

© Дубовик В.Ю., 2019

doi: 10.37321/nephrology.2019.25-04

УДК 616.78

## БІОПСІЯ НИРОК – ВАЖЛИВИЙ ІНСТРУМЕНТ ДІАГНОСТИКИ, ЛІКУВАННЯ ТА ВИЗНАЧЕННЯ ПРОГНОЗУ ПАЦІЄНТІВ З ЛЮПУС-НЕФРИТОМ

В.Ю. ДУБОВИК

Кафедра пропедевтики внутрішньої медицини №2  
Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, Київ

### Резюме.

**Вступ.** Ураження нирок при системному червоному вовчаку (СЧВ) може варіювати від легкого до важкого і виникає у 50%-70% хворих, частіше розвивається на 2-3 році життя. Перкутанна біопсія нирок є золотим стандартом для діагностики ЛН відповідно до класифікації ВООЗ ще з 1974 р. Мета. Розкрити значення біопсії нирок для діагностики та визначення прогнозу.

**Матеріал і методи.** Огляд сучасних та зарубіжних літературних джерел; методики – опис, аналіз, реферування.

**Результати.** Люпус-нефрит (ЛН) має різноманітні морфологічні прояви з різними клінічними ознаками та наслідками. Хоча повідомлень про клінічне застосування класифікації біопсії нирок при ЛН багато, досліджень, що оцінюють її достовірність поки недостатня кількість. Біопсія нирок при ЛН погано інтерпретується, що викликає серйозні сумніви щодо її обґрунтованості та клінічного застосування, оскільки це може призвести до серйозних помилок у діагностиці, лікуванні та визначенні прогнозу.

**Висновок.** Молекулярний аналіз біоптату стане ключем для персоналізованого підходу підбору препаратів при ЛН. Молекулярна характеристика ураження нирок, наявна при ЛН, надасть необхідні доповнення для більш точної класифікації захворювання, прогнозування результатів та подальшого застосування нових терапевтичних засобів.

**Ключові слова:** люпус-нефрит, повторна біопсія нирок, гістологія, молекулярний аналіз, прогноз.

**Вступ.** Прогностично несприятливі фактори ризику розвитку термінальної стадії хронічної ниркової недостатності (ХНН) у хворих з люпус-нефритом (ЛН) поділяються на дві групи [1]:

1. **Ниркові:** порушення ниркової функції у дебюті СЧВ, затримка призначення імуносупресивної терапії на 2 роки, відсутність повної ремісії під час лікування, наявність рецидивів ЛН;
2. **Позаниркові:** чоловіча стать, гематологічні прояви (тромбоцитопенія, лейкопенія), персистуюча гіпокомplementемія, молодий вік на момент встановлення діагнозу, підвищений рівень антитіл до нативної ДНК після початку лікування, наявність антифосфоліпідних антитіл.

Крім того, розвиток термінальної хвороби нирок найвірогідніший у афроамериканців та латиноамериканців. Також на поганий прогноз впливають низький соціально-економічний статус, низька комплаєнтність та супутні захворювання (артеріальна гіпертензія, цукровий діабет) [3].

**Мета.** Розкрити значення біопсії нирок для діагностики та визначення прогнозу.

**Матеріал і методи.** Огляд сучасних та зарубіжних літературних джерел; методики – опис, аналіз, реферування.

**Результати.** Предикторами поганого прогнозу є неможливість нормалізувати рівень креатиніну сироватки крові та знизити протеїнурію до <1 г/добу протягом перших 6 міс лікування. Якщо під час лікування не вдається знизити рівень креатиніну до <2 мг/дл, то це вказує на високий ризик прогресування термінальної хвороби нирок [3].

Застосування імунофлуоресценції та електронної мікроскопії для оцінки біопсії нирок є вагомим внеском для вивчення патогенезу ЛН. Незважаючи на оновлення класифікації, важко точно передбачити відповідь на лікування або визначити довгостроковий прогноз, опираючись на результати біопсії. Частково це може бути пов'язано з тим, що основні молекулярні механізми ураження є досить неоднорідними при такому захворюванні, як СЧВ [11].

Показання до біопсії нирок при СЧВ [3]:

1. Підвищення рівня сироваткового креатиніну без альтернативного пояснення;
2. Підтверджена протеїнурія  $\geq 1$  г за добу;
3. Протеїнурія  $\geq 0,5$  г за добу у поєднанні з гематурією або наявністю зернистих циліндрів.

International Society of Neurology та Renal Pathology Society (ISN/RPS) оновили класифікацію ВООЗ, в якій IV клас розділений на сегментарний (IV-S) і глобулярний (IV-G) нефрит. Також доповнена підкласифікація у класах III і IV, яка означає «активні» вогнища (A), «хронічні» вогнища (C) або наявність обох варіантів (A/C).

Гістологічна характеристика зразка при біопсії нирок використовується для визначення тяжкості та прогнозу захворювання у пацієнта з ЛН. Також біопсію використовують з метою виключення інших форм ураження нирок. Однак знання гістологічного варіанту ураження нирок може додати мало клінічно значимої інформації у доповнення до результатів клінічних лабораторних обстежень.

Варто пам'ятати, що біопсія нирок відображає тільки те, що відбувається з нирками на даний момент. У деяких пацієнтів з ЛН задокументований перехід від одного патологічного класу в інший, однак цього не спостерігається у 40% пацієнтів, які отримують лікування.

У заключення біоптату морфолог включає індекс активності захворювання, що також відображає хронізацію процесу. За останніми даними, використання цього індексу не дає точного прогнозу, тому сьогодні такі підрахунки не використовуються. Не дивлячись на це, опис гістологічних змін, що відображають хронізацію і активність, корисна при описі біоптату нирок. Ознаки фіброзу вказують на хронічні рубцеві зміни, які можуть не відповідати терапії.

Гістологічними ознаками хронічного процесу є: гломерулярний склероз, фіброзні півмісяці, фіброзні адгезії та інтерстиціальний фіброз. На активність процесу вказують клітинна проліферація, фібриноідний некроз, клітинні півмісяці, гіалінові тромби. На основі класифікації ВООЗ можна зробити висновок, що з поганим прогнозом корелюють ознаки високої активності та хронізації при біопсії нирок [3].

Деякі клінічні дослідження показали високу негативну прогностичну цінність анти-C1q. Біоптати нирок пацієнтів з ЛН були досліджені на наявність анти-C1q. Всього було досліджено біоптати 38 пацієнтів, які відповідали  $\geq 4$  критеріям ACR, з них 36 пацієнтів мали проліферативний нефрит (II, III, IV клас), а двоє – нефрит V класу. 35 з 36 пацієнтів з проліферативним нефритом були позитивними щодо анти-C1q (97,2%). Також виявлене значне зниження анти-C1q під час

успішного лікування, що підтверджує кореляцію даного показника з активністю процесу [16].

Постає питання про доцільність проведення повторної біопсії нирок. У 64 пацієнтів була проведена повторна біопсія за клінічними показаннями в період з січня 2012 року по грудень 2016 року. Порівняно клінічні та гістологічні параметри при початковій та повторній біопсії та проведено регресійний аналіз для визначення факторів, що впливають на довгостроковий прогноз. У 56% досліджуваних повторну біопсію виконали під час рецидиву, а в 44% випадків дослідження виконане у зв'язку з резистентністю до лікування. 9 (17%) з 53 пацієнтів з проліферативним нефритом мали гістологічне підтвердження переходу в непроліферативну форму ураження, тоді як 2 з 11 (18,2%) з непроліферативним ураженням перейшли у проліферативну форму. При повторній біопсії ендокапілярна проліферація та фібриноідний некроз зменшились, тоді як гломерулосклероз та інтерстиціальний фіброз/канальцева атрофія (ІФКА) зросли ( $P < 0,001$ ). Згідно з даними другої біопсії, у 84% пацієнтів було змінено терапію. Спостереження становило в середньому 38,6 місяців (22-76 місяців) від першої біопсії. Відповідь на індукційну терапію, наявність ІФКА  $\geq 25\%$  та гострого некрозу канальців при першій біопсії були незалежними факторами прогнозу довгострокового результату. У висновках даного дослідження показано, що клінічна відповідь після індукційної терапії та наявність ІФКА  $\geq 25\%$  на першій біопсії є незалежними прогностичними факторами довгострокового результату. Таким чином, повторне виконання біопсії нирок рекомендоване [7].

Стандартні клінічні та лабораторні параметри мають обмежені прогностичні значення для диференціювання активного ЛН та хронічного ураження. У дослідженні [5] проводили другу біопсію нирок наприкінці підтримуючої фази терапії. 77 пацієнтів лікувалися протягом 8,7 років (5,3-10,1 років). Ниркова виживаність становила 93% у випадку повної ремісії, 69% при частковій ремісії і 41% – без ремісії. Третина пацієнтів з частковою ремісією та 14% хворих без ремісії не мали гістологічних доказів активного захворювання при виконанні другої біопсії. Індекс активності є прогнозом виживання при виконанні другої біопсії, але не при першій. 10-річна виживаність нирок становила 100% для осіб з індексом активності 0; 80% – для осіб з індексом активності 1-2; 44% – для осіб з індексом  $> 2$ , незалежно від ремісії. Таким чином, друга біопсія нирки в кінці підтримуючої терапії є важливим діагностичним та прогностичним інструментом.

У іншому дослідженні [11] з 270 підтверджених біопсією хворих на ЛН у 66 (24%) пацієнтів було проведено повторну біопсію. Класи ЛН були визначені згідно з класифікацією Міжнародного товариства нефрології (ISN) 2003р., тубулоінтер-

стиціальна патологія оцінювалась за допомогою переглянутої напівкількісної системи оцінок Остіна. Перехід класів ЛН від проліферативних (III та IV) до непроліферативних класів (II та V) спостерігався рідко ( $n = 4$ ; 7,7%), тоді як непроліферативна форма часто трансформувалась у проліферативну ( $n = 12$ ; 63,2%) та мала більше шансів для призначення агресивної імуносупресивної терапії ( $P = 0,040$ ). Біохімічні або серологічні зміни не могли передбачити таких гістопатологічних змін. Оцінка тубулоінтерстиціального ураження зростає від  $2,69 \pm 2,03$  до  $3,78 \pm 2,03$  при повторній біопсії ( $P = 0,001$ ). Рівні креатиніну в сироватці корелюють зі ступенем атрофії канальців за еталоном ( $r = 0,33$ ,  $P = 0,048$ ), при повторній біопсії ( $r = 0,56$ ,  $P < 0,001$ ), та з інтерстиціальним рубцюванням ( $r = 0,60$ ,  $P < 0,001$ ). Більш сильне інтерстиціальне запалення при еталонній біопсії асоціювалося з розвитком інтерстиціального рубцювання на повторних біопсіях ( $r = 0,385$ ,  $P = 0,009$ ).

Повторна біопсія нирок є важливим інструментом для ведення пацієнтів, особливо у випадках дебюту II або V класу. Хоча переходи класів неможливо передбачити за клінічними параметрами, рівень креатиніну в сироватці крові корелює зі ступенем пошкодження тубулоінтерстицію [11].

Варто зазначити про найважчий тип ураження нирок – ЛН з півмісяцевими відкладаннями (пЛН). З метою вивчення клінічних та лабораторних характеристик пЛН порівняно з типом без півмісяцевих відкладань, проведено дослідження [4] протягом періоду 2006-2014 рр., у яке включено 69 пацієнтів з СЧВ та проведеною нирковою біопсією (клас I-VI ISN/RPS): 59 (85,5%) жінок та 10 (14,5%) чоловіків із середнім віком  $30 \pm 10,8$  років. Їх поділили на 2 групи: групу 1 (без пЛН) та групу 2 (з пЛН). Порівняно з групою ЛН без півмісяців, пЛН характеризувався вищим вмістом креатиніну в сироватці крові ( $219 \pm 192$  проти  $107,2 \pm 67$  ммоль/л) і більшою протеїнуриєю ( $5,2 \pm 4,9$  проти  $3,45 \pm 4,7$  г/добу). ANA позитивний лише у 40% пЛН, більше пацієнтів мають анти-dsDNA  $>240$  (52,6 проти 47,5%) при ЛН без півмісяців. Пацієнти з ЛН без півмісяців частіше досягають ремісії. пЛН частіше відповідає IV класу і асоціюється з поганим прогнозом. Встановлено, що досягнення ремісії пропорційно відсотку півмісяців у біоптаті. Таким чином, відсоток півмісяців у майбутньому повинен бути включений до класифікації ЛН, оскільки він має прогностичну значимість.

Алайя та його колеги провели дослідження [12] з метою диференціації класу IV-G від класу IV-S ЛН на молекулярному рівні, а потім співвіднесли молекулярні відмінності з клінічними параметрами та довгостроковими результатами. Попередні дослідження не змогли клінічно віддиференціювати клас IV-S від класу IV-G [9, 10]. Метою їх роботи є вирішення суперечок щодо того, чи є

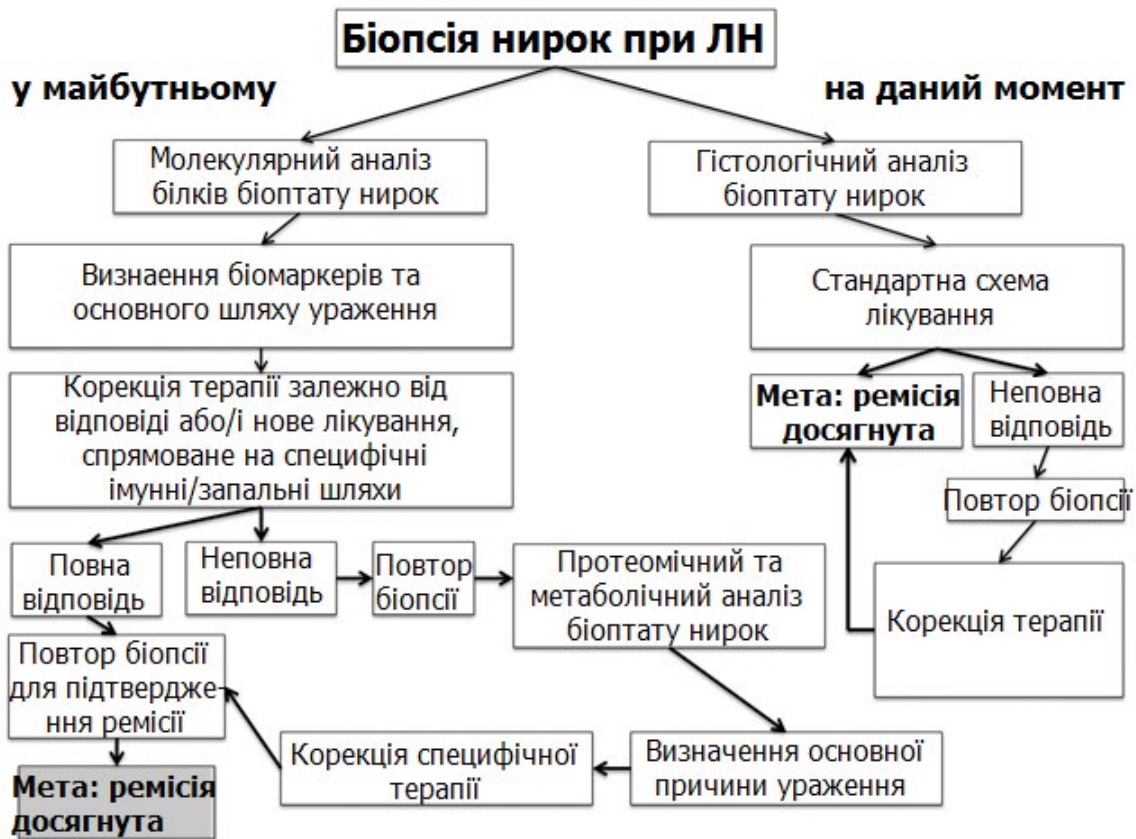
IV-S та IV-G класи різними станами, які потребують різного лікування. Відмінностей у протеомах класу IV-S та класу IV-G не було виявлено.

Розроблені протоколи для молекулярного аналізу нирок за допомогою використання технології Nanostring (Nanostring Technologies, Seattle, WA) для створення стенограм. Nanostring – це чутливий інструмент аналізу експресії генів, який використовує молекулярні «штрих-коди», які безпосередньо гібридизуються до цільових молекул з їх подальшим підрахунком.

У дослідженні Алайї [12] ниркову кору використовували для протеомічного аналізу без розмежування кіркового та мозкового шарів. Оскільки кора становить 90% тубулоінтерстицію, протеомічний аналіз в основному відображає інтерстиціальну експресію білка; деталі експресії клубочкового білка, вірогідно, були замасковані. Це може пояснити, чому клубочкові ураження класів IV-G та IV-S мають схожі профілі експресії білка. Метод мікродисекції лазерного захоплення (LCM) для виділення конкретних відсіків з подальшою мас-спектрометрією може надати молекулярну характеристику окремих відділів.

Незважаючи на те, що всі пацієнти в цьому дослідженні гістологічно відповідали ЛН класу III або IV, спостерігалось значне відхилення показників стенограм у пацієнтів. Цікаво, що експресія гену, пов'язана з фіброзом, була збільшена у всіх клубочках в межах окремої нирки незалежно від того, чи всі клубочки демонстрували гломерулосклероз [13]. Між гістологією та базовою молекулярною патологією існує розбіжність. Таким чином, лише молекулярний аналіз біоптату стане ключем для персоналізованого підходу підбору препаратів при ЛН. Схема ілюструє тактику використання молекулярного аналізу біопсії нирки в момент прояву ЛН з метою підбору раціональної терапії та досягнення ремісії.

Також вивчали експресію генів нирок при ЛН, а потім протеоміку тканин, щоб виявити молекулярні шляхи, що диференціюють ранніх респондентів від нереагуючих [6] (Parikh, ASN 2014). Діагностичні біопсії проліферативних форм ЛН були відокремлені за станом ниркової відповіді після 11 місяців стандартної індукційної терапії та підтримуючої імуносупресії. Експресію декількох сотень генів імунної відповіді оцінювали за допомогою технології Nanostring [8]. Зразки були згруповані за статусом відповіді (повна відповідь, часткова відповідь, відсутність відповіді). Порівняли експресію генів у кожній групі з контролем та один з одним. Ці дані свідчать про те, що початковий молекулярний профіль респондента відрізняється від резистентного і що аналіз експресії генів діагностичних біопсій нирок може допомогти виявити тих, хто не відповідає на лікування. У таких випадках буде розглянута альтернативна терапія за умови несприятливого молекулярного профілю.



Оскільки білки є терапевтичною мішенню, протеомічна оцінка клінічної біопсії нирок повинна доповнюватись аналізом експресії генів та допомагати виявити дані білки. Порівняння протеому проліферативного ЛН з нормальним контролем здійснювалось за допомогою LCM з подальшою мас-спектрометрією [15]. При ЛН клубочки демонстрували посилену експресію білків комплементу і зниження апоптотичних і подоцитарних білків порівняно з нормальними клубочками. Крім того, протеомічний аналіз показав посилену експресію білків, що індукують інтерферон-альфа, що відповідає результатам аналізу експресії генів [15].

Протеомічне профілювання варто використовувати для більш повної характеристики молекулярних шляхів, що активуються при ЛН. Це може бути особливо корисно для ідентифікації біомаркерів та розробки нових терапевтичних засобів і є важливим кроком до подальшого використання молекулярного аналізу для оцінки ЛН [12]. Зараз очевидно, що при біопсії нирки можна знайти більше інформації і не оцінювати біоптат лише з точки зору гістології. Застосовуючи нові молекулярні методи, в подальшому необхідно встановити відповідність між клінічними проявами та молекулярними особливостями ЛН.

**Висновки.** Гістологічна характеристика зразка при біопсії нирок використовується для визначення ступеня тяжкості та прогнозу пацієнта з ЛН. Також біопсію використовують з метою виключення інших форм ураження нирок.

Індекс активності є прогнозом виживаності під час другої біопсії, але не при першій. 10-річна виживаність нирок становила 100% для осіб з індексом активності 0; 80% – для осіб з індексом активності 1-2; 44% – для осіб з індексом >2, незалежно від ремісії. Отже, друга біопсія нирки в кінці підтримуючої терапії є важливим діагностичним та прогностичним інструментом.

Лише молекулярний аналіз біоптату стане ключем для персоналізованого підходу підбору препаратів при ЛН. Молекулярна характеристика ураження нирок, наявна при ЛН, надасть необхідні доповнення для більш точної класифікації захворювання, прогнозування результатів та подальшого застосування нових терапевтичних засобів.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Компендіум. Системний червоний вовчак. – 22.08.2019. – <https://compendium.com.ua/uk/tutorials-uk/vnutrishnya-meditsina/6-rozdil-revmatychni-khvoroby/6-6-sistemnij-chervonij-vovchak/>

2. Корж А.Н., Иванов Д.Д. Ураження нирок при системних хворобах// Газета «Новости медицины и фармации». – 2012. – N. 11 (421).
3. Стерлинг Дж.Уэст. Секреты ревматологии// М.: Геотар-Медиа. – 2018. – ст. 760.
4. Alrowaie F., AlTurki M., Alhusani A., Alqahtani A., Alhajlah M., Althubaiti A. Clinical features and outcome of lupus nephritis patients with crescent in renal biopsy// Nephrology Dialysis Transplantation. – 2017. – Vol. 32. – P. 503.
5. Alsuwaida A., Husain S., Alghonaim M., Al Oudah N. Strategy for second kidney biopsy in patients with lupus nephritis// Nephrology Dialysis Transplantation. – 2012. – Vol. 27. – P. 1472-1478.
6. Bethunaickan R., Berthier C.C., Zhang W. Identification of stage specific genes associated with lupus nephritis and response to remission induction in NZB/W and NZM2410 mice// Arthritis Rheumatol. – 2014. – Vol. 66. – P. 2246-2258.
7. Girimaji N. Repeat renal biopsy as a predictor of outcome in patients with lupus nephritis// Nephrology Dialysis Transplantation. – 2019. – Vol. 34. – P. 236.
8. Golubeva Y., Salcedo R., Mueller C. Laser capture microdissection for protein and NanoString RNA analysis// Methods Mol Biol. – 2013. – Vol. 931. – P. 213-257.
9. Hill G.S., Delahousse M., Nochy D. Class IV-S versus class IV-G lupus nephritis: clinical and morphologic differences suggesting different pathogenesis// Kidney Int. – 2005. – Vol. 68. – P. 2288-2297.
10. Mittal B., Hurwitz S., Rennke H. New subcategories of class IV lupus nephritis: are there clinical, histologic, and outcome differences?// Am J Kidney Dis. – 2004. – Vol. 44. – P. 1050-1059.
11. Pakozdi A., Pyne D., Sheaff M., Rajakariar R. Utility of a repeat renal biopsy in lupus nephritis: a single centre experience// Nephrology Dialysis Transplantation. – 2018. – Vol. 33. – P. 507-513.
12. Parikh S.V., Ayoub I., Rovin B.H. The kidney biopsy in lupus nephritis: time to move beyond histology// Nephrology Dialysis Transplantation. – 2015. – Vol. 30. – P. 3-6.
13. Peterson K.S., Huang J.F., Zhu J. Characterization of heterogeneity in the molecular pathogenesis of lupus nephritis from transcriptional profiles of laser-captured glomeruli// J Clin Invest. – 2004. – Vol. 113. – P. 1722-1733.
14. Restrepo-Escobar M., Granda-Carvajal P.A., Jaimes F. Systematic review of the literature on reproducibility of the interpretation of renal biopsy in lupus nephritis// Sage Journals. – 2017.
15. Satoskar A.A., Shapiro J.P., Bott C.N. Characterization of glomerular diseases using proteomic analysis of laser capture microdissected glomeruli// Mod Pathol. – 2012. – Vol. 25. – P. 709-721.
16. Trendelenburg M., Lopez-Trascasa M., Potlukova E. High prevalence of anti-C1q antibodies in biopsy-proven active lupus nephritis// Nephrology Dialysis Transplantation. – 2006. – Vol. 21. – P. 3115-3121.

## РЕЗЮМЕ

### БИОПСИЯ ПОЧЕК – ВАЖНЫЙ ИНСТРУМЕНТ ДИАГНОСТИКИ, ЛЕЧЕНИЯ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРОГНОЗА ПАЦИЕНТОВ С ЛЮПУС-НЕФРИТОМ

Дубовик В.Ю.

(Київ)

**Введение.** Поражение почек при системной красной волчанке (СКВ) может варьировать от легкого до тяжелого и возникает в 50% -70% больных [4], чаще развивается на 2-3 году жизни [2]. Люпус-нефрит (ЛН) имеет разнообразные морфологические проявления с различными клиническими признаками и последствиями. Перкутанная биопсия почек является золотым стандартом для диагностики (ЛН) в соответствии с классификацией ВООЗ еще с 1974 г. [1].

**Цель.** Раскрыть значение биопсии почек для диагностики и определения прогноза.

**Материал и методы.** Обзор современных и зарубежных литературных источников; методики – описание, анализ, реферирования.

**Результаты.** В данном обзоре раскрыто значение биопсии почек для диагностики и определения прогноза. Хотя сообщений о клиническом применении классификации биопсии почек при ЛН много, исследований, оценивающих ее достоверность, пока недостаточное количество. Биопсия почек при ЛН плохо интерпретируется, что вызывает серьезные сомнения в обоснованности ее клинического применения, так как это может привести к серьезным ошибкам в диагностике, лечении и определении прогноза.

**Вывод.** Молекулярный анализ биоптата станет ключом для персонализированного подхода к подбору препаратов при ЛН. Молекулярная характеристика поражения почек, имеющаяся при ЛН, предоставит необходимые дополнения для более точной классификации заболевания, прогнозирования результатов и дальнейшего применения новых терапевтических средств.

**Ключевые слова:** люпус-нефрит, повторная биопсия почек, гистология, молекулярный анализ, прогноз.

## SUMMARY

**KIDNEY BIOPSY – AN IMPORTANT TOOL FOR THE DIAGNOSIS, TREATMENT AND DETERMINATION OF THE PROGNOSIS OF PATIENTS WITH LUPUS NEPHRITIS***Dubovik V.Yu.*

(Kyiv)

**Introduction.** Kidney damage can vary from mild to severe and occurs in 50% -70% of patients with systemic lupus erythematosus (SLE) [4], more often develops during 2-3 years [2]. Lupus nephritis (LN) has various morphological manifestations with different clinical signs and consequences. Percutaneous kidney biopsy is the gold standard for the diagnosis of LN according to the WHO classification since 1974 [1].

**The purpose.** This review reveals the importance of kidney biopsy for diagnosis and prognosis.

**Material and methods.** Review of contemporary and foreign literary sources; techniques – description, analysis, abstracting.

**Results.** There are many reports of clinical using of the renal biopsy classification of LN, but the number of studies evaluating its validity is not yet sufficient. Renal biopsy of LN provides vague data, which raises serious doubts about validity and clinical use, because it can lead to serious errors during diagnosis, treatment and prognosis.

**Conclusions.** The molecular analysis of the biopate will be the key to a personalized approach to drug selection in LN. The molecular characteristics of kidney damage available with LN will provide the necessary supplements to more accurately classify the disease, predict outcomes, and further use of new therapeutics.

**Key words:** lupus nephritis, renal biopsy, histology, molecular analysis, prognosis.

**Дубовик Віолетта Юрївна**  
**dubovykvi@ukr.net**