie stwierdza się złogów kompleksów immunologicznych, albo mogą być obecne jedynie w śladowej ilości w mezangium. Zwykle jednak badanie w ME potwierdza obecność złogów kompleksów immunologicznych, nawet jeśli nie były widoczne w IF. Wielu badaczy sugeruje, aby podocytopatię toczniową włączyć do klasyfikacji LN<sup>86</sup>. Nie jesteśmy obecnie w stanie jednoznacznie powiedzieć, że podocytopatia toczniowa jest nowo opisanym obrazem LN, może w jakimś stopniu być wynikiem wieloletniego leczenia immunosupresyjnego. Jednak należy zwrócić uwagę, że coraz częściej opis biopsji nerki u chorego z LN rozszerza się o badanie w ME, wyłącznie w którym takie zmiany można uwidocznić.

#### 5.4. Badanie w mikroskopie immunofluorescencyjnym (IF)

Badanie w IF potwierdziło obecność dużej ilości złogów kompleksów immunologicznych, zawierających: IgG, łańcuchy lekkie immunoglobulin typu  $\kappa$  lub  $\lambda$  oraz składowe C3 i C1q dopełniacza, występujących w zdecydowanej większości (około 80%) badanych. Znacznie rzadziej stwierdzono obecność złogów IgA i IgM (około 40% biopsji), obecne zwykle w śladowej ilości. Według danych z piśmiennictwa złogi IgA i IgM wstępują u 60-70% badanych<sup>89</sup>. Natomiast złogi IgG obecne są w 75- 90% biopsji u chorych z LN, podobnie jak zaobserwowano w niniejszej pracy<sup>89</sup>.

Złogi kompleksów immunologicznych, zawierających C1q uznawane są za typowe dla obrazu LN oraz uważane są za bardzo dobry wskaźnik zmian proliferacyjnych w kłębuszku nerkowym. W prezentowanej w pracy grupie chorych obecne były w 78,4 % badanych, podobnie obserwowano w pracach innych badaczy – około 80%<sup>90</sup>. Wg danych z piśmiennictwa złogi C3 występują w około 90%<sup>89,90</sup>, w naszych badania były obecne w 84% biopsji. Obecność złogów C1q wzdłuż błony podstawnej współistniejących ze złogami IgG i C3 jest bardzo charakterystycznym obrazem klasy V LN, potwierdzającym jej rozpoznanie. W badanym materiale klinicznym w grupie 9 pacjentów, u których obserwowano zmiany typu klasy V u 8 były obecne złogi C1q. W przypadku jednej pacjentki, trudno ocenić, gdyż w preparacie do badania IF nie było kłębuszków nerkowych. Obecność wszystkich klas immunoglobulin wraz z C3, C4 i C1q składowymi dopełniacza, nazywana powszechnie „*full house*” występuje od 25%<sup>18</sup> do nawet 60% chorych.<sup>90</sup> W niniejszej pracy ten typ zmian dotyczył jedynie 7 badanych (18,9%). Te odmienności w obrazie IF biopsji nerek w naszym materiale klinicznym w porównaniu z danymi z piśmiennictwa, prawdopodobnie wynikają z faktu, iż większość prac opisujących zmiany morfologiczne w biopsji nerki w LN podaje dane dotyczące biopsji diagnostycznych, wykonywanych w momencie rozpoznania nefropatii i zwykle przed rozpoczęciem leczenia immunosupresyjnego. Są to głównie prace sprzed kilkunastu lat, kiedy dostępność leków immunosupresyjnych była zdecydowanie mniejsza niż obecnie. Leki takie, jak: cyklofosfamid, mykofenolan mofetilu, cyklosporyna stosowano w wybranych przypadkach klinicznych, najczęściej w zespołach nerczycowych. Przyjmowanie wcześniej leków

immunosupresyjnych może wpływać na obraz morfologiczny biopsji nerki u chorych z aktywną nefropatią. Podczas kolejnego nawrotu nefropatii w biopsji nerki u tego samego chorego możemy obserwować odmienny obraz morfologiczny w porównaniu z biopsją wykonaną w momencie rozpoznania choroby, czyli zwykle przed rozpoczęciem agresywnej immunosupresji. Zwłaszcza obraz w badaniu IF może prezentować się odmiennie. Obecność złogów kompleksów immunologicznych może być mniejsza niż obserwowano w biopsji diagnostycznej. Więcej też widuje się złogów podnabłonkowych wzdłuż błony podstawnej, typowych dla błoniastej LN. Z drugiej strony należy zauważyć, że obraz w badaniu IF uzależniony jest od ciężkości nawrotu nefropatii. W przypadku chorego, który po latach choroby układowej prezentuje ciężki nawrót LN, z ZN i pogorszeniem GFR, w obrazie biopsji nerki będzie można zaobserwować większą ilość złogów kompleksów immunologicznych w porównaniu do biopsji diagnostycznej przy obecności niewielkich zmian w moczu. Dlatego wielu badaczy stale podkreśla konieczność wykonywania biopsji nerki u chorych z objawami aktywnej nefropatii, nie tylko w momencie jej rozpoznania, ale także przy kolejnym nawrocie.

#### 5.5. Badania immunologiczne – a biopsja nerki

Według wielu badaczy pc anty-C1q są dobrym markerem rozwoju proliferacyjnej formy LN. W badaniach własnych w oparciu o obraz biopsji nerki prawie u wszystkich pacjentów (97,3%) postawiono rozpoznanie proliferacyjnej formy LN (klasa III lub IV, z albo bez współistniejącej klasy V), jednak tylko u 65% były obecne we krwi przeciwciała antyC1q. Mniej niż wykazało to wielu autorów: 89% wg Sinico<sup>92</sup>, wg Zhu Chen 75%<sup>93</sup>, wg Marto 74%<sup>42</sup>, wg Moroni 70,5%<sup>94</sup> czy Trendelenburga aż 97,2%<sup>95</sup>. W przedstawionych badaniach nie wykazano korelacji pomiędzy obecnością tych przeciwciał a procentem kłębuszków z półksiężycami komórkowymi (także z procentem kłębuszków z wszystkimi półksiężycami), AI czy CI. Wg niektórych badaczy stężenie tych przeciwciał koreluje z aktywnością LN z czułością 44-100% i swoistością 70-92%<sup>53,96,97</sup>. Część badaczy dowodzi, iż przeciwciała antyC1q u chorych na SLE wykazują ujemną korelację ze stężeniem C3 i C4 w surowicy i ich obecność może wskazywać na cięższy

przebieg i zajęcie nerek przez proces chorobowy<sup>98</sup>. W naszych badaniach związku tych przeciwciał z wymienionymi parametrami nie obserwowano, co może być wynikiem liczebności grupy badanej. Jednak należy zauważyć, że postać proliferacyjną LN obserwowano u większości badanych. Dlatego wydaje się, że rola tych przeciwciał w nefropatii jest jeszcze mało poznana. W opisanych badaniach wykazano dodatnią korelację pc anti-C1q z obecnością pc anti-dsDNA. W wielu innych doniesieniach zaobserwowano podobną zależność<sup>22,99-102</sup>. Pojedyncze badania jednak nie potwierdzają takiego związku<sup>54</sup>. Obserwując zależność pomiędzy występowaniem pc anti-dsDNA i anti-C1q Flierman i wsp. postawili tezę tłumaczącą udział pc anti-C1q w patogenezie KZN<sup>40</sup>. Również wyniki uzyskane przez Trouw i wsp. na modelach zwierzęcych mogą potwierdzać opisaną poniżej hipotezę<sup>103,104</sup>. Pc anti-dsDNA, pojawiające się w surowicy chorego, prawdopodobnie sprzyjają formowaniu się kompleksów immunologicznych, które następnie odkładane są w kłębuszkach nerkowych. W kolejnym etapie składowa C1q przyłącza się do wcześniej powstałego kompleksu potęgując aktywację układu dopełniacza i nasilając zapoczątkowany uprzednio przez kompleksy immunologiczne proces zapalny. Jako efekt powyżej opisanego procesu jest rozwój LN, z następowym pojawieniem się zmian w moczu. Moura i wsp. sugerują, iż prawdopodobieństwo wystąpienia LN w przypadku ujemnych pc anti-C1q w surowicy jest niewielkie, w związku z czym ich rutynowe oznaczanie mogłoby doprowadzić do zmniejszenia ilości wykonywanych biopsji u chorych na SLE<sup>105</sup>. Natomiast Gunnarson i wsp. wykazali ich obecność tylko u 11 z 18 pacjentów (61,1%) z aktywną formą LN<sup>47</sup>. Wynik ten zbliżony jest do naszych obserwacji. Podobnie do naszych badań Katsumata i wsp. nie wykazali korelacji miana pc anti-C1q z aktywną formą LN<sup>47,52</sup>. Zhang i wsp. oraz Oelzner i wsp. nie zaobserwowali istotnego związku pomiędzy wykrywaniem pc anti-C1q w surowicy chorych na SLE a wystąpieniem LN w przebiegu choroby<sup>99,101</sup>. Moroni i wsp. obserwując pacjentów ze SLE przez okres 6 lat wykazali, iż pc anti-C1q są lepszym markerem wystąpienia proliferacyjnej formy LN niż obniżone C3, C4 czy pc anti-dsDNA<sup>106</sup>. W naszych badaniach zaobserwowaliśmy, przeciwnie do tego co przedstawiła Moroni, iż poziom C3 okazał się lepszym markerem aktywności nefropatii niż poziom pc anti-C1q.

Stężenie C3 korelowało z procentem kłębuszków z półksiężycami komórkowymi, ze wszystkimi obecnymi półksiężycami (łącznie) oraz, co warto jest podkreślenia - ze wskaźnikiem AI. W przypadku naszych badań stężenie C3 w momencie wykonywania biopsji nerki okazało się najlepszym markerem odzwierciedlającym stopień zaawansowania histopatologicznego LN. W stosunku do składowej C4 dopełniacza nie wykazano takich zależności.

W badaniu własnym u ponad połowy pacjentów (56,7%) występowały dodatkowo przeciwciała anti-C1q jak i anti-dsDNA. Xiao-wei Yang wykazał obecność obu typów przeciwciał u 54 spośród 136 chorych z LN (39,7%), czyli w zdecydowanie mniejszej grupie chorych. Obserwował natomiast w tej grupie pacjentów wyższy AI<sup>107</sup>. Badania własne nie potwierdziły tej zależności.

Pc anti-dsDNA generalnie uważane są za wskaźnik powikłań nerkowych SLE. Chociaż istnieją badania, które nie potwierdziły tej tezy. Uważa się, że u 20-30% pacjentów z aktywną postacią LN nie występują pc anti-dsDNA. W przedstawionych badaniach obecność tych przeciwciał stwierdzono u 81,1% chorych, pomimo iż u prawie wszystkich potwierdzono rozpoznanie aktywnej nefropatii. Podobnie zaobserwowała Moroni i wsp., która obecność pc anti-dsDNA stwierdziła u 77,5% pacjentów z aktywnym LN<sup>94</sup>.

W przedstawionym badaniu wykazano korelację pc anti-dsDNA z procentem kłębuszków z półksiężycami komórkowymi, włóknistymi i włóknisto-komórkowymi łącznie. Nie wykazano natomiast korelacji tych przeciwciał z AI czy CI oraz klasą nefropatii. Z kolei Xiao-wei Yang i wsp. wykazali korelację tych przeciwciał z nasileniem zmian histopatologicznych w nerkach, takich jak: rozplam wewnątrzkapilarny, infiltracja leukocytów czy obecność złogów podśródbłonkowych oraz AI<sup>107</sup>.

Interpretacja poziomu immunoglobulin u chorych z LN jest trudna, gdyż obok nadprodukcji związanej z autoagresją, następuje utrata tych białek z moczem jako wynik uszkodzenia bariery filtracyjnej kłębuszka nerkowego. W pracy wykazano zależność między poziomem IgG w surowicy a ilością półksiężyców komórkowych oraz AI.

Badanie poziomu IgG jest tanie i w pewien sposób pomocne w ocenie ciężkości zespołu

nerczycowego. Stosunkowo niski poziom IgG w surowicy (obniżony czy prawidłowy, ale przy dolnej granicy wartości referencyjnych) może świadczyć z jednej strony o uszkodzeniu błony podstawnej kłębuszka, czyli nasileniu zmian błoniastych w biopsji. Z drugiej strony może wskazywać na dłuższy czas trwania zespołu nerczycowego. Mimo swojej prostoty i dostępności, poszukiwanie zależności między poziomem immunoglobulin w surowicy a zmianami w nerkach w LN nie było powszechnie badane i przedstawione w literaturze. Znane są prace, w których oceniano wydalanie IgG z moczem jako marker nasilenia zmian w pierwotnym błoniastym kłębuszkowym zapaleniu nerek. Wykazano zależność między stężeniem wydalanej IgG z moczem a ryzykiem progresji niewydolności nerek oraz odpowiedzią na leczenie. Wydalanie IgG powyżej 250mg/24h stanowi negatywny czynnik rokowniczy<sup>108</sup>. Posiada też wpływ na wybór leczenia immunosupresyjnego. Czy podobna zależność może dotyczyć chorych z klasą V LN wymaga dalszych badań.

#### 5.6. Nowe markery aktywności nefropatii toczniowej

Z uwagi iż biopsja nerki, pozostająca złotym standardem diagnostycznym, jest metodą inwazyjną i nie zawsze możliwą do wykonania, istnieją prace mające na celu poszukiwanie wiarygodnych biomarkerów oznaczanych zarówno w osoczu, jak i moczu, które byłyby pomocne w rozpoznaniu LN, jak i przewidywaniu wystąpienia zaostrzeń, czy ocenie skuteczności leczenia. W poniższej tabeli przedstawiono ich zestawienie.

Tabela 5.1 Biomarkery nefropatii toczniowej wg Moka<sup>109</sup>

Biomarkery korelujące z aktywnością LN w badaniach prospektywnych
a) uMCP-1 – białko chemotaktyczne dla monocytów typu-1 w moczu,
b) uNGAL – lipokalina neutrofilowa połączona z żelatyną w moczu,
c) TWEAK – TNF podobny induktor apoptozy,
d) białka zawarte w moczu o masie 2,7–133 kD (transferyna, α1-kwaśna glikoproteina, ceruloplazmina, lipokalinopodobna D-syntetaza prostaglandynowa, hepcydyna,
e) autoprzeciwciała: przeciwciała anty-C1q, przeciwciała przeciwko nukleosomom, przeciwciała przeciwko α-aktynie (podocyty, komórki mezangialne).

Biomarkery korelujące z aktywnością LN w badaniach przekrojowych
a) biomarkery stwierdzone w osoczu: przeciwciała przeciwko MAGE-B2 (melanoma – associated antigen B2), przeciwciała przeciw CRP, IL-12, przeciwciała antyendotelialne, inne (apo CIII, ICAM-1), b) biomarkery stwierdzone w moczu: osteoprotegeryna, ekspresja FOX P3 mRNA, endotelina-1, IL-12, inne (ICAM-1, P-selektyna, TGFβ-1).
Biomarkery korelujące z klasą histologiczną LN
a) ↑ nitraty w osoczu – proliferacyjna LN, b) ekspresja MCP-1 w kłębuszkach nerkowych (klasa III, IV), c) ekspresja β1 integryny na kom. T – aktywna rozlana postać LN proliferacyjnej, d) przeciwciała przeciw rybosomalnemu białku P (anty-P) – klasa V.
Biomarkery korelujące z niekorzystną prognozą w LN
a) mEPCR (membrane expression of endothelial protein C receptor) w biopsji nerki, b) ekspresja VEGF (vascular endothelial growth factor), c) ekspresja MCP-1 w kłębuszkach nerkowych, d) inne (nitraty w osoczu, STAT-1 w biopsji nerki).

Część z wyżej wymienionych markerów jak: NGAL czy MCP-1 zalicza się do biomarkerów wyprzedzających zaostrenie choroby. Pc anty-P stanowią obiekt zainteresowania wielu badaczy jako marker czystej klasy V LN. Jednoczesne wykrycie pc anty-dsDNA i anty-P u chorego z SLE może zapowiadać pojawienie się zmian proliferacyjnych w klasie V LN. Stężenie w surowicy TNF- $\alpha$ , rozpuszczalnego receptora dla TNF- $\alpha$ , IL-6, receptora dla IL-6, rozpuszczalnego VCAM-I wykazuje współzależność z wystąpieniem LN. Należy jednak zwrócić uwagę, iż oznaczenia wspomnianych biomarkerów były wykonane na małych grupach chorych oraz wymagają dalszych badań na większych grupach pacjentów z LN<sup>109</sup>.



## 6. PODSUMOWANIE

LN może prezentować bardzo różnorodny obraz kliniczny i podobnie można obserwować bardzo różnorodny obraz morfologiczny w biopsji nerki. Badanie bioptatu nerki jest konieczne, aby potwierdzić rozpoznanie nefropatii, ale jednocześnie ocenić jej aktywność, nasilenie procesów przewlekłych, co bezpośrednio przekłada się na wybór leczenia immunosupresyjnego. Jedynie biopsja nerki daje nam możliwość postawienia prawidłowego rozpoznania nefropatii. Większość przypadków biopsji nerki nie budzi wątpliwości i daje dokładne rozpoznanie poszczególnej klasy LN. Zawsze jednak istnieje grupa chorych, u których obraz morfologiczny w biopsji nie jest charakterystyczny, zatem postawienie precyzyjnego rozpoznania jest trudne lub niemożliwe. Badania immunologiczne są pomocne w ocenie aktywności choroby, ale nie zastąpią wykonywania biopsji nerki, jak na razie. Nie oznacza to jednak, że stan immunologiczny chorego nie ma znaczenia przy wyborze terapii immunosupresyjnej. Możemy mieć świadomość, że obniżenie stężenia C3, C4, wysokie stężenia pc anty-dsDNA, pc anty-C1q, niski poziom IgG pośrednio mogą świadczyć o ciężkości nefropatii. U chorych z aktywną immunologicznie chorobą częściej w biopsji nerki obserwuje się zmiany aktywne, jak: półksiężycy komórkowe, proliferację mezangium, złogi podśródbłonkowe. Na podstawie badań własnych możemy sugerować, że także prostsze oznaczenia, jak poziom IgG czy C3 w surowicy dobrze korelują ze zmianami obecnymi w biopsji nerki, więc pośrednio odzwierciedlają nasilenie procesu aktywnego w nerkach. W odniesieniu do tych markerów wykazano również korelacje z klinicznymi wykładnikami nefropatii takimi jak: białkomocz (C3, IgG) czy erytrocyturia (C3). Zależności takich nie wykazano w odniesieniu do pc anty-dsDNA i anty-C1q. Wykazana w badaniu własnym zależność pomiędzy stężeniem pc anty-dsDNA w surowicy z anty-C1q oraz z poziomem C3 może potwierdzać mechanizm immunologiczny wystąpienia zmian w nerkach w przebiegu SLE. Przy obecnym stanie wiedzy, jaki posiadamy na temat rozwoju oraz przebiegu klinicznego LN możemy potwierdzić, że podczas wyboru odpowiedniego dla pacjenta leczenia immunosupresyjnego należy wziąć pod uwagę kilka aspektów łącznie: obraz kliniczny nefropatii, obraz morfologiczny biopsji nerki oraz stan immunologiczny chorego w danym momencie choroby.



## 7. WNIOSKI

1. U pacjentów z rozpoznaniem nefropatii toczniowej istnieje zależność pomiędzy wskaźnikami aktywności immunologicznej choroby układowej oraz parametrami aktywności klinicznej nefropatii.
2. Obecność wskaźników aktywności immunologicznej choroby: obniżone stężenie składowej C3 dopełniacza i podwyższone stężenie przeciwciał anti-dsDNA może wskazywać na aktywny proces immunologiczny w nerce.
3. U pacjentów z podwyższonym stężeniem przeciwciał anti-dsDNA oraz obniżonym stężeniem składowej C3 dopełniacza i obniżonym stężeniem IgG w surowicy częściej obserwuje się występowanie półksiężyców w biopsji nerki.
4. W badanej grupie chorych nie zaobserwowano związku pomiędzy obecnością przeciwciał anti-C1q w surowicy a występowaniem zmian aktywnych w biopsji nerki, co wymaga prowadzenia dalszych badań.
5. Spośród badanych parametrów immunologicznych stężenie składowej C3 dopełniacza okazało się najlepszym wskaźnikiem obecności aktywnych zmian w biopsji nerki.
6. Zależność pomiędzy stężeniami przeciwciał anti-dsDNA i anti-C1q oraz stężeniem C3 może potwierdzać mechanizm immunologiczny rozwoju nefropatii w przebiegu SLE.

## 8. PIŚMIENICTWO

1. Alarcón-Segovia, D. The pathogenesis of immune dysregulation in systemic lupus erythematosus. A troika. *J. Rheumatol.* **11**, 588–590 (1984).
2. Pons-Estel, G. J., Alarcón, G. S., Scofield, L., Reinlib, L. & Cooper, G. S. Understanding the Epidemiology and Progression of Systemic Lupus Erythematosus. *Semin. Arthritis Rheum.* **39**, 257–268 (2010).
3. Lee, H.-S. & Bae, S.-C. What can we learn from genetic studies of systemic lupus erythematosus? Implications of genetic heterogeneity among populations in SLE. *Lupus* **19**, 1452–1459 (2010).
4. Moulton, V. R. & Tsokos, G. C. Why do women get lupus? *Clin. Immunol.* **144**, 53–56 (2012).
5. Mccarty, D. J. *et al.* Incidence of systemic lupus erythematosus race and gender differences. *Arthritis & Rheumatism* **38**, 1260–1270 (1995).
6. Bossingham, D. Systemic lupus erythematosus in the far north of Queensland. *Lupus* **12**, 327–331 (2003).
7. Segasothy, M. & Phillips, P. A. Systemic lupus erythematosus in Aborigines and Caucasians in central Australia: a comparative study. *Lupus* **10**, 439–444 (2001).
8. D’Cruz, D. P., Khamashta, M. A. & Hughes, G. R. V. Systemic lupus erythematosus. *Lancet* **369**, 587–596 (2007).
9. Gryglewicz, J. *et al.* *Toczeń rumieniowaty układowy w Polsce.* (2012).
10. Zandman-Goddard, G., Solomon, M., Rosman, Z., Peeva, E. & Shoenfeld, Y. Environment and lupus-related diseases. *Lupus* **21**, 241–250 (2012).
11. Jędryka-Góral, A. The role of environmental factors in the etiology of systemic lupus erythematosus. *Reumatologia/Rheumatology* **1**, 26–30 (2013).
12. Mok, C. C. Pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *J. Clin. Pathol.* **56**, 481–

490 (2003).

13. Edwards, C. J. & James, J. A. Making lupus: a complex blend of genes and environmental factors is required to cross the disease threshold. *Lupus* **15**, 713–714 (2006).
14. Hochberg, M. C. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* **40**, 1725 (1997).
15. Petri, M. *et al.* Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* **64**, 2677–2686 (2012).
16. Bastian, H. M. *et al.* Systemic lupus erythematosus in three ethnic groups. XII. Risk factors for lupus nephritis after diagnosis. *Lupus* **11**, 152–160 (2002).
17. Korbet, S. M., Schwartz, M. M., Evans, J., Lewis, E. J. & Collaborative Study Group. Severe lupus nephritis: racial differences in presentation and outcome. *J. Am. Soc. Nephrol.* **18**, 244–254 (2007).
18. Cameron, J. S. Lupus nephritis. *J. Am. Soc. Nephrol.* **10**, 413–424 (1999).
19. Giannico, G. & Fogo, A. B. Lupus nephritis: is the kidney biopsy currently necessary in the management of lupus nephritis? *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* **8**, 138–145 (2013).
20. Faurschou, M., Starklint, H., Halberg, P. & Jacobsen, S. Prognostic factors in lupus nephritis: diagnostic and therapeutic delay increases the risk of terminal renal failure. *J. Rheumatol.* **33**, 1563–1569 (2006).
21. Bihl, G. R., Petri, M. & Fine, D. M. Kidney biopsy in lupus nephritis: look before you leap. *Nephrol. Dial. Transplant* **21**, 1749–1752 (2006).
22. Smykał-Jankowiak, K., Niemir, Z. I. & Polcyn-Adamczak, M. Do circulating antibodies against C1q reflect the activity of lupus nephritis? *Pol. Arch. Med. Wewn.* **121**, 287–295 (2011).

23. Wagrowska-Danilewicz, M. & Niemir, Z. I. Pathomorphological assessment of renal biopsy specimens: principles and directions for clinicians. *Pol. Merkur. Lekarski* **28**, 61–65 (2010).
24. Amann, K. What you should know about the work-up of a renal biopsy. *Nephrol. Dial. Transplant* **21**, 1157–1161 (2006).
25. Hahn, B. H. *et al.* American College of Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis. *Arthritis Care Res.* **64**, 797–808 (2012).
26. Weening, J. J. *et al.* The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited. *Kidney Int.* **65**, 521–530 (2004).
27. Niemir, Z. I. & Wagrowska-Danilewicz, M. [Renal involvement in systemic lupus erythematosus]. *Pol. Merkur. Lekarski* **28**, 144–151 (2010).
28. Hałoń, A. Zmiany w nerkach w toczniu rumieniowatym układowym i innych chorobach autoimmunologicznych. *Pol. J. Pathol.* 2011 **1**, suppl **1**, 57–71 (2011).
29. Austin, H. A. & Illei, G. G. Membranous lupus nephritis. *Lupus* **14**, 65–71 (2005).
30. McClusky, R. T. in *Kidney pathology decennial 1966-1975* (ed. Sommers Sc East Norwalk) 435–450 (1975).
31. Churg, J., Bernstein, J. & Glassock, R. J. *Renal Disease: Classification and Atlas of Glomerular Diseases*. (Igaku-Shoin Medical Pub, 1995).
32. Pollak, V. E., Pirani, C. L. & Schwartz, F. D. The natural history of renal manifestations of systemic lupus erythematosus. *J. Lab. Clin. Med.* **63**, 537–550 (1964).
33. Morel-Maroger, L. *et al.* The course of lupus nephritis: contribution of serial renal biopsies. *Adv. Nephrol. Necker Hosp.* **6**, 79–118 (1976).
34. Sherer, Y., Gorstein, A., Fritzler, M. J. & Shoenfeld, Y. Autoantibody explosion in systemic lupus erythematosus: more than 100 different antibodies found in SLE

- patients. *Semin. Arthritis Rheum.* **34**, 501–537 (2004).
35. Cozzani, E., Drosera, M., Gasparini, G. & Parodi, A. Serology of Lupus Erythematosus: Correlation between Immunopathological Features and Clinical Aspects. *Autoimmune Dis.* **2014**, 321359 (2014).
36. Isenberg, D. A., Manson, J. J., Ehrenstein, M. R. & Rahman, A. Fifty years of anti-dsDNA antibodies: are we approaching journey's end? *Rheumatology* **46**, 1052–1056 (2007).
37. Bertias, G. K. *et al.* Joint European League Against Rheumatism and European Renal Association–European Dialysis and Transplant Association (EULAR/ERA-EDTA) recommendations for the management of adult and paediatric lupus nephritis. *Ann. Rheum. Dis.* **71**, 1771–1782 (2012).
38. Bootsma, H. *et al.* Prevention of relapses in systemic lupus erythematosus. *Lancet* **345**, 1595–1599 (1995).
39. Conti, F. *et al.* Systemic Lupus Erythematosus with and without Anti-dsDNA Antibodies: Analysis from a Large Monocentric Cohort. *Mediators Inflamm.* **2015**, 328078 (2015).
40. Flierman, R. & Daha, M. R. Pathogenic role of anti-C1q autoantibodies in the development of lupus nephritis—a hypothesis. *Mol. Immunol.* **44**, 133–138 (2007).
41. Walport, M. J. Complement and systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res.* **4 Suppl 3**, S279–93 (2002).
42. Marto, N., Bertolaccini, M. L., Calabuig, E., Hughes, G. R. V. & Khamashta, M. A. Anti-C1q antibodies in nephritis: correlation between titres and renal disease activity and positive predictive value in systemic lupus erythematosus. *Ann. Rheum. Dis.* **64**, 444–448 (2005).
43. Uwatoko, S. *et al.* Characterization of C1q-binding IgG complexes in systemic lupus erythematosus. *Clin. Immunol. Immunopathol.* **30**, 104–116 (1984).

44. Trendelenburg, M. Antibodies against C1q in patients with systemic lupus erythematosus. *Springer Semin. Immunopathol.* **27**, 276–285 (2005).
45. Seelen, M. A., Trouw, L. A. & Daha, M. R. Diagnostic and prognostic significance of anti-C1q antibodies in systemic lupus erythematosus. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* **12**, 619–624 (2003).
46. Siegert, C., Daha, M., Westedt, M. L., van der Voort, E. & Breedveld, F. IgG autoantibodies against C1q are correlated with nephritis, hypocomplementemia, and dsDNA antibodies in systemic lupus erythematosus. *J. Rheumatol.* **18**, 230–234 (1991).
47. Gunnarsson, I. *et al.* Association between ongoing anti-C1q antibody production in peripheral blood and proliferative nephritis in patients with active systemic lupus erythematosus. *Rheumatology* **36**, 32–37 (1997).
48. Marder, R. J., Burch, F. X., Schmid, F. R., Zeiss, C. R. & Gewurz, H. Low molecular weight C1q-precipitins in hypocomplementemic vasculitis-urticaria syndrome: partial purification and characterization as immunoglobulin. *J. Immunol.* **121**, 613–618 (1978).
49. Siegert, C. E. *et al.* Predictive value of IgG autoantibodies against C1q for nephritis in systemic lupus erythematosus. *Ann. Rheum. Dis.* **52**, 851–856 (1993).
50. Siegert, C. E. H., Daha, M. R., Swaak, A. J. G., van der Voort, E. A. M. & Breedveld, F. C. The Relationship between Serum Titers of Autoantibodies to C1q and Age in the General Population and in Patients with Systemic Lupus Erythematosus. *Clin. Immunol. Immunopathol.* **67**, 204–209 (1993).
51. Horák, P. *et al.* C1q complement component and -antibodies reflect SLE activity and kidney involvement. *Clin. Rheumatol.* **25**, 532–536 (2006).
52. Katsumata, Y. *et al.* Anti-C1q antibodies are associated with systemic lupus

- erythematosus global activity but not specifically with nephritis: a controlled study of 126 consecutive patients. *Arthritis Rheum.* **63**, 2436–2444 (2011).
53. Moroni, G. *et al.* Anti-C1q antibodies may help in diagnosing a renal flare in lupus nephritis. *Am. J. Kidney Dis.* **37**, 490–498 (2001).
54. Meyer, O. C. *et al.* Anti-C1q antibodies antedate patent active glomerulonephritis in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res. Ther.* **11**, R87 (2009).
55. Appel, G. B., Radhakrishnan, J. a. i. & D'Agati, V. D. in *Brenner and B.M. The Kidney* 1350–1365 (Sanders Philadelphia, 2000).
56. Wilson, W. A. *et al.* International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. *Arthritis Rheum.* **42**, 1309–1311 (1999).
57. Miyakis, S. *et al.* International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J. Thromb. Haemost.* **4**, 295–306 (2006).
58. Hughes, G. R., Harris, N. N. & Gharavi, A. E. The anticardiolipin syndrome. *J. Rheumatol.* **13**, 486–489 (1986).
59. Więcek, A. & Zarzecki, M. Nerkowe aspekty zespołu antyfosfolipidowego. *Nephrol. Dial. Transplant* **12**, 104–107 (2008).
60. Uthman, I. & Khamashta, M. Antiphospholipid syndrome and the kidneys. *Semin. Arthritis Rheum.* **35**, 360–367 (2006).
61. Cervera, R., Espinosa, G. & Khamashta, M. *Antiphospholipid Syndrome in Systemic Autoimmune Diseases*. (Elsevier, 2016).
62. Fakhouri, F. *et al.* The expanding spectrum of renal diseases associated with antiphospholipid syndrome. *Am. J. Kidney Dis.* **41**, 1205–1211 (2003).
63. Vlachoyiannopoulos, P. G., Kanellopoulos, P., Tektonidou, M. & Moutsopoulos, H. M.

- Renal involvement in antiphospholipid syndrome. **16**, 60–62 (2001).
64. Moroni, G. *et al.* Antiphospholipid antibodies are associated with an increased risk for chronic renal insufficiency in patients with lupus nephritis. *Am. J. Kidney Dis.* **43**, 28–36 (2004).
  65. Redondo-Pachón, M. D. *et al.* Minimal-change nephropathy in systemic lupus erythematosus. *Nefrologia* **32**, 412–413 (2012).
  66. Hertig, A., Droz, D., Lesavre, P., Grünfeld, J.-P. & Rieu, P. SLE and idiopathic nephrotic syndrome: Coincidence or not? *Am. J. Kidney Dis.* **40**, 1179–1184 (2002).
  67. Elliot, V., Cairns, T. & Cook, H. T. Evolution of lesions over 10 years in a patient with SLE: flowchart approach to the new International Society of Nephrology (ISN)/Renal Pathology Society (RPS) classification of lupus nephritis. *Am. J. Kidney Dis.* **47**, 184–190 (2006).
  68. Mittal, B., Rennke, H. & Singh, A. K. The role of kidney biopsy in the management of lupus nephritis. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* **14**, 1–8 (2005).
  69. Yokoyama, H., Okuyama, H. & Yamaya, H. Clinicopathological insights into lupus glomerulonephritis in Japanese and Asians. *Clin. Exp. Nephrol.* **15**, 321–330 (2011).
  70. Yu, F. *et al.* Clinicopathological characteristics and outcomes of patients with crescentic lupus nephritis. *Kidney Int.* **76**, 307–317 (2009).
  71. Najafi, C. C. *et al.* Significance of histologic patterns of glomerular injury upon long-term prognosis in severe lupus glomerulonephritis. *Kidney Int.* **59**, 2156–2163 (2001).
  72. Schwartz, M. M., Korbet, S. M., Lewis, E. J. & Collaborative Study Group. The prognosis and pathogenesis of severe lupus glomerulonephritis. *Nephrol. Dial. Transplant* **23**, 1298–1306 (2008).
  73. Taszner, K., Bułło-Piontecka, B., Wołyniec, W., Perkowska-Ptasińska, A. & Rutkowski, B. Morfologia zmian w biopsji nerki u pacjentów z rozpoznaniem nefropatii toczniowej.



- Nefrol. Dial. Pol.* **17**, 96–102 (2013).
74. Korbet, S. M., Schwartz, M. M. & Lewis, E. J. in *Oxford Textbook of Clinical Nephrology* 650–655 (2015).
75. Giannakakis, K. & Faraggiana, T. Histopathology of lupus nephritis. *Clin. Rev. Allergy Immunol.* **40**, 170–180 (2011).
76. Yu, F. *et al.* Tubulointerstitial lesions of patients with lupus nephritis classified by the 2003 International Society of Nephrology and Renal Pathology Society system. *Kidney Int.* **77**, 820–829 (2010).
77. Zabaleta-Lanz, M. *et al.* Silent nephritis in systemic lupus erythematosus. *Lupus* **12**, 26–30 (2003).
78. Love, P. E. Antiphospholipid Antibodies: Anticardiolipin and the Lupus Anticoagulant in Systemic Lupus Erythematosus (SLE) and in Non-SLE Disorders. *Ann. Intern. Med.* **112**, 682 (1990).
79. Tektonidou, M. G., Sotsiou, F., Nakopoulou, L., Vlachoyiannopoulos, P. G. & Moutsopoulos, H. M. Antiphospholipid syndrome nephropathy in patients with systemic lupus erythematosus and antiphospholipid antibodies: prevalence, clinical associations, and long-term outcome. *Arthritis Rheum.* **50**, 2569–2579 (2004).
80. Kobak, S., Hudaverdi, O., Keser, G. & Oksel, F. Coexistence of systemic lupus erythematosus, Hashimoto's thyroiditis and IgA nephropathy in the same patient. *Mod. Rheumatol.* **21**, 89–91 (2011).
81. Corrado, A., Quarta, L., Di Palma, A. M., Gesualdo, L. & Cantatore, F. P. IgA nephropathy in systemic lupus erythematosus. *Clin. Exp. Rheumatol.* **25**, 467–469 (2007).
82. Hongyan, L., Yi, Z., Bao, D., Yuwu, L. & Juan, M. A study on clinical and pathologic features in lupus nephritis with mainly IgA deposits and a literature review. *Clin. Dev.*

- Immunol.* **2013**, 289316 (2013).
83. Basile, C. *et al.* IgA nephropathy in a patient with systemic lupus erythematosus. *Nephrol. Dial. Transplant* **13**, 1891–1892 (1998).
84. Horino, T., Takao, T. & Terada, Y. IgA nephropathy in a patient with systemic lupus erythematosus. *Lupus* **19**, 650–654 (2010).
85. Fujikura E. *et al.* [IgA nephropathy in the patient with systemic lupus erythematosus in remission]. *Nihon Naika Gakkai Zasshi* **91**, 3282–3284 (2002).
86. Paramalingam, S., Wong, D. D., Dogra, G. K. & Nossent, J. C. Recurrent podocytopathy in a patient with systemic lupus erythematosus. *SAGE Open Medical Case Reports* **5**, 2050313X1769599 (2017).
87. Hu, W. X. *et al.* Glucocorticoid with or without additional immunosuppressant therapy for patients with lupus podocytopathy: a retrospective single-center study. *Lupus* **24**, 1067–1075 (2015).
88. Kurien, A. A., Chaudhury, A. R., Rajarajan, T., Yousuf, R. & Fernando, E. Lupus podocytopathy: An important differential diagnosis of nephrotic syndrome in systemic lupus erythematosus. *Indian J. Nephrol.* **26**, 284 (2016).
89. Dimitrijević, J. *et al.* Lupus nephritis: histopathologic features, classification and histologic scoring in renal biopsy. *Vojnosanit. Pregl.* **59**, 21–31 (2002).
90. Nossent, H., Berden, J. & Swaak, T. Renal immunofluorescence and the prediction of renal outcome in patients with proliferative lupus nephritis. *Lupus* **9**, 504–510 (2000).
91. Jennette, J. C., Charles Jennette, J., Iskandar, S. S., Dalldorf, F. G. & Jennette, J. C. Pathologic differentiation between lupus and nonlupus membranous glomerulopathy. *Kidney Int.* **24**, 377–385 (1983).
92. Sinico, R. A. *et al.* Anti-C1q autoantibodies in lupus nephritis: prevalence and clinical significance. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1050**, 193–200 (2005).

93. Chen, Z., Wang, G.-S., Wang, G.-H. & Li, X.-P. Anti-C1q antibody is a valuable biological marker for prediction of renal pathological characteristics in lupus nephritis. *Clin. Rheumatol.* **31**, 1323–1329 (2012).
94. Moroni, G. *et al.* The value of a panel of autoantibodies for predicting the activity of lupus nephritis at time of renal biopsy. *J Immunol Res* **2015**, 106904 (2015).
95. Trendelenburg, M. *et al.* High prevalence of anti-C1q antibodies in biopsy-proven active lupus nephritis. *Nephrol. Dial. Transplant* **21**, 3115–3121 (2006).
96. Siegert *et al.* Autoantibodies against C1q: view on clinical relevance and pathogenic roles. *Clin. Exp. Immunol.* **116**, 04–08 (1999).
97. Trendelenburg, M., Marfurt, J., Gerber, I., Tyndall, A. & Schifferli, J. A. Lack of occurrence of severe lupus nephritis among anti-C1q autoantibody-negative patients. *Arthritis Rheum.* **42**, 187–188 (1999).
98. Smykał-Jankowiak, K. & Niemir, Z. I. [Structure and function of complement protein C1q and its role in the development of autoimmune diseases]. *Postepy Hig. Med. Dosw.* **63**, 134–141 (2009).
99. Oelzner, P. *et al.* Anti-C1q antibodies and antiendothelial cell antibodies in systemic lupus erythematosus - relationship with disease activity and renal involvement. *Clin. Rheumatol.* **22**, 271–278 (2003).
100. Akhter, E., Burlingame, R. W., Seaman, A. L., Magder, L. & Petri, M. Anti-C1q antibodies have higher correlation with flares of lupus nephritis than other serum markers. *Lupus* **20**, 1267–1274 (2011).
101. Zhang, C.-Q. *et al.* Anti-C1q antibodies are associated with systemic lupus erythematosus disease activity and lupus nephritis in northeast of China. *Clin. Rheumatol.* **30**, 967–973 (2011).
102. Mok, C. C., Ho, L. Y., Leung, H. W. & Wong, L. G. Performance of anti-C1q,

- antinucleosome, and anti-dsDNA antibodies for detecting concurrent disease activity of systemic lupus erythematosus. *Transl. Res.* **156**, 320–325 (2010).
103. Trouw, L. A. *et al.* Glomerular deposition of C1q and anti-C1q antibodies in mice following injection of antimouse C1q antibodies. *Clin. Exp. Immunol.* **132**, 32–39 (2003).
104. Trouw, L. A. *et al.* Anti-C1q autoantibodies in murine lupus nephritis. *Clin. Exp. Immunol.* **135**, 41–48 (2004).
105. Guerreiro de Moura, C. G., de Moura, C. G. G., Manguiera, C. L. P., Cruz, L. A. S. & Cruz, C. M. S. Negative Anti-C1q Antibody Titers May Influence Therapeutic Decisions and Reduce the Number of Renal Biopsies in Systemic Lupus Erythematosus. *Nephron Clin. Pract.* **118**, c355–c360 (2011).
106. Moroni, G. *et al.* Are laboratory tests useful for monitoring the activity of lupus nephritis? A 6-year prospective study in a cohort of 228 patients with lupus nephritis. *Ann. Rheum. Dis.* **68**, 234–237 (2009).
107. Yang, X.-W., Tan, Y., Yu, F. & Zhao, M.-H. Combination of anti-C1q and anti-dsDNA antibodies is associated with higher renal disease activity and predicts renal prognosis of patients with lupus nephritis. *Nephrol. Dial. Transplant* **27**, 3552–3559 (2012).
108. Branten, A. J. W. & J.W. Branten, A. Urinary Excretion of 2-Microglobulin and IgG Predict Prognosis in Idiopathic Membranous Nephropathy: A Validation Study. *J. Am. Soc. Nephrol.* **16**, 169–174 (2004).
109. Mok, C. C. Biomarkers for lupus nephritis: a critical appraisal. *J. Biomed. Biotechnol.* **2010**, 638413 (2010).

## 9. SPIS TABEL I RYCIN

Tabela 1.1 Kryteria rozpoznania SLE według ACR z 1982, po modyfikacji z 1997	11
Tabela 1.2 Kryteria klasyfikacji toczenia rumieniowatego układowego wg SLICC z 2012. Kryteria kliniczne	12
Tabela 1.3 Kryteria klasyfikacji toczenia rumieniowatego układowego wg SLICC z 2012. Kryteria immunologiczne	13
Tabela 1.4 Klasyfikacja nefropatii toczniowej według WHO (po modyfikacji w 1995)	18
Tabela 1.5. Klasyfikacja nefropatii toczniowej według ISN/RPS z 2004	19
Tabela 1.6 Ocena indeksu aktywności w nefropatii toczniowej	20
Tabela 1.7 Ocena indeksu przewlekłości w nefropatii toczniowej	21
Tabela 1.8 Przeciwciała obecne w toczniu rumieniowatym układowym i ich przydatność diagnostyczna	23
Tabela 1.9 Postacie kliniczne zajęcia nerek w zespole antyfosfolipidowym	29
Tabela 3.1 Charakterystyka badanych pacjentów w momencie wykonania biopsji nerki	33
Tabela 3.2 Ocena punktowa wielkości erytrocyturii	36
Tabela 4.1 Wyniki badań laboratoryjnych w momencie wykonania biopsji nerki	39
Tabela 4.2 Wyniki badań immunologicznych w momencie wykonania biopsji nerki	40
Tabela 4.3 Wyniki badania biopsyjnego nerki	42
Tabela 4.4 Charakterystyka pacjenta z rozpoznaniem nefropatii IgA w biopsji nerki	42
Tabela 4.5 Morfologia zmian kłębuszkowych w biopsji nerek w badanej grupie	44
Tabela 4.6 Morfologia zmian śródmiąższowych i naczyniowych w biopsji nerkek w badanej grupie	45
Tabela 4.7 Obraz biopsji nerek w mikroskopie immunofluorescencyjnym	46
Tabela 4.8 Wskazania do biopsji nerki a wybrane parametry biochemiczne	47

Tabela 4.9 Wskazania do biopsji a wyniki badań immunologicznych: ocena przeciwciał	48
Tabela 4.10 Wskazania do biopsji a wyniki badań immunologicznych: ocena C3, C4, IgG	48
Tabela 4.11 Wyniki badań laboratoryjnych, immunologicznych i histopatologicznych w zależności od klasy LN	49
Tabela 4.12 Wybrane parametry biochemiczne, immunologiczne i histopatologiczne w zależności od obecności przeciwciał anti-dsDNA	51
Tabela 4.13 Wybrane parametry biochemiczne, immunologiczne i histopatologiczne w zależności od obecności przeciwciał anti C1q	52
Tabela 4.14 Wybrane parametry biochemiczne, immunologiczne i histopatologiczne w zależności od obecności przeciwciał anti C1q i anti-dsDNA	54
Tabela 4.15 Wyniki badania korelacji poziomu przeciwciał anti-dsDNA z wybranymi parametrami biochemicznymi i immunologicznymi	55
Tabela 4.16 Wyniki badania korelacji poziomu przeciwciał anti-C1q z wybranymi parametrami biochemicznymi i immunologicznymi	56
Tabela 4.17 Wyniki badania korelacji pomiędzy stężeniem C3 w surowicy a wybranymi parametrami biochemicznymi i immunologicznymi	57
Tabela 4.18 Wyniki badania korelacji pomiędzy stężeniem IgG w surowicy a wybranymi parametrami biochemicznymi i immunologicznymi	58
Tabela 4.19 Wyniki badania korelacji poziomu przeciwciał anti-dsDNA z wybranymi parametrami histopatologicznymi	59
Tabela 4.20 Wyniki badania korelacji poziomu przeciwciał anti-C1q z wybranymi parametrami histopatologicznymi	60
Tabela 4.21 Wyniki badania korelacji stężenia C3 w surowicy z wybranymi parametrami histopatologicznymi	61
Tabela 4.22 Wyniki badania korelacji stężenia IgG w surowicy z wybranymi parametrami histopatologicznymi	62
Tabela 4.23 Wyniki badania korelacji pomiędzy obecnością złogów C1q w biopsji nerki a wybranymi parametrami biochemicznymi i immunologicznymi	63
Tabela 4.24 Wyniki badania korelacji pomiędzy obecnością złogów C3 w biopsji nerki z wybranymi parametrami biochemicznymi i immunologicznymi	64
Tabela 4.25 Wyniki badania korelacji obecności zmian mezangialnych w	65

biopsji nerki z wybranymi parametrami biochemicznymi i immunologicznymi	
Tabela 4.26 Wyniki badania korelacji obecności zmian błoniastych w biopsji nerki z wybranymi parametrami biochemicznymi i immunologicznymi	65
Tabela 5.1 Biomarkery nefropatii toczniowej wg Moka	78
Rycina 4.1 Współzależność pomiędzy poziomem przeciwciał anti-dsDNA i stężeniem C3 w badanej grupie	56
Rycina 4.2 Współzależność pomiędzy poziomem przeciwciał anti-dsDNA i anti-C1q w badanej grupie	56
Rycina 4.3 Współzależność pomiędzy stężeniem C3 a wielkością DWB w badanej grupie	57
Rycina 4.4 Współzależność pomiędzy stężeniem C3 a wielkością Ecyt w badanej grupie	57
Rycina 4.5 Współzależność pomiędzy wielkością DWB a stężeniem IgG w surowicy w badanej grupie	58
Rycina 4.6 Współzależność pomiędzy poziomem przeciwciał anti-dsDNA a ilością kłębuszków z półksiężycami komórkowymi, komórkowo-włóknistymi i włóknistymi w badanej grupie	60
Rycina 4.7 Współzależność pomiędzy stężeniem C3 w surowicy a wielkością AI w badanej grupie	61
Rycina 4.8 Współzależność pomiędzy stężeniem C3 a ilością kłębuszków z półksiężycami komórkowymi w badanej grupie	62
Rycina 4.9 Współzależność pomiędzy stężeniem C3 a ilością kłębuszków z półksiężycami komórkowymi, komórkowo-włóknistymi i włóknistymi w badanej grupie	62
Rycina 4.10 Współzależność pomiędzy ilością złogów C1q a ilością złogów C3 w biopsji nerek w badanej grupie	64
Rycina 4.11 Współzależność pomiędzy obecnością zmian błoniastych w biopsji nerek a wielkością DWB w badanej grupie	66
Rycina 4.12 Współzależność pomiędzy obecnością zmian błoniastych w biopsji nerek a stężeniem białka całkowitego w badanej grupie	66

## 10. STRESZCZENIE

Toczeń rumieniowaty układowy (systemic lupus erythematosus, SLE) jest układową chorobą tkanki łącznej o zróżnicowanym obrazie klinicznym, charakteryzującą się zajęciem wielu narządów oraz przebiegającą z okresami remisji i zaostrzeń. Autoprzeciwciała skierowane przeciwko antygenom jądra komórkowego, cytoplazmatycznym oraz błony komórkowej, których opisano ponad 116 typów, stanowią centralny punkt w patogenezie SLE. U 60-80% pacjentów z SLE rozwija się nefropatia toczniowa (lupus nephritis, LN). Jest ona ciężkim powikłaniem choroby oraz istotnym czynnikiem zwiększającym śmiertelność w tej grupie. Biopsja nerki jest podstawowym badaniem diagnostycznym umożliwiającym zakwalifikowanie zmian w kłębuszkach do odpowiedniej klasy LN, a także pozwalającym na uzyskanie informacji o aktywności nefropatii oraz zaawansowaniu procesu chorobowego.

Celem głównym podjętych badań było poszukiwanie zależności pomiędzy obrazem morfologicznym biopsji nerki u pacjentów z rozpoznaniem LN a stanem immunologicznym badanych w momencie jej wykonywania. Ponadto przeprowadzono szczegółową analizę obrazu morfologicznego biopsji nerki oraz wyników badań immunologicznych badanych pacjentów.

Materiał kliniczny stanowiła grupa 37 chorych z rozpoznaną nefropatią w przebiegu SLE, u których wykonano biopsję nerki w latach 2009-2015 w Klinice Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. W badanej grupie było 29 kobiet i 8 mężczyzn w wieku od 18 do 66 lat, średni wiek wynosił  $35,43 \pm 11,22$  lat. Rozpoznanie LN postawiono na podstawie obecności zmian w moczu: proteinurii  $> 0,5$  g na dobę i/lub erytrocyturii  $> 5$  erytrocytów w polu widzenia w badaniu osadu moczu oraz wyniku biopsji nerki.

W momencie wykonania biopsji nerki u wszystkich badanych obserwowano podwyższone miano ANA Hep-2, u 81,1% dodatkowo pc anti-dsDNA, a u 64,9% pc anti-C1q. Obniżony poziom C3 stwierdzono u 83,8% badanych. Na podstawie uzyskanego obrazu biopsji nerki rozpoznano szereg różnorodnych zmian morfologicznych LN. Klasę IV



ISN/RPS stwierdzono u większości badanych (62,2%), III ISN/RPS - 10,8%, u 13,5% badanych obserwowano współistnienie klasy IV i V, a u 10,8% opisano współistnienie klasy III + V. W przypadku 1 pacjentki postawiono rozpoznanie nefropatii IgA. W obrazie LN dominowały zmiany mezangialne (73% pacjentów) oraz błoniaste (54,1%). U 32,4% badanych występowały złogi podnabłonkowe oraz u 43,2% zlokalizowane podśródbłonkowo. Ponadto często stwierdzano obecność półksiężyców, głównie komórkowych - 56,8%. Zmiany przewlekłe były obecne w większości biopsji. Najczęściej były to zmiany w postaci pojedynczych, całkowicie (31 pacjentów), bądź częściowo (26 pacjentów) stwardniałych kłębuszków oraz w 54% biopsji opisano obecność półksiężyców komórkowo-włóknistych i włóknistych. Obraz biopsji nerek w IF również przedstawiał się bardzo niejednolicie: najczęściej uwidoczniano złogi łańcuchów lekkich immunoglobulin (86%), C3 (84%), IgG (81%) oraz C1q (78%), zlokalizowanych w mezangium i wzdłuż błony podstawnej kłębuszka.

Kolejnym etapem badań było poszukiwanie zależności pomiędzy wskaźnikami aktywności klinicznej nefropatii a wskaźnikami aktywności immunologicznej choroby układowej oraz obrazem morfologicznym biopsji nerki. Jako wskaźniki aktywności nefropatii oceniano: DWB, erytrocyturię, stężenie kreatyniny i wielkość eGFR. Stężenia pc anti-dsDNA, anti-C1q, C3 i C4 oraz IgG stanowiły parametry aktywności immunologicznej choroby. W obrazie morfologicznym biopsji nerek wzięto pod uwagę: AI, CI, procent półksiężyców komórkowych, procent wszystkich typów półksiężyców. Wykazano istotne statystycznie korelacje między stężeniem pc anti-dsDNA a stężeniem C3 ( $r = -0,43$ ;  $p = 0,0075$ ) oraz pc anti-C1q ( $r = 0,36$ ;  $p = 0,028$ ). Obserwowano znamienne statystycznie zależność pomiędzy stężeniem C3 a wielkością DWB ( $r = -0,53$ ;  $p = 0,001$ ) i erytrocyturii ( $r = -0,36$ ;  $p = 0,029$ ). Ponadto stężenie C3 korelowało znamienne statystycznie ze wskaźnikiem AI ( $r = -0,58$ ;  $p = 0,0002$ ) oraz procentem półksiężyców w biopsji nerki ( $r = -0,50$ ;  $p = 0,002$ ). Ponadto zaobserwowano statystycznie znamienne zależności pomiędzy stężeniem IgG w surowicy a wielkością DWB ( $r = -0,36$ ;  $p = 0,027$ ) oraz AI ( $r = -0,39$ ;  $p = 0,0195$ ) i procentem kłębuszków z półksiężycami komórkowymi ( $r = -0,34$ ;  $p = 0,039$ ).

Na podstawie uzyskanych wyników badań można sugerować, że u pacjentów z rozpoznaniem LN istnieje zależność pomiędzy wskaźnikami aktywności immunologicznej choroby układowej a parametrami aktywności klinicznej nefropatii. Obecność wskaźników aktywności immunologicznej choroby: obniżone stężenie C3 i podwyższone stężenie pc anty-dsDNA może wskazywać na aktywny proces immunologiczny w nerce.

Zależność pomiędzy stężeniami przeciwciał: anty-dsDNA i anty-C1q oraz stężeniem C3 może potwierdzać mechanizm immunologiczny rozwoju nefropatii w przebiegu SLE.

## 11. SUMMARY

Title: “ Correlation between morphological changes in kidney biopsy and disease activity indices in patients with lupus nephritis.”

Systemic lupus erythematosus (SLE) is a systemic connective tissue disease characterized by multiple organ involvement and progression with remissions and exacerbations. Autoantibodies directed against antigens of the cytoplasmic nucleus and cell membrane, which have been described in more than 116 types, comprise the central point in the pathogenesis of SLE. More than half (60-80%) of SLE patients develop lupus nephritis (LN). This serious complication of the disease is an important factor contributing to mortality. Kidney biopsy is a basic diagnostic test to classify glomerular lesions into the appropriate class of LN, as well as to provide information on nephropathy and disease progression.

The main objective of the study was to find the correlation between the morphological changes in renal biopsy in LN patients and the immunological condition at the time of kidney biopsy.

In addition, a detailed analysis of morphological changes in kidney biopsy and patients' immunological test results was performed.

Clinical material comprised 37 patients with diagnosed nephropathy in the course of SLE who underwent renal biopsies in 2009-2015 in the Department of Nephrology, Transplantology, and Internal Medicine of Medical University of Gdansk. In the study group, 29 women and 8 men aged 18 to 66 years were included; the average age was  $35.43 \pm 11.22$  years. The diagnosis of LN was based on the presence of urinary changes: proteinuria  $>0.5$  g/day and/or haematuria  $>5$  erythrocytes in high-power field and kidney biopsy.

At the moment of kidney biopsy, all patients had elevated ANA Hep-2 titer. In 81.1%, positive anti-dsDNA was detected, and in 64.9%, anti-C1q antibodies were observed.

A lowered C3 level was found in 83.8% of the subjects. Imaging of kidney biopsies revealed many different morphological changes of LN. Class IV ISN/RPS was found in most subjects (62.2%), with III ISN/RPS in 10.8%. In 13.5% of the subjects, coexistence of

class IV and V was observed, while in 10.8% coexistence of class III and V was found. One female patient was diagnosed with IgA nephropathy. Mesangial (73% of patients) and membranous (54.1%) changes were predominant in LN. In 32.4% of patients, subepithelial deposits were found and 43.2% had subendothelial deposits.

In addition, the presence of crescents (mainly cellular, 56.8%) was frequently determined. Chronic changes were present in most biopsies. Most often, they were lesions in single, totally (31 patients), or partially (26 patients) sclerosed glomeruli, and 54% of the biopsies revealed the presence of fibrocellular and fibrous crescents.

The biopsy immunofluorescence pattern was atypical. The light chain immunoglobulin deposit (86%), complement components C3 (84%), C1q (78%), and IgG (81%) were located in the mesangium and basement membrane of capillaries.

The next stage of the study was to search for correlation between clinical activity indices of nephropathy and immunopathic activity indices of the systemic disease, as well as the morphology of renal biopsy. As indicators of nephropathy activity, the following were assessed: proteinuria, erythrocyturia, creatinine concentration, and glomerular filtration rate volume. Antibodies anti-dsDNA, anti-C1q, complement components C3 and C4, and IgG concentrations comprised the parameters of immunological activity of the disease. In the morphological picture of kidney biopsy, the following were taken into account: activity index; chronicity index; percentage of cellular crescents; and percentage of cellular, fibrous, and fibrocellular crescents.

Statistically significant correlations among anti-dsDNA antibodies and C3 concentration ( $r = -0,43$ ;  $p = 0,0075$ ) and anti-C1q antibodies ( $r = 0,36$ ;  $p = 0,028$ ) were determined.

The statistically significant relationship among C3 concentration and proteinuria ( $r = -0,53$ ;  $p = 0,001$ ) and erythrocyturia ( $r = -0,36$ ;  $p = 0,029$ ) was observed. In addition, C3 concentration correlated in a statistically significant way with activity index ( $r = -0,58$ ;  $p = 0,0002$ ) and percentage of crescents in kidney biopsy ( $r = -0,50$ ;  $p = 0,002$ ).

Furthermore, statistically significant correlations among serum IgG concentration and proteinuria ( $r = -0,36$ ;  $p = 0,027$ ), Activity Index ( $r = -0,39$ ;  $p = 0,0195$ ), and percentage of cellular crescents in kidney biopsy ( $r = -0,34$ ;  $p = 0,039$ ) were observed.

On the basis of the study results, it can be presumed that in LN patients there is a

correlation between parameters of immunological activity of systemic disease and clinical manifestations of nephropathy.

The presence of immunological activity parameters, such as reduced C3 concentration and elevated anti-dsDNA antibody levels, may indicate immunological activity occurring in the kidney.

The correlations among anti-dsDNA and anti-C1q antibodies and component complement C3 concentration may confirm the immunological mechanism of nephropathy development in SLE.