

Szegedi Tudományegyetem, Szent-György Albert Orvostudományi Kar
Multidiszciplináris Doktori Iskola

**A MEMBRANOSUS NEPHROPATHIA IMMUNPATOLÓGIAI ÉS
GENETIKAI VONATKOZÁSAI**

PhD értekezés
Dr. Bajcsi Dóra



Témavezető:
Prof. Dr. Iványi Béla

Szeged
2026

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények

Bajcsi Dóra, Bitó László, Turkevi-Nagy Sándor, Nyári Tibor, Kemény Éva, Légrády Péter, Ábrahám György, Iványi Béla: The Value of PLA2R Antigen and IgG Subclass Staining Relative to Anti-PLA2R Seropositivity in the Differential Diagnosis of Membranous Nephropathy. BMC Nephrol 2023, 24(1): 230, doi:10.1186/s12882-023-03273-4. **D/Q besorolás: Q2, IF: 2,7**

Bajcsi Dóra, Maróti Zoltán (megosztott első szerzők), Endreffy Emőke, Légrády Péter, Ábrahám György, Iványi Béla: The Presence of Risk and Protective HLA-DQ Haplotype Combinations and PLA2R1 Risk SNP in Hungarian Patients with Membranous Nephropathy. Int J Mol Sci. 2025, 26(17): 8621. doi: 10.3390/ijms26178621. **D/Q besorolás: Q1, IF (2024): 4,9**

Bevezetés

A membranous nephropathia (MN) ritka, immunkomplex-mediált glomeruláris betegség, a nephrosis szindróma vezető oka kaukázusi felnőttekben. Az MN-t klinikailag primer MN (pMN), ill. szekunder MN-ra (sMN) osztjuk. A pMN a vesebiopsziával diagnosztizált MN-esetek 75–80%-áért felelős, és ezek döntő többségében fő pathomechanikai tényezője a podocyták transzmembrán glikoproteinje, a foszfolipáz A2 receptor (PLA2R) elleni autoantitestek képződése.

Az anti-PLA2R antitestek dominálón az IgG4 alosztályba tartoznak, azonban kisebb mennyiségben egyéb alosztályok, például IgG1 és IgG3 is jelen lehetnek. Patogenetikailag további MN alcsoportokat is leírtak, köztük a thrombospondin type-1 domain-containing protein 7A (THSD7A), ill. a neural epidermal growth factor-like 1 protein (NELL1) asszociált formákat. A klinikai alapú MN klasszifikációt fokozatosan antigén alapú osztályozás váltja fel.

sMN esetén valamilyen alapbetegség áll a háttérben, például szisztémás lupus erythematosus (SLE), fertőzés, gyógyszerexpozíció vagy malignitás, és a kiváltó ok megszüntetésével a betegség rendszerint remissióba kerül.

A keringő anti-PLA2R autoantitestek rutin szerológiai kimutatása diagnosztikus segítség a pMN és sMN elkülönítésében.

Az Ohio Állami Egyetemi Orvostudományi Központ (USA) vesebiopsziás anyagában a korai (I. stádiumú) pMN esetek inkább IgG1-dominanciát és PLA2R-negativitást mutattak, míg a későbbi stádiumokban (II-IV. stádium) IgG4-dominancia és PLA2R-pozitivitás volt jellemző. A betegségprogresszió során észlelt IgG alosztály dominancia változást a szerzők az antitest válasz alosztály váltásaként értelmezték. Az IgG alosztály festés nem kötelező eleme a vesebiopsziák értékelési protokolljának. Tudásunk szerint natív vesebiopsziás mintákban az IgG alosztály-megoszlás vizsgálatával a fenti Ohio-i publikáció mellett két kínai és egy japán tanulmány foglalkozott.

A pMN genetikai háttere jelenleg nem teljesen tisztázott. Számos vizsgálat irányult arra, hogy összefüggést találjanak a pMN iránti fogékonyság és a humán leukocita antigén (HLA) II. osztályú génlokuszai

között, melyek a T-sejteknek történő antigénbemutatós nélkülözhetetlen fehérjeit kódolják.

2011-ben egy több centrumban végzett, teljes genomra kiterjedő asszociációs vizsgálat (GWAS) két single nukleotid polimorfizmust (SNP) azonosított (rs2187668—HLA-DQA1, rs4664308—PLA2R1), amelyek szoros kapcsolatot mutattak pMN-nel egy nagy francia, holland és brit beteg kohorszban. Az rs4664308 SNP a PLA2R1 gén intron régiójában helyezkedik el. A szerzők egy „trigger–lövedék–célpont” modellt írtak le: a trigger tényező az immunrendszer, a „lövedék” a PLA2R autoantitest, a „célpont” pedig a glomeruláris antigén. Az rs4664308 SNP a feltételezések szerint megváltozott fehérje konformációt eredményez, melyet a HLA-II receptor prezentál - autoimmun reakciót és pMN kialakulását indítva el.

E két SNP szerepét egy nagy, nem kaukázusi pMN-betegeket (n = 1112) és kontroll személyeket (n = 1020) vizsgáló kohorszban is megerősítették. Egy 71 fős kínai alcsoportban a mindkét rizikó SNP-t hordozó betegek 73%-ában mutattak ki keringő anti-PLA2R antitesteket, és 75%-uk glomerulusaiban expresszáldott a PLA2R.

A dezoxiribonukleinsav (DNS) szintjén a HLA-DQA és DQB gének szorosan kapcsolatosak, és a legtöbb esetben a specifikus HLA-DQA és DQB allélok (szerotípusok) ugyanazon haplotípuson öröklődnek. Fehérjeszinten azonban a különböző allélokból származó HLA-DQA és HLA-DQB fehérjék szabadon kombinálódhatnak HLA II. osztályú heterodimer fehérjét képezve. Így az eltérő allélkombinációk többféle HLA dimer fehérje kialakulásához vezethetnek. A HLA-II antigén prezentáló árok szerkezetét a fehérje dimer alfa- és béta-láncának háromdimenziós konformációja határozza meg. Emiatt

az egyénben potenciálisan fennálló szerotípus-kombinációk csak a két HLA-DQA/DQB haplotípus együttes értékelésével határozhatók meg.

Célkitűzések

Az immunpatológiai vizsgálat célkitűzései: A vesebiopsziákban végzett PLA2R és IgG-alosztály festés diagnosztikus értékét vizsgáltuk a pMN-sMN elkülönítésében az anti-PLA2R szeropozitivitáshoz viszonyítva. A PLA2R festés – amelynek specificitása alacsonyabb, mint az anti-PLA2R antitest szerológiai vizsgálaté – mellett jelenleg nem áll rendelkezésre elegendő adat annak eldöntésére, hogy az IgG1–4 alosztályok közül mely immunhisztológiai mintázatok (IgG4-dominancia, IgG4-dominancia/IgG1–IgG4 kodominancia, illetve IgG4-dominancia/kodominancia bármely IgG alegységgel) alkalmazhatók legmegbízhatóbban a pMN és sMN elkülönítésére. Munkánkban összefoglaljuk a dél-alföldi régió MN-s betegek körében szerzett tapasztalatainkat az IgG-alosztály festés és a PLA2R antigén festés diagnosztikus alkalmazásáról MN esetén.

A genetikai vizsgálat célkitűzései: Vizsgálni kívántuk, hogy van-e különbség a HLA-DQ 2.5 haplotípus és a PLA2R1 rizikó SNP (rs4664308) allél gyakorisága között a magyar pMN és sMN betegek, illetve a kontroll csoport között. A szorosan kapcsolt HLA-DQA1 és DQB1 lókuszekat felhasználva azonosítani kívántuk a pMN-ben előforduló rizikó és protektív haplotípus kombinációkat a PLA2R1 rizikó SNP homozigóta vagy heterozigóta állapotának figyelembevételével. Vizsgáltuk továbbá a PLA2R1 rizikó SNP jelenlétét a PLA2R hisztológiai expresszióval, valamint az anti-PLA2R antitest szerológiai eredményekkel összefüggésben.

Betegek és módszerek - immunpatológiai vizsgálat

Az immunpatológiai vizsgálat betegei: 2011 és 2022 között 87 felnőtt beteg vesebiopsziás mintájának értékelése során igazolódott MN. A MN klinikai besorolása alapján 63 beteget (72,4%; életkor: $55,8 \pm 14,3$ év) pMN, míg 24 beteget (27,6%; életkor: $52,8 \pm 14,7$ év) sMN csoportba soroltunk.

A vesebiopsziák értékelése: Az ultrahangvezérelt perkután vesebiopszia során nyert mintákat standard eljárásokkal dolgoztuk fel: fénymikroszkópos vizsgálat, direkt immunfluoreszcencia (IF) és elektronmikroszkópos vizsgálat történt. Amennyiben az IF vizsgálat során MN-ra utaló granuláris perifériás IgG-festődés volt megfigyelhető, a mintát tovább vizsgáltuk FITC-konjugált IgG1–4 alosztály ellenes antitestekkel, valamint PLA2R antigén festéssel. A festési intenzitást szemikvantitatív módon, 0–3+ skálán értékeltük. IgG4-dominanciát állapítottunk meg, ha az IgG4 festési intenzitása legalább egy fokozattal meghaladta a többi IgG alosztályét. Kodominanciát akkor rögzítettünk, ha az egyes IgG alosztályok festési intenzitása hasonló volt. Elektronmikroszkópos vizsgálat során meghatároztuk a MN stádiumát.

Anti-PLA2R immunoszerológia: 74 betegtől (54 pMN, 20 sMN) történt szérum minta levétele anti-PLA2R antitest szerológiai vizsgálat céljából – 69 esetben a diagnózis felállításakor, 5 esetben relapszus idején. A keringő anti-PLA2R antitestek kimutatására indirekt immunfluoreszcens, szemikvantitatív módszert alkalmaztunk (Euroimmun US). Amennyiben a minta 1:10 hígításban pozitívnak bizonyult, további hígítások történtek, de jelen közleményben csak pozitív és negatív kategóriákat értékeltünk.

Az immunpatológiai vizsgálat statisztikai elemzése: A normál eloszlású folytonos változókat átlag $\pm$ szórás formájában adtuk meg, és Student-féle t-próbával hasonlítottuk össze. A kategorikus változókat százalékos formában fejeztük ki, és a csoportok közötti összefüggéseket Fisher-féle egzakt próbával vizsgáltuk. Az anti-PLA2R szeropozitivitás, a PLA2R antigénfestés és az IgG alegység-mintázatok közötti összefüggések vizsgálatára nem-paraméteres Spearman-féle rangkorrelációs elemzést végeztünk. A $p < 0,05$ értéket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.

Betegek és módszerek – genetikai vizsgálat

A genetikai vizsgálat betegei: 67 MN-beteg (27 férfi, 40 nő) került bevonásra. Klinikai értékelés alapján 52 beteget (77,6%; életkor: $50,1 \pm 14,7$ év) a pMN csoportba, míg 15 beteget (22,4%; életkor: $46,8 \pm 8,6$ év) az sMN csoportba soroltunk.

A genetikailag vizsgálat MN-s betegek hisztológiai és anti-PLA2R szerológiai jellemzői: A glomeruláris PLA2R immunfestést vagy az anti-PLA2R antitest szerológiai vizsgálatát 38 betegnél (31 pMN, 7 sMN) értékeltük; az eredményeket pozitív vagy negatív kategóriában rögzítettük.

Genetikai vizsgálat: Vérmintát vettünk a MN-betegtől, valamint 77 életkor szerint illesztett, normotenzív, klinikailag egészséges kontroll személytől. A kontroll személyek a Szegedi Regionális Vérellátó Központ véréadoi közül kerültek beválogatásra. A PLA2R1 gén rs4664308 SNP-jének genotipizálására valós idejű polimeráz láncreakciót (PCR) alkalmaztunk olvadási görbe analízissel. A HLA-DQA1 és a szorosan kapcsolt HLA-DQB1

meghatározása Inno Lipa diagnosztikai kitekkel történt, és a HLA-DQ szerotípusokat a haplotípus eredményekből vezettük le.

A HLA-DQ szerotípus kombinációk rizikó score-ja pMN-ben:

Az irodalmi adatok alapján a PLA2R1 rizikó allél (rs4664308, A) a PLA2R fehérje kóros („illegitim”) vesében történő expresszióját eredményezi. A homozigóta GG genotípus (rs4664308) nem vezet patogén PLA2R epitóp expresszióhoz. AG heterozigóta esetén egyetlen allél expresszál PLA2R-et. AA homozigóta rizikó allél kombináció esetén kettős illegitim PLA2R expresszió figyelhető meg. MN esetén a heterozigóta PLA2R1 rizikó allél emelkedett kockázatot jelenthet a HLA-DQ haplotípus kombináció szempontjából, mivel a betegség már egyetlen allél alacsonyabb expressziója mellett is kialakulhat. Ezzel szemben a homozigóta rizikó allélt hordozó kontroll személyek esetén protektív HLA-DQ haplotípus kombináció feltételezhető, mivel a potenciálisan magasabb illegitim PLA2R expresszió ellenére nem alakul ki MN.

E biológiai feltevés alapján rizikó score rendszert hoztunk létre a megfigyelt HLA-DQ szerotípus kombinációk értékelésére. MN betegek körében az rs4664308 rizikó allél jelenlétét a következőképpen jelöltük: “AA”: homozigóta PLA2R1 rs4664308 rizikó allélek, “AG”: heterozigóta rizikó allél, “GG”: homozigóta nem rs4664308 allélek. A kontroll személyek allél kombinációit az alábbi módon jelöltük: “aa”: homozigóta rizikó allél, “ag”: heterozigóta rizikó allél, “gg”: homozigóta nem rizikó rs4664308 allél. A különböző csoportok eltérő elemszáma miatt az allél gyakoriságokat a minta nagyság alapján normalizáltuk. A fenti biológiai feltevés alapján kockázati pontszámot számoltunk. Minden egyes HLA-DQ szerotípus esetén

kiszámítottuk a PLA2R1 rizikó allél gyakoriságát a vizsgált HLA szerotípust hordozó pMN betegek és kontroll személyek körében az alábbi képlet szerint:

Rizikó score (HLA haplotípus kombináció) =

$$\text{freq}(\text{pMN_AA}) + 2 \times \text{freq}(\text{pMN_AG}) - 2 \times \text{freq}(\text{control_AA}) - \text{req}(\text{control_AG})$$

Semleges hatás esetén nem várható különbség a PLA2R1 rizikó allél gyakoriságában, és a score értéke közelít a nullához. Negatív pontszám protektív hatást jelez, míg pozitív score az adott HLA-DQ haplotípus kombináció fokozott kockázatát jelzi PLA2R-antigén alapú MN kialakulásában.

A genetikai vizsgálat statisztikai elemzése: Fisher-féle egzakt próbát alkalmaztunk annak vizsgálatára, hogy van-e szignifikáns különbség a PLA2R1 rizikó SNP és a HLA-DQ 2.5 haplotípus összesített előfordulásában a pMN, sMN és kontroll csoport között. Amennyiben szignifikáns különbséget találtunk, poszt-hoc Fisher-próbát alkalmaztunk az alábbi páros összehasonlításokra: pMN vs. kontroll, pMN vs. sMN, sMN vs. kontroll. Többszörös hipotézis vizsgálat miatt a szignifikanciaszintet 0,05/3 értékre módosítottuk ($p = 0,017$ — Bonferroni-korrekción).

Eredmények – immunpatológiai vizsgálat

Anti-PLA2R szeropozitivitás és PLA2R antigén festés: A pMN csoportba sorolt betegek 61,1%-ában igazolódott anti-PLA2R szeropozitivitás, míg 81,0%-uk mintájában volt kimutatható PLA2R antigén festés a glomerulusokban. A PLA2R-negatív pMN-esetek közül 4 betegnél vizsgáltuk az anti-THSD7A szeropozitivitást, negatív eredménnyel (megjegyzés: intézményünkben ez a vizsgálat 2020 óta elérhető).

Az anti-PLA2R szerológia, valamint a PLA2R- és IgG1–4 alosztály immunhisztológiai mintázatok szenzitivitása és specificitása:

Az anti-PLA2R szeropozitivitás szenzitivitása pMN-re 61,1%, specificitása 90,0% volt. A glomeruláris PLA2R festés szenzitivitása pMN-re 81,0% specificitása 66,7% volt.

Az IgG alosztály mintázatok szenzitivitás és specificitás értékei a következők voltak:

IgG4-dominancia: 52,2% és 91,7%

IgG4-dominancia/IgG3–IgG4 kodominancia: 76,2% és 87,5%

IgG4-dominancia/IgG1–IgG4 kodominancia: 64,2% és 75%

IgG4-dominancia/kodominancia bármely IgG alegységgel: 92,1% és 70,8%

Az IgG1–4 alosztály immunhisztológiai mintázata pMN és sMN esetén: A pMN-ben megfigyelt IgG alosztály festődés alapján az IgG4-dominancia volt a leggyakoribb mintázat (55,5%). A második leggyakoribb mintázat az IgG3/IgG4 kodominancia volt (20,6%), a harmadik pedig az IgG1/IgG4 kodominancia (14,2%). Ezzel szemben az sMN eseteket IgG1-dominancia, majd IgG3-dominancia jellemezte.

Az immunoszerológiai és immunhisztológiai paraméterek közötti korreláció pMN és sMN esetén: Az anti-PLA2R szeropozitivitás, a PLA2R antigén festés és az IgG alosztály mintázatok közötti korreláció vizsgálata azt mutatta, hogy a legtöbb paraméter között szignifikáns összefüggés áll fenn. Az anti-PLA2R szeropozitivitás kiváló korrelációt mutatott a PLA2R antigén festéssel, az IgG4-dominancia/kodominancia mintázattal, az IgG4-dominancia/IgG3–IgG4 kodominanciával.

IgG alosztály dominancia/kodominancia a pMN különböző stádiumaiban: A pMN különböző stádiumaiban megfigyelt IgG alosztály

megoszlás alapján az IgG4-dominancia minden stádiumban jelen volt. Az IgG4-dominancia, illetve az IgG4-dominancia/kodominancia előfordulása között nem volt szignifikáns különbség az egyes stádiumokban ($p = 0,950$; $p = 0,849$).

C1q pozitivitás pMN és sMN esetén az IgG alosztály dominancia csoportokban: A C1q pozitivitás szignifikánsan gyakoribb volt sMN-ben, mint pMN-ben ($p < 0,001$). pMN esetén a C1q pozitivitás elsősorban az IgG3–IgG4 kodomináns esetekkel társult. Az IgG4-domináns pMN-esetekben a C1q negativitás szignifikánsan gyakoribb volt, mint a C1q pozitivitás.

Eredmények – genetikai vizsgálat

PLA2R immunfestés és szérum anti-PLA2R antitestszint: A pMN-betegek körében a PLA2R festés 24 betegben (80%) volt pozitív, míg 6 betegben (20%) negatív eredményt adott. Az anti-PLA2R antitest szerológiai vizsgálat során 13 beteg (76,5%) mutatott pozitív, 4 beteg (23,5%) pedig negatív eredményt. Az sMN-betegek esetében a PLA2R immunfestés és az anti-PLA2R immunoszerológiai vizsgálat egyaránt negatív volt.

PLA2R immunhisztológiai festés és anti-PLA2R szerológia a PLA2R1 rs4664308 rizikó allélek tükrében: 24 beteg volt homozigóta a PLA2R1 rs4664308 rizikó allélre (AA). Közülük 19 beteg esetében volt kimutatható PLA2R festési pozitivitás vagy szérum anti-PLA2R antitest-pozitivitás, és klinikailag pMN-ként kerültek besorolásra. 5 beteg esetében

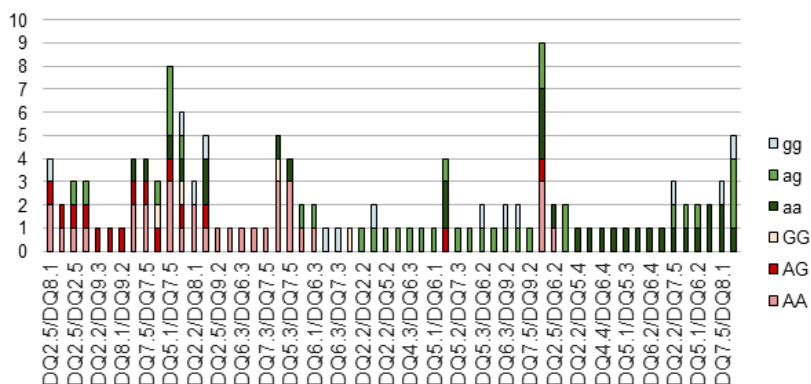
sem PLA2R festési pozitivitás, sem anti-PLA2R szeropozitivitás nem volt kimutatható; az 5 beteg közül 2-nél klinikailag sMN diagnózis született. A 7 sMN-beteg közül 4 heterozigóta volt a PLA2R1 rs4664308 kockázati allélra (AG); náluk sem PLA2R festési pozitivitás, sem anti-PLA2R szeropozitivitás nem volt kimutatható. A 3 olyan beteg közül, akik nem hordozták a PLA2R1 rs4664308 kockázati allélt (GG), egyiknél sem volt kimutatható PLA2R festési vagy anti-PLA2R szerológiai pozitivitás. Közülük kettőt sMN-ként, egyet pMN-ként soroltunk be.

A PLA2R1 rs4664308 SNP és a HLA-DQ 2.5 haplotípus allél gyakoriságai: Mivel az irodalmi adatok alapján mind a HLA-DQ 2.5 allél, mind a PLA2R1 rizikó SNP statisztikai összefüggést mutat pMN-nel, megszámoltuk a rizikó és nem rizikó allélok előfordulását a pMN, sMN és kontroll csoportokban. A HLA-DQ 2.5 haplotípus előfordulása szignifikánsan gyakoribb volt pMN-es és sMN-es betegekben, mint a kontroll csoportban; a pMN és sMN csoport között azonban nem találtunk szignifikáns különbséget.

A PLA2R1 rizikó SNP előfordulása szignifikánsan gyakoribb volt pMN-ben, mint a kontroll csoportban. Nem találtunk szignifikáns különbséget az sMN és a kontroll csoport között. A többszörös hipotézis vizsgálatra alkalmazott Bonferroni-korrekciót követően (módosított küszöbérték: 0,016) nem volt statisztikailag szignifikáns különbség az sMN és pMN csoport között ($p = 0,034$), ami feltehetően az sMN esetek alacsonyabb számának tulajdonítható.

A pMN-ben megfigyelt HLA-DQ szerotípus kombinációk rizikó score értékelése: A kohorszunkban megfigyelt HLA-DQ szerotípus-

kombinációkat a “Módszerek” részben ismertetett pontozási rendszer alapján rendeztük sorba a kockázati és protektív kombinációk azonosítása céljából. Az eredmények alapján a HLA-DQ 2.5 tűnt a legmagasabb kockázatot hordozó haplotípusnak (a legmagasabb pontszámú első két kombinációban is jelen volt). A HLA-DQ 8.1 szintén kockázatot hordozónak tűnt (a legmagasabb pontszámú kombinációk között kétszer is előfordult). Protektív HLA-DQ szerotípus kombinációként a HLA-DQ 7.5 és a 6.2 merült fel, mivel ezek a leginkább protektív kombinációkban voltak jelen (pMN-betegekben nem fordultak elő, ugyanakkor PLA2R1 rizikó allélt hordozó kontroll személyekben igen).



HLA-DQ haplotípus kombinációk pMN-ben - rizikó score

(pMN: primer membranósus nephropathia)

Megbeszélés

A MN-es betegek klinikai ellátása során kötelező a szisztémás lupus erythematosus (SLE), fertőzések, gyógyszerek és malignitás kizárása

függetlenül attól, hogy az anti-PLA2R és/vagy anti-THSD7A antitestek jelen vannak-e. Ugyanakkor a szekunder eredet keresésére irányuló diagnosztikus eljárások intenzitása nefrológiai centrumokként eltérhet.

A bemutatott pMN-esetek Közép-Kelet-Európa agrárjellegű régiójában élő, szinte kizárólag kaukázusi betegek adatait tükrözik. Tudomásunk szerint hasonló vizsgálat ebből a földrajzi régióból korábban nem jelent meg.

Vizsgálatunkban a glomeruláris PLA2R festés szenzitivitása pMN-re 81%-os, specificitása 66,7%-os volt, míg az anti-PLA2R szeropozitivitás pMN-re 61,1%-os szenzitivitást és 90%-os specificitást mutatott. Egy 19 tanulmányt és 1160 beteget magában foglaló metaanalízisben a PLA2R festés pozitívitásának szenzitivitása 78%-os, specificitása 91%-os volt pMN kimutatására, míg az anti-PLA2R szeropozitivitás szenzitivitása 68%-os, specificitása 97%-os volt ugyanazon betegpopulációban. Ezek az értékek némileg eltérnek a jelen vizsgálat eredményeitől.

2016-ban amerikai és kínai kutatók egymástól függetlenül igazolták, hogy az IgG-alosztály festés értékes diagnosztikus eszköz a pMN és sMN elkülönítésében: mindkét vizsgálatban az IgG4-dominancia/kodominancia jellemezte a pMN-t. Magyar betegek körében végzett vizsgálatunk hasonló megfigyeléseket tett. Az eddigi irodalmi adatok szerint nem volt egyértelmű azonban, hogy az IgG4-dominancia önmagában, az IgG4-dominancia/kodominancia bármely más IgG alegységgel, vagy az IgG4-dominancia/IgG1–IgG4 kodominancia rendelkezik-e a legmagasabb specificitással a pMN kimutatásában. Saját kohorszunkban az IgG4-dominancia mutatta a legjobb teljesítményt 91,7%-os specificitással, amely összevethető az anti-PLA2R szeropozitivitás 90,0%-os specificitásával, és

lényegesen magasabb, mint a glomeruláris PLA2R pozitivitás 66,7%-os specificitása. A 2 és 3. leggyakoribb alosztály megoszlási mintázat az IgG3/IgG4 kodominancia, illetve az IgG1/IgG4 kodominancia volt. Az IgG4-dominancia/IgG3–IgG4 kodominancia jó szenzitivitást (76,2%) és magas specificitást (87,5%) mutatott.

Az USA-beli Columbus kohorsz 286 pMN-esetében az IgG1 (97%) volt a leggyakoribb alegység, amelyet az IgG4 (94%) követett. A szemikvantitatív festési intenzitás IgG1 esetén 1,9, míg IgG4 esetén 2,4 volt, ami IgG1/IgG4 kodomináns vagy IgG4-domináns mintázatot eredményezett. A mi beteganyagunkban az IgG-alosztály megoszlás szignifikánsan eltért a Columbus-sorozat adataitól, mivel nálunk minden stádiumban kifejezett IgG4-dominancia volt megfigyelhető, amelyet az IgG4-dominancia/IgG3–IgG4 kodominancia követett. A pekingi betegek adataival összhangban az IgG4 alegység a PLA2R-asszociált MN minden stádiumában domináns volt. Az eltérő megfigyelésekre jelenleg nem tudunk kielégítő magyarázatot adni, azonban úgy tűnik, hogy a magyar pMN-esetek túlnyomórészt IgG4-mediált betegségként jelentkeznek már a kezdetektől.

Összefoglalva: az IgG-alosztály analízis és a glomeruláris PLA2R festés egyaránt támogatja a pMN és sMN elkülönítését, és saját kohorszunkban az IgG4-dominancia mutatta a legmagasabb specificitást.

Vizsgálatunk erőssége, hogy széles körben elérhető immunhisztológiai módszerek statisztikai értékét hasonlítottuk össze a pMN és sMN elkülönítésében. Korábban nem történt közvetlen összehasonlítás az IgG4-dominancia és a különböző IgG4-dominancia/kodominancia mintázatok specificitása között, és kevés adat állt rendelkezésre a PLA2R-alapú diagnosztika (szerológia, immunhisztológia) és az IgG1–4 alosztály

értékelés összevetéséről. A vizsgálat korlátai közé tartozik, hogy az sMN-esetek többsége lupushoz társult MN volt, a malignitáshoz társult MN esetszáma alacsony volt, valamint az antigén státusz nem minden esetben volt teljes körűen meghatározva.

Az MN genetikai háttere továbbra sem teljesen tisztázott. Ismert, hogy a PLA2R1 (2. kromoszóma) rs4664308 rizikó SNP jelenléte növeli a pMN kialakulásának genetikai kockázatát; homozigóta állapotban az odds ratio (OR, esélyhányados) 4,2. A HLA-DQA1 rs2187668 rizikó SNP homozigóta állapotban ennél is nagyobb kockázattal jár, OR 20,2. A két kockázati allél homozigóta kombinációja esetén az OR 78,5.

Feltételezésünk szerint a pMN patogenezeise a specifikus HLA-DQ szerotípusok autoimmun válaszában alapul, amely a vesében illegitim módon expresszálandó PLA2R fehérjére irányul. Ennek megfelelően vizsgáltuk a HLA-DQA1/B1 haplotípusokat a PLA2R1 rs4664308 rizikó allél státuszával együtt. Célunk az volt, hogy azonosítsuk azokat a HLA-DQ haplotípus-kombinációkat, amelyek MN betegekben feldúsulnak, valamint azokat a protektív kombinációkat, amelyek kizárólag PLA2R1 kockázati allélt hordozó, de MN-t nem mutató kontroll személyekben fordulnak elő.

Mivel a megfigyelt haplotípus kombinációk száma az sMN esetek számához volt hasonló, statisztikai elemzést kizárólag a gyakoribb HLA-DQ 2.5 haplotípus allélgyakoriságára végeztünk a három csoportban (pMN, sMN, kontroll), amelyet korábban emelkedett pMN kockázattal hoztak összefüggésbe.

A HLA-DQ 2.5 haplotípus allélgyakoriságát és a PLA2R1 rizikó SNP előfordulását összehasonlítva pMN és sMN között azt találtuk, hogy a HLA-DQ 2.5 szignifikánsan gyakoribb pMN-ben, mint kontrollokban,

azonban nem volt szignifikáns különbség pMN és sMN között. Ez arra utal, hogy a HLA-DQ 2.5 a patogenezisben erős „zárként” működhet, függetlenül a használt „kulcstól” (az immunogén epitóptól). Eredményeink megerősítik, hogy a HLA-DQ 2.5 önmagában vagy más HLA-DQ haplotípusokkal kombinálva felülreprezentált pMN betegekben a kontrollokhoz képest - összhangban a publikált adatokkal. sMN esetén a HLA-DQ 2.5 szintén magas kockázatot hordozónak tűnt. Tekintettel arra, hogy ez a haplotípus más autoimmun betegségekben (például coeliakia) is kockázati tényező, elképzelhető, hogy általános autoimmun hajlamosító tényezőként működik különböző epitópokkal szemben.

A HLA-DQ haplotípus kombinációk kockázati szerepének értékelésére rizikó score rendszert dolgoztunk ki. A rendszer a PLA2R1 kockázati allélek feldúsulását vagy hiányát tükrözi a pMN betegek alcsoportjában az adott HLA-DQ haplotípus kombinációt hordozó kontroll személyekhez viszonyítva. A “Módszerek” fejezetben leírtak szerint a pozitív pontszám a pMN kialakulásának fokozott kockázatát jelzi a PLA2R1 kockázati allél jelenlétében, míg a negatív pontszám protektív hatást sugall.

Elemzésünk megerősítette, hogy a HLA-DQ 2.5 rendelkezik a legmagasabb kockázattal, és arra utal, hogy a HLA-DQ 8.1 szintén fokozott kockázattal járhat pMN kialakulásában. Megközelítésünk megerősítette a korábban MN-hez társított fő HLA-DQ haplotípust, és további kockázati, illetve potenciálisan protektív haplotípusokat is azonosított.

Statisztikai elemzésünket korlátozta a viszonylag kis mintanagyság és a HLA-DQ kombinációk nagy diverzitása. Úgy véljük, hogy ugyanazon módszer nagyobb kohorszban alkalmazva pontosabb kockázati/protektív

haplotípus-kombinációk azonosítását és megfelelőbb kockázatbecslést tenne lehetővé.

Következtetések és új megállapítások

- A hisztológiai értékelés során a PLA2R festést célszerű IgG-alosztály analízissel kiegészíteni, mivel az IgG4-dominancia, valamint az IgG4-dominancia/IgG3–IgG4 kodominancia magas specifitást biztosít a pMN és sMN elkülönítésében.
- A HLA-DQ 8.1 haplotípus fokozott kockázattal társulhat, míg a HLA-DQ 7.5 és 6.2 protektív szerepet játszhat a pMN kialakulásában.
- Nemcsak pMN-ban, hanem sMN-ban is a fő kockázati haplotípus a HLA-DQ 2.5 volt, mely közös „zárként” működhet az MN patogenezisében - hasonlóan más autoimmun betegségek patomechanizmusához.
- Nem csupán az egyes HLA-DQ haplotípusokat, hanem azok kombinációit is vizsgálni kell genetikai predispozíciós tényezőként pMN-ben, mivel egy adott haplotípus a kombinációtól függően lehet kockázati vagy protektív hatású.
- A PLA2R1 SNP allél státuszon alapuló új rizikó score rendszert dolgoztunk ki a kockázati és protektív haplotípus-kombinációk meghatározására.