



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

ΤΟΜΕΑΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΟΣ
ΝΕΦΡΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

"Θεραπεία της Ιδιοπαθούς Μεμβρανώδους Σπειραματοπάθειας"

Σοφία Λιονάκη
Νεφρολόγος

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2010

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα [N. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2 (νομική κατοχύρωση του Ιατρικού Τμήματος)]

Ημερομηνία αίτησης της κ. Λιονάκη Σοφίας: 12-11-2003

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 524^α/27-1-2004

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Επιβλέπων

Σιαμόπουλος Κωνσταντίνος Καθηγητής Παθολογίας –Νεφρολογίας

Μέλη

Κατωπόδης Κωνσταντίνος Επίκουρος Καθηγητής Νεφρολογίας

Αλεξόπουλος Ε. Αναπληρωτής Καθηγητής Νεφρολογίας Ιατρικής Σχολής Α.Π.Θ.

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 23-3-2004

«Θεραπεία της ιδιοπαθούς μεμβρανώδους σπειραματοπάθειας»

Ημερομηνία Ανασυγκρότησης Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 658^α/7-4-2009

Επιβλέπων

Σιαμόπουλος Κωνσταντίνος Καθηγητής Παθολογίας –Νεφρολογίας

Μέλη

Κατωπόδης Κωνσταντίνος Επίκουρος Καθηγητής Νεφρολογίας

Γουμένος Δημήτριος Καθηγητής Νεφρολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Πατρών

ΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ : 680^α/2-3-2010

1. Γουμένος Δημήτριος Καθηγητής Νεφρολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Πατρών
2. Ελισάφ Μουσής Καθηγητής Παθολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
3. Σιαμόπουλος Κωνσταντίνος Καθηγητής Παθολογίας –Νεφρολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
4. Μπαϊρακτάρη Ελένη Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Κλινικής Χημείας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
5. Κατωπόδης Κωνσταντίνος Επίκουρος Καθηγητής Νεφρολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
6. Παπαγιάννη Αικατερίνη Επίκουρη Καθηγήτρια Νεφρολογίας Ιατρικής Σχολής Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης
7. Σιώμου Αικατερίνη Λέκτορα Παιδιατρικής με έμφαση στην Παιδιατρική Νεφρολογία Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» στις 22-3-2010

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ

Ιωάννης Γουδέβενος

Καθηγητής Παθολογίας- Καρδιολογίας

Η Γραμματέας της Σχολής

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΣΒΕΝΤΖΟΥΡΗ -ΖΩΗ



Στους γονείς & τους δασκάλους μου

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ**Σελίδα**

Πρόλογος – Ευχαριστίες	3
Συντομεύσεις	5
1. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	7
1.α. Ιστορική Αναδρομή	9
1.β. Βιβλιογραφική Ανασκόπηση	11
I. Αιτιοπαθογένεια	11
II. Επιδημιολογικά Στοιχεία	15
III. Ιστολογικοί τύποι	16
IV. Κλινική εικόνα - Διάγνωση	17
V. Φυσική ιστορία και Εξέλιξη	18
VI. Πρόγνωση	18
VII. Θεραπεία	19
i. Μη Ειδική Θεραπεία	20
ii. Ειδική Ανοσοκατασταλτική Θεραπεία	22
2. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	29
A. Αναστολή του TNF-α στην ιδιοπαθή μεμβρανώδη σπειραματοπάθεια	31
I. Σκοπός	31
II. Μεθοδολογία	31
III. Αποτελέσματα	35
B. Εξάλειψη των B λεμφοκυττάρων στην ιδιοπαθή μεμβρανώδη σπειραματοπάθεια	39
I. Σκοπός	39
II. Μεθοδολογία	39
III. Αποτελέσματα	44
Γ. Συζήτηση	49
Δ. Συμπεράσματα	63
Περίληψη	65
Summary	69

Ε. Εικόνες	73
Εικόνα Α.1.	75
Εικόνα Α.2.	76
Εικόνα Β.1.	77
Εικόνα Β.2.	78
Εικόνα Β.3.	79
ΣΤ. Πινάκες	81
Πίνακας Α.1.	83
Πίνακας Β.1.	84
Πίνακας Β.2.	85
Πίνακας Β.3.	86
Πίνακας Β.4.	87
Πίνακας Β.5.	88
Πίνακας Β.6.	89
Πίνακας Β.7.	90
Ζ. Διαγράμματα	91
Σχήμα Α.1.	93
Σχήμα Α.2.	94
Σχήμα Β.1.	95
Σχήμα Β.2.	96
Σχήμα Β.3.	97
Σχήμα Β.4.	98
Σχήμα Β.5.	99
Σχήμα Β.6	100
Η. Βιβλιογραφία	101

Πρόλογος-Ευχαριστίες

Η παρούσα διδακτορική διατριβή πραγματοποιήθηκε στο Νεφρολογικό Τμήμα του Λαϊκού Νοσοκομείου Αθηνών και ήταν αποτέλεσμα συνεργασίας με τη Νεφρολογική Κλινική του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων, το Ανοσολογικό Εργαστήριο του Ρευματολογικού Τμήματος του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Κρήτης και το Ανοσολογικό Εργαστήριο του Γενικού Κρατικού Νοσοκομείου Αθηνών.

Θέλω να εκφράσω τις θερμές ευχαριστίες μου στον επί της παρούσης Διευθυντή μου κ. Ιωάννη Μπολέτη για την συμπαράστασή του και ουσιαστική βοήθεια που μου παρείχε σε όλη τη διάρκεια της μελέτης. Παρά το γεγονός ότι ανέκαθεν με εντυπωσίαζε ο Νεφρολογικός χώρος και όλα τα σχετιζόμενα αντικείμενα μελέτης, είναι γεγονός ότι ο κ. Μπολέτης μου εμφύσησε το βαθύτερο ενδιαφέρον για τη μελέτη των σπειραματικών παθήσεων. Μου επέτρεψε να συμμετάσχω στις εργασίες του Τμήματος και μου εμπιστεύτηκε το συγκεκριμένο ερευνητικό πρωτόκολλο, στο οποίο αδιαλείπτως συνέτεινε με καθοδήγηση και συμβουλευτικές παραινέσεις.

Επίσης, ευχαριστώ θερμά τον Επιβλέποντα της διδακτορικής διατριβής κ.Κωνσταντίνο Σιαμόπουλο Καθηγητή Παθολογίας/Νεφρολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, για την εμπιστοσύνη που έδειξε στο πρόσωπο μου με την ανάθεση της συγκεκριμένης μελέτης και την αμέριστη συμπαράσταση, επιστημονική και ανθρώπινη, καθ' όλη τη διάρκεια της συνεργασίας μας.

Επίσης ευχαριστώ τα μέλη της Τριμελούς Επιτροπής, κ.κ.: Κωνσταντίνο Κατωπόδη, Επίκουρο Καθηγητή Νεφρολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων και Δημήτριο Γούμενο, Καθηγητή Παθολογίας/Νεφρολογίας της Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Πατρών, για την άψογη συνεργασία, την συμπαράσταση και εποικοδομητική συμμετοχή τους στην εκπόνηση της διατριβής αυτής.

Η ανάλυση των δειγμάτων ορού για κυτοκίνες και παράγοντες προσκόλλησης στο ενδοθήλιο, πραγματοποιήθηκε στο Ανοσολογικό Εργαστήριο του Ρευματολογικού Τμήματος του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Κρήτης με την επίβλεψη του Καθηγητή κ. Δημητρίου Μπούμπα, τον οποίο ευχαριστώ ιδιαίτερα όχι μόνο για την συγκεκριμένη προσφορά του στην μελέτη αυτή, αλλά και για την διαρκή συμβουλευτική στάση του. Επίσης, ευχαριστώ την κα Αλίκη Ινιωτάκη, Διευθύντρια του Ανοσολογικού Εργαστηρίου και Κέντρου Ιστοσυμβατότητας του Γενικού Κρατικού

Νοσοκομείου Αθηνών, για την καθοριστική συμβολή της στη διατριβή αυτή, με τον καθορισμό των ανοσοφαινοτυπικών μεταβολών των επιμέρους υποπληθυσμών των λεμφοκυττάρων στο δεύτερο μέρος της μελέτης.

Τέλος, θέλω να αναφερθώ στην κα Αλέκα Παπαγεωργίου, η οποία συνέτεινε σημαντικά στη διεκπεραίωση διαδικαστικών και άλλων θεμάτων με την πάντα ευγενική υποστήριξη και αρωγή της.

Είναι γνωστό ότι η απολύτως ενδεικνυόμενη και κατ' ουσία αιτιολογική θεραπεία της Ιδιοπαθούς Μεμβρανώδους Σπειραματοπάθειας παραμένει αδιευκρίνιστη, παρά την ανεξάντλητη κλινική και πειραματική έρευνα, και ως εκ τούτου το θέμα της παρούσης διατριβής συγκεντρώνει ιδιαίτερο επιστημονικό ενδιαφέρον για τον κλινικό νεφρολόγο. Η πρόταση για τη συγκεκριμένη μελέτη, βασιζόμενη στην όλο και πιο ευρεία χρήση των παραγόντων αναστολής του TNF-α στη θεραπεία ανοσολογικών παθήσεων, και τα δεδομένα της σύγχρονης βιβλιογραφίας αλλά και η εναλλακτική προσέγγιση με την προσωρινή εξάλειψη των Β λεμφοκυττάρων στην ιδιοπαθή Μεμβρανώδη Σπειραματοπάθεια, υπήρξε για μένα μια απολύτως ενδιαφέρουσα προοπτική.

Συντομεύσεις

ACTH	Adrenocorticotropic hormone
ANCA	Anti Neutrophilic Cytoplasmic Antibodies
Anti-dsDNA	Immunoglobulin specific against native (double-stranded) DNA
CsA	Cyclosporine
dl	Liter x 10 ⁻¹
ET	Etanercept
g	Grammar
GBM	Glomerular Basement Membrane
GFR	Glomerular Filtration Rate
HACAs	Human Antichimeric Antibodies
HBV	Hepatitis B virus
HCV	Hepatitis C Virus
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HLA	Human Leukocytes Antigen
IL	Interleykin
INF	Interferon
INR	International Normalized Ratio
kg	Kilogram
L	Liter
LDL	Low Density Lipoprotein
MAC	Membrane Attack Complex
mg	Grammar x 10 ⁻³
ml	Liter x 10 ⁻³
MMF	Mycophenolate Mofetil
mRNA	messenger RiboNucleic Acid
ng	Grammar x 10 ⁻⁹
NS	Non Significant
pg	Grammar x 10 ⁻⁶
PLA₂R	Phospholipase A ₂ Receptor
PTT	Partial Thromboplastin Time
RA	Rheumatoid Arthritis
RAP	Receptor Associated Protein

RF	Rheumatoid Factor
sICAM	soluble Inter-Cellular Adhesion Molecule
TGF-α	Tumor Growth Factor alpha
TNF-α	Tumor Necrosis Factor alpha
TNFR	Tumor Necrosis Factor Receptor
A-TII	Αποκλειστές Υποδοχέων Αγγειοτασίνης
α-ΜΕΑ	Αναστολέας Μετατρεπτικού Ενζύμου Αγγειοτασίνης
ANA	Αντιπυρηνικά αντισώματα
ΑΠ	Αρτηριακή Πίεση
ΔΑΠ	Διαστολική Αρτηριακή Πίεση
ΕΤΣΚ	Εστιακή Τμηματική Σπειραματοσκλήρυνση
ΜΒ	Μοριακό Βάρος
ΜΣ	Μεμβρανώδης Σπειραματοπάθεια
ΣΑΠ	Συστολική Αρτηριακή Πίεση
ΣΕΛ	Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος

1. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.α. Ιστορική Αναδρομή

Η Μεμβρανώδης Σπειραματοπάθεια (ΜΣ) αποτελεί μια από τις πιο συχνές σπειραματικές παθήσεις, καθώς ευθύνεται για το 25% περίπου των περιπτώσεων νεφρωσικού συνδρόμου των ενηλίκων μέσης ηλικίας^{1,2}. Βρίσκεται στο επίκεντρο του ενδιαφέροντος για τον κλινικό νεφρολόγο όχι μόνο επειδή παρουσιάζει μοναδικά μορφολογικά χαρακτηριστικά αλλά και εξαιτίας των δυσκολιών στη διάγνωση των πιθανών δευτεροπαθών αιτιών, της ποικιλίας της φυσικής πορείας της νόσου και της δυσκολίας στην αντιμετώπιση της. Για δεκαετίες, οι Νεφρολόγοι εμβαθύνουν στη μελέτη της νεφροπάθειας αυτής, διερευνώντας την πιθανότητα συντηρητικής θεραπείας, επιθετικής ανοσοκατασταλτικής θεραπείας και νεώτερων θεραπευτικών σχημάτων. Όλες αυτές οι εκδοχές γίνονται πιο πολύπλοκες λαμβάνοντας υπόψη την εξατομίκευση στην κλινική έκφραση της νόσου, η οποία εξαρτάται από πολλούς επιμέρους παράγοντες^{1,2}.

Επειδή η παθογένεια και η παθοφυσιολογία της νόσου είναι κατά βάση άγνωστη, η αντιμετώπιση της αποτελεί αντικείμενο αμφισβήτησης. Τα τελευταία 30 χρόνια έχουν υπάρξει πολλές προτάσεις για την αντιμετώπιση της. Η ετερογένεια των διαφόρων μελετών στο σχεδιασμό, το υλικό και τη διάρκεια της παρακολούθησης έχουν οδηγήσει σε σύγχυση σ' ότι αφορά στην αξιολόγηση των αποτελεσμάτων.

Η ΜΣ, η οποία χαρακτηρίζεται από την παρουσία υποεπιθηλιακών εναποθέσεων κατά μήκος της συχνά παχυσμένης σπειραματικής βασικής μεμβράνης, αποτελεί ιστοπαθολογική διάγνωση και εκδηλώνεται συχνότερα στην 5^η με 6^η δεκαετία της ζωής, ενώ κατά τη χρονική στιγμή της διάγνωσης περισσότεροι από 80% των ασθενών είναι πάνω από 40 ετών³.

Εμφανίζεται είτε ως ιδιοπαθής (πρωτοπαθής), είτε ως δευτεροπαθής, στα πλαίσια αυτοάνοσης νόσου, λοίμωξης, λήψης φαρμάκων ή κακοήθειας. Το 70% περίπου των ενηλίκων ασθενών παρουσιάζει την ιδιοπαθή μορφή και περίπου το 25% των περιπτώσεων οφείλεται σε δευτεροπαθή αίτια. Η τυπική εκδήλωση της νόσου είναι η εμφάνιση νεφρωσικού συνδρόμου, η οποία διαπιστώνεται στο 80% των περιπτώσεων ενώ το 20% των ασθενών παρουσιάζει μη νεφρωσικού επιπέδου λευκωματουρία. Η πρωτεϊνουρία είναι συνήθως μη εκλεκτική. Η παρουσία μικροσκοπικής αιματουρίας είναι πιθανή (30%) ενώ μακροσκοπική αιματουρία είναι σπάνια (<5%). Η συνύπαρξη αρτηριακής υπέρτασης είναι συχνό εύρημα. Οι

θρομβοεμβολικές επιπλοκές παρατηρούνται κυρίως στους ασθενείς με επίμονο νεφρωσικό σύνδρομο και σοβαρή υποαλβουμιναιμία (αλβουμίνη ορού <2,5 g/dl). Η επίπτωση της εν τω βάθει φλεβικής θρόμβωσης αναφέρεται 9-44%².

1.β. Βιβλιογραφική Ανασκόπηση

1. Αιτιοπαθογένεια

Η ΜΣ αποτελεί πρότυπο ανοσοπαθογενετικής νεφρικής νόσου, στην οποία αντισώματα έναντι αντιγόνων οδηγούν στη γένεση ανοσοσυμπλεγμάτων με επακόλουθη ενεργοποίηση του συστήματος του συμπληρώματος. Η ακριβής φύση των αντιγόνων που κατευθύνουν την ανοσολογική απάντηση και οι παθογενετικοί μηχανισμοί που προκαλούν την εναπόθεση στη σπειραματική βασική μεμβράνη και την επακόλουθη εμφάνιση πρωτεϊνουρίας και νεφρωσικού συνδρόμου δεν έχουν πλήρως κατανοηθεί¹. Πρόσφατη έρευνα ωστόσο, ανέδειξε την παρουσία αντισωμάτων έναντι μιας ταυτοποιημένης γλυκοπρωτεΐνης με μοριακό βάρος (MB) 185 Kd στο 70% των ασθενών με ιδιοπαθή ΜΣ. Στην πρωτεΐνη αυτή, η οποία ανιχνεύεται τόσο στα φυσιολογικά ποδοκύτταρα όσο και στα ανοσοσυμπλέγματα που ανευρίσκονται σε ασθενείς, ανιχνεύεται ο υποδοχέας PLA₂R (Phospholipase A₂ Receptor)⁴.

Από την άλλη πλευρά, στο μοντέλο Heyman της πειραματικής ιδιοπαθούς ΜΣ, το οποίο προσομοιάζει στην ανθρώπινη νόσο, φαίνεται ότι το απόλυτα εξειδικευμένο και εντελώς διαφοροποιημένο επιθηλιακό κύτταρο είναι ο στόχος της βλάβης. Η έρευνα στο πειραματικό μοντέλο έχει εστιαστεί στην ταυτοποίηση των υπεύθυνων αντιγόνων και της επακόλουθης ανοσοαπάντησης, το ρόλο του συμπληρώματος και τη σκιαγράφιση της διαδικασίας της βλάβης που ακολουθεί την ενεργοποίηση του συμπληρώματος. Οι αντιγονικοί στόχοι της αντισωματικής απάντησης στο πειραματικό μοντέλο έχουν εντοπισθεί στη μεμβράνη του σπειραματικού επιθηλιακού κυττάρου. Συγκεκριμένα, πρόκειται για μια γλυκοπρωτεΐνη με MB 515 kd, που ονομάζεται μεγαλίνη, έναν υποδοχέα που σχετίζεται με την οικογένεια των LDL λιποπρωτεϊνών και μια πρωτεΐνη με MB 44 kd, που είναι γνωστή ως RAP (Receptor Associated Protein) ή πρωτεΐνη σχετιζόμενη με τον υποδοχέα. Ο πρωταρχικός ρόλος του T κυττάρου στο μοντέλο αυτό είναι σαφής. Η χυμική αντισωματική απάντηση, που εξαρτάται από το βοηθητικό CD4 T λεμφοκύτταρο, οδηγεί σε εναπόθεση ανοσοσφαιρίνης στο σπείραμα και ενεργοποίηση του συμπληρώματος. Η εμπλοκή του CD4+ κυττάρου στην αντισωματική απάντηση συνίσταται σε ενεργοποίηση της Th2 ανοσοαπάντησης, που οδηγεί στην παραγωγή ιντερλευκινών IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 και IL-13. Άλλωστε, στην αρχική φάση της νόσου έχουν παρατηρηθεί T κύτταρα στο σπείραμα και το διάμεσο ιστό, καθώς και διηθούντα μακροφάγα. Ο ρόλος της

κυτταρικής ανοσίας στην παθογένεση στηρίζεται και από την παρατήρηση, ότι η εξαφάνιση των κυτταροτοξικών CD8 μειώνει την βλάβη και ότι η θεραπεία με μονοκλωνικά αντισώματα αντι-CD4 και αντι-CD8 μετριάξει τη νόσο^{1,2,4}.

Η ενεργοποίηση του συμπληρώματος είναι επίσης σημαντική στην πρόκληση της σπειραματικής βλάβης. Η ανακάλυψη του C5b-9 στο μεμβρανικό επιθετικό σύμπλεγμα Membrane Attack Complex (MAC), ως συστατικό των ανοσοεναποθέσεων, καθώς και η διαπίστωση, ότι η εξαφάνιση του συμπληρώματος με τη χρήση δηλητηρίου κόμπρας είχε σαν αποτέλεσμα την μη εμφάνιση πρωτεϊνουρίας, επιβεβαιώνει το ρόλο του συμπληρώματος στη παθογένεση της νόσου. Το ποδοκύτταρο φυσιολογικά αποσπά το MAC από τις ανοσοεναποθέσεις με ενδοκύττωση, το μεταφέρει διαμέσου του κυττάρου και το απελευθερώνει με εξωκύττωση στο πρό-ουρο. Αυτή η διαδικασία θεωρείται πιθανή και δικαιολογεί την εμφάνιση των κλασμάτων αυτών στα ούρα ασθενών με ιδιοπαθή ΜΣ. Ο τρόπος με τον οποίο η δράση του συμπλέγματος αυτού οδηγεί σε πρωτεϊνουρία είναι άγνωστος. Πιθανολογείται η ενεργοποίηση και ο σχηματισμός δραστικών ριζών οξυγόνου από το MAC, καθώς και η προαγωγή της παραγωγής πρωτεΐναισών που μπορούν να οδηγήσουν σε εκφυλισμό-αποσάρθρωση του κολλαγόνου στη σπειραματική βασική μεμβράνη και επακόλουθη αύξηση της διαπερατότητας της στις πρωτεΐνες. Η απάντηση του ποδοκυττάρου στη βλάβη δεν είναι με υπερπλασία αλλά με υπερτροφία^{1,5-7}. Παρ όλες τις ομοιότητες με το πειραματικό μοντέλο, η δυσκολία στην εξαγωγή συμπερασμάτων στην ανθρώπινη νόσο υποδηλώνει, ότι κάποιες επιπλέον μεταβλητές είναι σημαντικές στον άνθρωπο. Για παράδειγμα, τα αυξημένα επίπεδα του συμπλέγματος MAC στα δείγματα ούρων των ασθενών με ΜΣ δεν αποτελούν ούτε γενικό αλλά και ούτε ειδικό εύρημα². Παρά τα ευρήματα στα πειραματόζωα, η χαμηλή επίπτωση ανεύρεσης του MAC στους ασθενείς, η απουσία ιστολογικής συσχέτισης και η έλλειψη αντιστοιχίας με τα κλινικά δεδομένα, απομακρύνει από την οποιαδήποτε αξιοποίηση του σε κλινικό επίπεδο².

Στα πλαίσια της αναζήτησης παραγόντων που εμπλέκονται στην ανοσολογική απάντηση, η οποία αποτελεί τη βάση της αιτιοπαθογένειας της νόσου, έχει διερευνηθεί στο παρελθόν ο ρόλος των κυτταροκινών τόσο στη πρόκληση νεφρικής βλάβης γενικά, όσο και η πιθανή συμμετοχή τους στη παθογένεση της ιδιοπαθούς ΜΣ. Οι κυτταροκίνες αποτελούν διαλυτά μόρια, τα οποία παράγονται από διάφορα κύτταρα (ινοβλάστες, ενδοθηλιακά κύτταρα) και ρυθμίζουν την ανάπτυξη, τη

διαφοροποίηση, το θάνατο και τη λειτουργία των κυττάρων⁸. Επεμβαίνοντας λοιπόν στη κυτταρική ομοιόσταση και επηρεάζοντας την άμυνα του ξενιστή έναντι της λοίμωξης εμπλέκονται και στην παθογένεση διαφόρων νοσημάτων. Επιπλέον, ανήκουν στα προϊόντα του ανοσολογικού συστήματος, τα οποία σηματοδοτούν και οργανώνουν τη επικοινωνία μεταξύ των κυττάρων του, βρίσκονται στη συστηματική κυκλοφορία αλλά και σε τοπικό επίπεδο και συνδέονται σε υποδοχείς υψηλής συγγένειας. Στις κυτταροκίνες ανήκουν οι ιντερλευκίνες (IL), οι ιντερφερόνες (INF), ο παράγοντας νέκρωσης των όγκων (TNF-α) και άλλα μόρια.

Ο TNF-α, είναι μια προ-φλεγμονώδης κυτταροκίνη, της οποίας το γονίδιο έχει χαρτογραφηθεί στο χρωμόσωμα 6, και παράγεται από μια ποικιλία κυττάρων, αλλά κυρίως από μονοκύτταρα και μακροφάγα. Αποτελεί σημαντικό ανοσολογικό ρυθμιστή, που γενικά προάγει τη φλεγμονή. Πρόκειται για ένα πολυπεπτιδίο με MB 17 kd, που έχει ενοχοποιηθεί στην παθογένεση πολλών φλεγμονωδών νοσημάτων των νεφρών, συμπεριλαμβανομένων της νεφρίτιδας του Συστηματικού Ερυθματώδους Λύκου (ΣΕΛ), της διαβητικής νεφροπάθειας, των σπειραματονεφρίτιδων από ανοσοσυμπλέγματα και άλλων⁹⁻¹¹. Ο TNF-α προάγει την έκφραση των μορίων του μείζονος συστήματος ιστοσυμβατότητας τάξης I και II, των μορίων προσκόλλησης στο ενδοθήλιο, και άλλων παραμέτρων που συμβάλλουν στη φλεγμονώδη διαδικασία, όπως η ιντερλευκίνη IL-1β και ο παράγοντας ανάπτυξης των όγκων (Tumor Growth Factor alpha, TGF-α)¹².

Από μελέτες *in vitro* έχει παρατηρηθεί, ότι ο TNF-α εμπλέκεται στην αιμοδυναμική κατάσταση του σπειράματος, συμβάλλει στην τοπική ομοιοστατική ισορροπία, καθώς και την διήθηση από λευκοκύτταρα¹³. Η σχέση του με τη μείωση της σπειραματικής αιματικής ροής εξηγείται μέσω αλληλεπίδρασης με αγγειοδιασταλτικούς και αγγειοσυσταλτικούς παράγοντες. Επεμβαίνει στη μεσαγγειακή παραγωγή προσταγλανδινών (PG), καθώς και τη σύνθεση της φωσφολιπάσης A₂, η οποία ρυθμίζει τη διαθεσιμότητα του αραχιδονικού οξέος και της κυκλοξυγενάσης που μετατρέπει το αραχιδονικό οξύ σε PGH₂^{11,13,14}.

Για τη διερεύνηση του πιθανού ρόλου των κυτταροκινών ως μεσολαβητών στην πρόκληση ή/και στη μεσολάβηση της σπειραματικής βλάβης, έχουν προσδιοριστεί σε ασθενείς με νεφρωσικό σύνδρομο, οφειλόμενο σε εστιακή τμηματική σπειραματοσκλήρυνση (ΕΤΣΚ), ιδιοπαθή ΜΣ ή νόσο ελαχίστων αλλοιώσεων (NEA), τα επίπεδα των ιντερλευκίνης IL-1β, ιντερφερόνης IFN-α, ιντερφερόνης INF-γ και του

TNF-α. Όπως προκύπτει από τα αποτελέσματα διαφόρων μελετών, μόνο τα επίπεδα του TNF-α είναι σημαντικά αυξημένα στο πλάσμα και τα ούρα ασθενών με ΕΤΣΚ και ιδιοπαθή ΜΣ, συγκριτικά με αυτά που ανευρέθηκαν στην ομάδα ελέγχου, που αποτελούνταν από υγιή άτομα¹⁵⁻¹⁸.

Επιπλέον, σε τομές νεφρικών βιοψιών από ασθενείς με ιδιοπαθή ΜΣ, (αλλά όχι από άλλες σπειραματοπάθειες), ο TNF-α βρέθηκε να εκφράζεται σε σπλαχνικά επιθηλιακά κύτταρα του σπειράματος και στη σπειραματική βασική μεμβράνη. Η αποκλειστική και καθολική έκφραση του TNF-α από τα σπειραματικά επιθηλιακά κύτταρα στη ΜΣ του ανθρώπου, δείχνει ότι αυτή η κυτταροκίνη παίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεση της νόσου^{10,19}. Σε άλλη μελέτη έχει διαπιστωθεί αυξημένη απελευθέρωση TNF-α σε καλλιέργειες περιφερικών μονοκυττάρων του αίματος, ασθενών με IgA νεφροπάθεια και ιδιοπαθή ΜΣ σε σύγκριση με αντίστοιχες μετρήσεις από κύτταρα υγιών ατόμων²⁰. Επίσης έχει διαπιστωθεί η έκφραση του TNF-α mRNA και της αντίστοιχης πρωτεΐνης που κωδικοποιείται από αυτό, στα σπειραματικά επιθηλιακά κύτταρα ασθενών με ΜΣ και όχι σε ασθενείς με άλλους τύπους σπειραματικής βλάβης^{16,17,21}.

Υπάρχουν τρεις γνωστοί θεραπευτικοί παράγοντες ικανοί να αναστείλουν τη δράση του TNF-α (**Εικόνα Α.1**), οι οποίοι πρόσφατα έχουν προσελκύσει το ενδιαφέρον για την πιθανή χρήση τους στην αντιμετώπιση της ιδιοπαθούς ΜΣ. Ο πρώτος από αυτούς είναι η πεντοξυφυλλίνη, ενώ οι άλλοι δύο είναι το μονοκλωνικό αντίσωμα Infliximab²² και το Etanercept²².

Η πεντοξυφυλλίνη, παράγωγο της μεθυλξανθίνης, που δρα ως αναστολέας της φωσφοδιεστεράσης, έχει διαπιστωθεί ότι έχει ισχυρή αντιφλεγμονώδη δράση και ικανότητα μείωσης της παραγωγής TNF-α καθώς και άλλων κυτταροκινών τόσο σε φυσιολογικά άτομα όσο και σε παθολογικές καταστάσεις²³⁻²⁷. Αναστολή του TNF-α με πεντοξυφυλλίνη ελαττώνει την πρωτεϊνουρία και τον TNF του ορού σε διαβητικούς ασθενείς με προχωρημένη νεφρική βλάβη²⁸. Με το σκεπτικό αυτό η πεντοξυφυλλίνη χορηγήθηκε σε ασθενείς με ιδιοπαθή ΜΣ και παρατηρήθηκε στη συνέχεια σημαντική ύφεση της πρωτεϊνουρίας, καθώς και μείωση των επιπέδων TNF-α στον ορό και τα ούρα των ασθενών αυτών²⁹.

Το Etanercept, διμερής πρωτεΐνη που συνδέεται εκλεκτικά στον TNF-α και αναστέλλει τη σύνδεση του με τους υποδοχείς (p75), έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως στη

θεραπεία της ρευματοειδούς αρθρίτιδας, ωστόσο δεν έχει εκτιμηθεί η δράση του στην αντιμετώπιση της ΜΣ⁸.

Η αναστολή της Th2 ανοσολογικής απάντησης και η μέσω αυτής παραγωγή αντισωμάτων πιθανολογείται, ότι επιδρά θετικά στη πορεία της νόσου, γεγονός το οποίο διαπιστώθηκε στο πειραματικό μοντέλο της ΜΣ. Τα Th2 κύτταρα εκκρίνουν κυτταροκίνες IL-4, IL-5, IL-10, IL-13, που προάγουν την ενεργοποίηση των B κυττάρων και την παραγωγή ανοσοσφαιρινών. Έχει δειχθεί, ότι σε ασθενείς με ιδιοπαθή ΜΣ προεξάρχει η Th2 ανοσιακή απάντηση εξαιτίας της παρουσίας IgG και ειδικότερα της IgG₄ καθώς και σπειραματικών εναποθέσεων συμπληρώματος¹. Επιπλέον έχει διερευνηθεί η αναλογική παραγωγή Th1/Th2 κυτοκινών από τα περιφερικά Th κύτταρα και έχει διαπιστωθεί υπερπαραγωγή IL-4 στους ασθενείς με ιδιοπαθή ΜΣ, η οποία μάλιστα συσχετίζεται με το βαθμό πρωτεϊνουρίας.

Είναι γνωστό, ότι για την παραγωγή αντισωμάτων από τα φυσιολογικά B λεμφοκύτταρα απαιτούνται ρυθμιστικά σήματα από τα T λεμφοκύτταρα. Αυτά εν μέρει παρέχονται από την επιφανειακή έκφραση στο T κύτταρο του CD-40L (CD154), που συμπλέκεται με τον CD40 υποδοχέα του B κυττάρου και προάγει τη διαφοροποίηση του τελευταίου και τη παραγωγή ανοσοσφαιρινών. Έχει αποδειχθεί, ότι η διακοπή της ρυθμιστικής οδού CD40L-CD40, χρησιμοποιώντας μια CD40-Ig πρωτεΐνη μπορεί να αποτρέψει την εκδήλωση ιδιοπαθούς ΜΣ στα πειραματόζωα³⁰. Αν και η παθογενετική αλληλουχία είναι δύσκολο να υποτεθεί σε νοσήματα όπως η ΜΣ, θα μπορούσαμε να την σκιαγραφήσουμε ως συνέπεια παθολογικής σηματοδότησης μεταξύ κυττάρων ή και άλλων εκφραστών του ανοσολογικού συστήματος με επακόλουθο τον σχηματισμό παραγώγων, που αθροιζόμενα προκαλούν μονιμή βλάβη στη σπειραματική μεμβράνη.

II. Επιδημιολογικά Στοιχεία

Η ΜΣ είναι τυπικά νόσος της ενήλικου ζωής. Στις περισσότερες σειρές η ηλικία διάγνωσης αναφέρεται στην 5^η-6^η δεκαετία της ζωής. Αποτελεί δε, την πιο συχνή αιτία νεφρωσικού συνδρόμου στους ενήλικες². Η επίπτωση είναι συχνότερη στους άνδρες, που προσβάλλονται πιο συχνά σε σχέση με τις γυναίκες (αναλογία 2/1), ενώ στο 75% των περιπτώσεων η αιτία είναι άγνωστη (ιδιοπαθής ΜΣ). Η αιτιολογία της δευτεροπαθούς ΜΣ διαφέρει ανάλογα με τη γεωγραφική περιοχή (πχ η ηπατίτιδα B αποτελεί συχνό αίτιο νόσου στην Αφρικανική ήπειρο)³. Στη Βικτώρια της Αυστραλίας

μεταξύ 1995-1997 ο επιπολασμός της ΜΣ, αποδεδειγμένη με βιοψία νεφρού, υπολογίστηκε σε 13.27 περιπτώσεις ανά άτομα-χρόνια και η βλάβη αντιπροσώπευε το 10.6% όλων των περιπτώσεων σπειραματικής νόσου³.

III. Ιστολογικοί τύποι

Για την καλύτερη κατανόηση της ιστολογικής μορφολογίας της ΜΣ έχει μελετηθεί και ορισθεί η σταδιοποίηση της νόσου. Τα συστήματα ιστολογικής ταξινόμησης είναι περισσότερα από ένα αλλά οι μεταξύ τους διαφορές δεν είναι σημαντικές και οι συσχετίσεις με τα κλινικά δεδομένα και την πρόγνωση είναι παρόμοιες².

Στάδιο I: Το στάδιο αυτό είναι κοινό σε όλες τις ταξινομήσεις και χαρακτηρίζεται από την παρουσία υποεπιθηλιακών εναποθέσεων, ενώ η σπειραματική βασική μεμβράνη είναι σχετικά φυσιολογική. Επειδή το μέγεθος και η κατανομή των εναποθέσεων είναι ιδιαίτερα περιορισμένα, οι ανωμαλίες της μεμβράνης είναι ορατές μόνο με τη χρήση μικροσκόπησης υψηλής μεγέθυνσης. Ο ανοσοφθορισμός αναδεικνύει την παρουσία κοκκιωδών εναποθέσεων στη σπειραματική βασική μεμβράνη, που συνήθως είναι έντονες και στο στάδιο αυτό².

Στάδιο II: Χαρακτηρίζεται από την πάχυνση της σπειραματικής βασικής μεμβράνης και στο κοινό μικροσκόπιο. Οι εναποθέσεις περιβάλλονται από κυκλοτερείς προσεκβολές (spikes), που αποτελούνται από υλικό της βασικής μεμβράνης και είναι ιδιαίτερα ευκρινείς με τη χρήση ηλεκτρονικής μικροσκόπησης. Δημιουργούν ένα σύνθετο δίκτυο αναστομώνσεων και προσεκβολών στη βασική μεμβράνη, το οποίο δεν διακρίνεται στο κοινό μικροσκόπιο παρά μόνο εάν οι προσεκβολές αυτές (spikes) υπερβαίνουν το πάχος της μεμβράνης².

Στάδιο III: Οι εναποθέσεις στο στάδιο αυτό είναι πλέον ενδομεμβρανικές. Αυτό συμβαίνει διότι νέα στρώματα σπειραματικής βασικής μεμβράνης εναποτίθενται επάνω στις ήδη υπάρχουσες ανοσοεναποθέσεις προκαλώντας την βύθιση τους σε βαθύτερα στρώματα της δομής αυτής. Η πυκνότητα των ενδομεμβρανικών εναποθέσεων ποικίλλει. Ορισμένες έχουν ταυτόσημη πυκνότητα και άλλες έχουν μικρότερη πυκνότητα καθώς είναι πιο περιφερικές. Το κοινό μικροσκόπιο αναδεικνύει εμφανή και σημαντική πάχυνση της βασικής μεμβράνης στο στάδιο αυτό αν και η εικόνα συχνά ποικίλλει ως προς την βαρύτητα και την πολυπλοκότητα. Συγκεκριμένα το γνήσιο στάδιο III θεωρητικά συνδυάζει την παρουσία όχι μόνο ενδομεμβρανικών

εναποθέσεων αλλά προϋποθέτει και τη διαπίστωση πρόσφατα σχηματισθέντων υποεπιθηλιακών ανοσοσυμπλεγμάτων. Σε πολλές περιπτώσεις παρατηρούνται μικτές εικόνες σταδίου II και III, σε ποσοστά που ανέρχονται στο 36% των περιπτώσεων (σε μια σειρά 61 περιπτώσεων)².

Στάδιο IV: Ο ορισμός του σταδίου αυτού αποτελεί γενικά αντικείμενο διχογνωμίας. Όπως αρχικά περιγράφηκε από τους Ehrenreich & Churg², χαρακτηρίζεται από έντονη πάχυνση της βασικής μεμβράνης αλλά χωρίς εμφανείς ανοσοεναποθέσεις. Οι παραπάνω ερευνητές χαρακτήρισαν τη βλάβη αυτή ως ισοδύναμο της εξέλιξης σε τελικό στάδιο νεφρικής ανεπάρκειας².

Στάδιο V: Οι Ehrenreich & Churg² περιέγραψαν το στάδιο αυτό ως αποτέλεσμα ολικής καταστροφής των σπειραματικών θυσάνων με πολλαπλές βλάβες και πλήρη σκλήρυνση².

IV. Κλινική Εικόνα - Διάγνωση

Η τυπική κλινική εικόνα εμφάνισης είναι αυτή του νεφρωσικού συνδρόμου (80%) ή της επιμένουσας πρωτεϊνουρίας (20%)^{31,32}. Η διάγνωση της νόσου γίνεται συνήθως σε τυχαίο έλεγχο, από την παθολογική εικόνα της εξέτασης των ούρων ή με την εμφάνιση επιδεινούμενου οιδήματος στα κάτω άκρα. Η αιφνίδια εγκατάσταση νεφρωσικού συνδρόμου συσχετίζεται περισσότερο με δευτεροπαθείς μορφές της νόσου. Η πρωτεϊνουρία είναι κατά βάση μη εκλεκτική, ενώ έχουν αναφερθεί και εξαιρέσεις. Η ημερήσια απέκκριση πρωτεΐνης στη φάση της διάγνωσης ποικίλει, και μπορεί να ξεπερνά ακόμη και τα 20 g/24ωρο. Ωστόσο, μεταξύ των ασθενών με νεφρωσικό σύνδρομο στη διάγνωση, >75% παρουσιάζουν πρωτεϊνουρία 3.5-10 g/24ωρο^{2,3}. Το περιφερικό οίδημα, που παρατηρείται, οφείλεται κατά κύριο λόγο στην κατακράτηση άλατος, ενώ το οίδημα ανά σάρκα είναι συνήθως αποτέλεσμα συνδυασμού βαρύτατης πρωτεϊνουρίας και υποαλβουμιναιμίας. Υπέρταση συνήθως συνυπάρχει, αλλά σπάνια είναι μη ελεγχόμενη. Η ΜΣ είναι η συχνότερη σπειραματική νόσος που προδιαθέτει σε εκδήλωση θρομβοεμβολικών επιπλοκών, και κυρίως θρόμβωσης της νεφρικής φλέβας, επί παρουσίας νεφρωσικού συνδρόμου, με την επίπτωση να παρουσιάζει μεγάλη διακύμανση (5-50%) μεταξύ των σειρών^{2,3}. Εξαιτίας αυτής της διακύμανσης η ανάγκη ελέγχου όλων των ασθενών με μη επεμβατικές μεθόδους (spiral computed tomography, Doppler ultrasound, magnetic resonance imaging) για την ανεύρεση θρομβωμένων αγγείων δεν μπορεί να

τεκμηριωθεί επί του παρόντος. Η υπερλιπιδαιμία είναι συχνή, ενώ η νεφρική λειτουργία είναι συνήθως φυσιολογική, ή ελαφρώς επηρεασμένη. Στην πρωτοπαθή μορφή της νόσου τα επίπεδα του συμπληρώματος (C3, C4, CH50) είναι φυσιολογικά αλλά είναι συνήθως μειωμένα όταν συνυπάρχει ΣΕΛ. Παρουσία θετικών ANA (fluorescent antinuclear antibody test) μπορεί να θέσει την υποψία ΣΕΛ κυρίως σε νεαρές γυναίκες, αφού σε άτομα >60 ετών αποτελεί συχνά ψευδώς θετικό εύρημα^{2,3}.

V. Φυσική ιστορία & Εξέλιξη

Η φυσική, μη τροποποιημένη, πορεία της ιδιοπαθούς ΜΣ παρουσιάζει σημαντική ετερογένεια. Χωρίς την εφαρμογή ειδικής θεραπείας η νόσος μπορεί να παρουσιάσει: i. πλήρη και παρατεταμένη ύφεση της πρωτεϊνουρίας με σταθερή νεφρική λειτουργία, ii. πλήρη ύφεση με επεισόδια υποτροπής αλλά σταθερή νεφρική λειτουργία, iii. μερική ύφεση του νεφρωσικού συνδρόμου με ή χωρίς προοδευτική επιδείνωση της νεφρικής λειτουργίας, iv. παραμονή μη νεφρωσικού επιπέδου πρωτεϊνουρία με ή χωρίς σταδιακή έκπτωση της νεφρικής λειτουργίας, v. επίμονο νεφρωσικό σύνδρομο με βαθμιαία επιδείνωση της νεφρικής λειτουργίας, vi. νεφρωσικό σύνδρομο με οξεία ή ταχεία έκπτωση της νεφρικής λειτουργίας.

Έως και 22% των ασθενών εμφανίζουν αυτόματη ύφεση εντός 36 μηνών. Η εκδήλωση έστω και ενός επεισοδίου αυτόματης πλήρους ύφεσης έχει συσχετισθεί με σπανιότερη (<1%) εξέλιξη σε τελικού σταδίου νεφρικής νόσου. Το φαινόμενο είναι συχνότερο στο γυναικείο φύλο^{3,33-38}.

VI. Πρόγνωση

Από σειρά μελετών επί της κλινικής πορείας της νόσου έχουν αναγνωρισθεί παράγοντες, οι οποίοι με τη παρουσία τους στη φάση της διάγνωσης συσχετίζονται με δυσμενή πρόγνωση. Στους παράγοντες αυτούς περιλαμβάνονται, η μεγαλύτερη ηλικία, το ανδρικό φύλο, η φυλή (Αφρο-Αμερικανός, Καυκάσιος), η επίμονη βαριά πρωτεϊνουρία (>3.5g/dl), η σοβαρή υποαλβουμιναιμία, η μειωμένη εκλεκτικότητα πρωτεϊνουρίας, η επίμονη απέκκριση μεγάλων ποσοτήτων β₂ μικροσφαιρίνης, ή άλλων χαμηλού MB πρωτεϊνών, που συνήθως απορροφώνται από τα σωληνάκια, η έκπτωση της νεφρικής λειτουργίας, η αρτηριακή υπέρταση, η υπερλιπιδαιμία, η χρόνια σωληναριοδιάμεση ίνωση και σωληναριακή ατροφία, το προχωρημένο στάδιο σπειραματικής βλάβης, η παρουσία μηνοειδών σχηματισμών στη νεφρική βιοψία, η

σταθερή απέκκριση στοιχείων του συμπληρώματος (C5b-C9, C3d) στα ούρα, καθώς και η παρουσία συγκεκριμένων αντιγόνων των ανθρώπινων λευκοκυττάρων^{39,40}.

Η νεφρική επιβίωση υπολογίζεται σε 86% στα 5 χρόνια, 65% στα 10 χρόνια και 59% στα 15 χρόνια με την αξιοποίηση διαφόρων διαθέσιμων θεραπειών³. Η προοδευτική επιδείνωση της νεφρικής λειτουργίας (καθοριζόμενη ως διπλασιασμός της κρεατινίνης ορού) υπολογίστηκε στο 12% σε 2-3 έτη παρακολούθησης σε ασθενείς που δεν έλαβαν θεραπεία^{3,35,36}.

VII. Θεραπεία

Η κλινική πορεία της ιδιοπαθούς ΜΣ χαρακτηρίζεται από εξαιρετική ποικιλομορφία και αυτός είναι ο κυριότερος παράγοντας, ο οποίος επιβάλλει εξατομικευμένη αντιμετώπιση, ανάλογα με τη βαρύτητα του κλινικού συνδρόμου αλλά και τις επιμέρους προγνωστικές παραμέτρους, που χαρακτηρίζουν κάθε περίπτωση. Είναι δε πρωταρχικής σημασίας, η ομαδοποίηση των ασθενών με βάση το κίνδυνο εξέλιξης σε νεφρική ανεπάρκεια, γεγονός το οποίο παίζει καθοριστικό ρόλο στην απόφαση, να λάβει ή όχι ο ασθενής ειδική ανοσοκατασταλτική θεραπεία προσδιορίζοντας την αναλογία οφέλους – κινδύνου^{35,36}.

Αξιολόγηση του κινδύνου για εξέλιξη σε χρόνια νεφρική νόσο

Οι ασυμπτωματικοί ασθενείς με φυσιολογική κάθαρση κρεατινίνης κατά το χρόνο διάγνωσης της νόσου, μέγιστη πρωτεϊνουρία έως 4 g/24ωρο και σταθερή νεφρική λειτουργία κατά τη διάρκεια παρακολούθησης 6 μηνών, θεωρούνται *χαμηλού κινδύνου* για εξέλιξη σε νεφρική ανεπάρκεια^{39,40}. Ασθενείς *μετρίου κινδύνου* είναι όσοι έχουν φυσιολογική νεφρική λειτουργία κατά την εκδήλωση της νόσου, η οποία παραμένει αμετάβλητη σε παρακολούθηση 6 μηνών, ενώ παράλληλα παρουσιάζουν πρωτεϊνουρία μεταξύ 4-8 g/24ωρο στη περίοδο αυτή.

Ασθενείς *υψηλού κινδύνου* είναι όσοι παρουσιάζουν πρωτεϊνουρία της τάξεως των 8 g/24ωρο ή και μεγαλύτερη σε χρονικό διάστημα παρακολούθησης τουλάχιστον 6 μηνών, με ή χωρίς έκπτωση της νεφρικής λειτουργίας, ή και περαιτέρω επιδείνωση στη διάρκεια της περιόδου αυτής.

Τα θεραπευτικά μέτρα για την αντιμετώπιση των ασθενών με ιδιοπαθή ΜΣ περιλαμβάνουν τη μη ειδική θεραπεία, τα ειδικά ανοσοκατασταλτικά φάρμακα και την αντιμετώπιση των δευτεροπαθών επιπλοκών του νεφρωσικού συνδρόμου^{35,36}.

i. Μη Ειδική Θεραπεία

Μια πρώτη θεραπευτική προσέγγιση των ασθενών με ιδιοπαθή ΜΣ είναι η προσπάθεια μείωσης της πρωτεϊνουρίας με μη ανοσοκατασταλτικούς παράγοντες, μέσω αναστολής του συστήματος ρενίνης αγγειοτασίνης αλδοστερόνης. Πολλές μελέτες έχουν αποδείξει την αποτελεσματικότητα των αναστολέων του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτασίνης (α-MEA) στην μείωση της πρωτεϊνουρίας και την επιβράδυνση της εξέλιξης της νεφρικής ανεπάρκειας σε διαβητικούς και μη ασθενείς. Η κατηγορία αυτή των φαρμάκων μειώνει την ενδοσπειραματική τριχοειδική πίεση, την υπερδιήθηση πρωτεϊνών, και βελτιώνει την εκλεκτικότητα του σπειραματικού φραγμού τόσο σε πειραματικά μοντέλα νεφρικών νόσων όσο και στον άνθρωπο⁴¹⁻⁴³.

Σε μια μελέτη με 14 ασθενείς με ιδιοπαθή ΜΣ και επίμονη πρωτεϊνουρία πάνω από 3 g/24ωρο, για διάστημα μεγαλύτερο από 6 μήνες, μελετήθηκε η πρωτεϊνουρία, ο ρυθμός σπειραματικής διήθησης (Glomerular Filtration Rate, GFR), η κάθαρση αλβουμίνης και ουδέτερης δεξτράνης μετά από 2 μήνες θεραπεία με εναλαπρίλη (2.5-20 mg/d), καθώς και 2 μήνες μετά το τέλος της θεραπείας. Από τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής στο τέλος της θεραπείας, υπήρχε στατιστικά σημαντική μείωση της αρτηριακής πίεσης (ΑΠ), της πρωτεϊνουρίας, της κλασματικής απέκκρισης αλβουμίνης και ουδέτερης δεξτράνης. Μετά τη διακοπή της εναλαπρίλης παρατηρήθηκε αύξηση μόνο στην ΑΠ, ενώ όλα τα υπόλοιπα παρέμειναν αμετάβλητα. Η θεωρητική ανάλυση των παραπάνω υποδεικνύει, ότι η χορήγηση των (α-MEA) βελτιώνει σημαντικά την εκλεκτική δυσλειτουργία του σπειραματικού φραγμού που παρατηρείται στις περιπτώσεις αυτές⁴¹⁻⁴³.

Παρά το γεγονός ότι και η σχετική μείωση της πρωτεϊνουρίας αποτελεί θετικό αποτέλεσμα, ο στόχος είναι να επιτευχθεί πρωτεϊνουρία <0.5 g/24ωρο, το οποίο δεν παρατηρείται πάντα με τη χορήγηση των α-MEA. Για το λόγο αυτό δοκιμάστηκε η χορήγηση του συνδυασμού ενός α-MEA της βεναζαπρίλης, με ένα αποκλειστή των υποδοχέων αγγειοτασίνης II (AT-II), τη βαλσαρτάνη σε 24 ασθενείς για 8 βδομάδες και αποδείχθηκε ότι ο συνδυασμός ήταν πιο δραστικός στη μείωση της πρωτεϊνουρίας από το κάθε φάρμακο ξεχωριστά, για συγκρίσιμα επίπεδα ΑΠ. Άλλη μελέτη έχει δείξει ότι ο συνδυασμός των δυο κατηγοριών φαρμάκων παρουσιάζει συνέργεια στην επιβράδυνση της εξέλιξης της νεφρικής νόσου⁴¹⁻⁴³.

Συνοψίζοντας, οι παράγοντες που σχετίζονται με αναστολή του συστήματος ρενίνης αγγειοτασίνης αλδοστερόνης, έχουν ένδειξη σε ασθενείς με ΜΣ και

χορηγούνται με στόχο την επίτευξη ΑΠ <130/80 mmHg και μείωση της πρωτεϊνουρίας <0.5 g/24ωρο. Αρχικά χορηγείται ένας α-MEA στην μικρότερη συνιστώμενη δόση και προοδευτικά τιτλοποιείται στη μέγιστη δόση, με παράλληλο έλεγχο της κρεατινίνης και του καλίου του ορού. Εάν δεν επιτευχθεί πρωτεϊνουρία <0.5 g/24ωρο, και η συγκέντρωση του καλίου του ορού παραμένει <5 mEq/L, προστίθενται ένας AT-II σε προοδευτικά αυξανόμενη δόση.

Η χορήγηση διουρητικών είναι σχεδόν πάντα απαραίτητη στην ιδιοπαθή ΜΣ, όχι μόνο για τον έλεγχο του οιδήματος, αλλά και την επίτευξη της επιθυμητής ΑΠ, τη μεγιστοποίηση της δράσης των α-MEA και AT-II και τον έλεγχο της υπερκαλιαιμίας^{37,41-43}. Αν παρά τη τιτλοποίηση των παραπάνω φαρμακευτικών παραγόντων δεν επιτυγχάνεται πλήρης ρύθμιση της ΑΠ, και κυρίως όταν παρουσιάζονται ανεπιθύμητες ενέργειες, επιβάλλεται η επιστράτευση αντι-υπερτασικών παραγόντων, όπως οι αναστολείς των β υποδοχέων και οι αναστολείς διαύλων ασβεστίου⁴³, κυρίως τα μη διυδροπυρινικά παράγωγα.

Επιπλέον, επειδή η αλδοστερόνη ενοχοποιείται για την ανάπτυξη ίνωσης, από μελέτες σε ζώα. Γι αυτό έχει προταθεί η χορήγηση του ανταγωνιστή της σπειρονολακτόνης για τη μείωση της πρωτεϊνουρίας και την αναχαίτιση της εξέλιξης της νεφρικής νόσου. Συγκεκριμένα έχει δοκιμαστεί η χορήγηση 100 mg σπειρονολακτόνης ημερησίως σε 11 ασθενείς με ΜΣ για δύο μήνες σε συνδυασμό με α-MEA³. Παρά το γεγονός ότι η ΑΠ μειώθηκε σημαντικά, η πρωτεϊνουρία δεν βελτιώθηκε και παρατηρήθηκε σημαντική υπερκαλιαιμία. Η ανεπιθύμητη αυτή ενέργεια αποτρέπει από την χρήση του παράγοντα αυτού στην αντιμετώπιση της ΜΣ.

Αρκετά χρόνια νωρίτερα υπήρξε η σκέψη να δοκιμαστεί η επίδραση των μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων και μάλιστα της ινδομεθακίνης στην ιδιοπαθή ΜΣ, ωστόσο η ιδέα αυτή εγκαταλείφθηκε στη συνέχεια. Συγκεκριμένα, συγκρίθηκε η επίδραση στην πρωτεϊνουρία ενός α-MEA, της ραμιπρίλης, ή του ίδιου α-MEA σε συνδυασμό με την ινδομεθακίνη. Διαπιστώθηκε ότι δεν υπάρχει περαιτέρω μείωση στην πρωτεϊνουρία⁴⁴.

Συμπληρωματικά, στη συμπτωματική αντιμετώπιση της ιδιοπαθούς ΜΣ περιλαμβάνονται η αντιμετώπιση των επιπλοκών του νεφρωσικού συνδρόμου, και συγκεκριμένα η υπερλιπιδαιμία και η κατάσταση υπερπηκτικότητας. Η σπουδαιότητα της αντιμετώπισης της υπερλιπιδαιμίας αποδείχθηκε σε μελέτη με 142 νεφρωσικούς ασθενείς (28% με ιδιοπαθή ΜΣ), οι οποίοι παρακολουθήθηκαν για 6 περίπου έτη, σε

ότι αφορά την επίπτωση στεφανιαίων επεισοδίων και τη θνητότητα και διαπιστώθηκε ότι ο σχετικός κίνδυνος σε σχέση με την ομάδα ελέγχου ήταν 5.5 για τα μη θανατηφόρα στεφανιαία επεισόδια και 2.8 για το θάνατο από καρδιαγγειακά αίτια. Η χορήγηση αναστολέων της ρεδουκτάσης (HMG-Co-A) έχει αποδειχθεί ότι μειώνει κατά 20-30% την ολική και την LDL χοληστερόλη και έχει ένδειξη στην αντιμετώπιση των ασθενών αυτών⁴⁵⁻⁴⁶.

Η υπερπηκτικότητα που σχετίζεται με το νεφρωσικό σύνδρομο, ο κίνδυνος θρομβοεμβολικών επεισοδίων και η επακόλουθη νοσηρότητα και θνητότητα θέτουν σε προβληματισμό τον κλινικό νεφρολόγο. Η εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση και η θρόμβωση της νεφρικής φλέβας συμβαίνουν συχνότερα στην ιδιοπαθή ΜΣ από ότι στις άλλες περιπτώσεις νεφρωσικού συνδρόμου. Ο κίνδυνος για εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση έχει υπολογισθεί στο 11%, κλινικά σοβαρής πνευμονικής εμβολής στο 11%, και θρόμβωσης της νεφρικής φλέβας στο 35%. Η απόφαση για τη χορήγηση προληπτικής αντιπηκτικής αγωγής με βαρφαρίνη ή μη έως την εκδήλωση κάποιου θρομβωτικού επεισοδίου είναι ένα υπαρκτό πρόβλημα⁴⁷⁻⁴⁹ και πρέπει να κρίνεται κατά περίπτωση. Μεταξύ άλλων η σοβαρή υπολαβουμιναιμία πρέπει να εγείρει την σκέψη για έναρξη προληπτικής αντιπηκτικής αγωγής⁴⁷⁻⁴⁹.

ii. Ειδική Ανοσοκατασταλτική Θεραπεία

Περιλαμβάνει τη χορήγηση κορτικοστεροειδών και κυτταροτοξικών φαρμάκων καθώς και νεώτερων παραγόντων .

i. **Τα κορτικοστεροειδή** έχουν χρησιμοποιηθεί στο παρελθόν στη θεραπεία της ιδιοπαθούς ΜΣ, ωστόσο από αρκετές ελεγχόμενες μελέτες δεν έχει προκύψει σαφές όφελος από τη χορήγηση των παραγόντων αυτών στην έκβαση της νόσου.

Συγκεκριμένα, σε μια μελέτη με 19 ασθενείς με ιδιοπαθή ΜΣ και νεφρωσικό σύνδρομο δόθηκε μετά από τυχαιοποίηση, συμπτωματική θεραπεία ή πρεδνιζολόνη σε μέση δόση 20-30 mg/24ωρο για τουλάχιστον 6 μήνες. Μετά από δύο έτη παρακολούθησης, το 20% της ομάδας ελέγχου, και το 40% των ασθενών που έλαβαν θεραπεία, είχαν πρωτεϊνουρία <1g/24ωρο, με τη διαφορά να μην είναι στατιστικά σημαντική. Οι ανεπιθύμητες ενέργειες ήταν συχνές, στην τελευταία ομάδα σημειώθηκαν 6 θάνατοι από καρδιαγγειακά αίτια στην ομάδα της πρεδνιζολόνης και 1 στην ομάδα ελέγχου³¹.

Στην Καναδική μελέτη, όπου χορηγήθηκαν μέτριες δόσεις πρεδνιζολόνης, 120 ασθενείς με νεφρωσικού επιπέδου πρωτεϊνουρία και 38 με μικρότερη πρωτεϊνουρία, έλαβαν συμπτωματική θεραπεία ή πρεδνιζολόνη, 45 mg/24ωρο, κάθε δεύτερη μέρα για 6 μήνες, με παρακολούθηση για 4 έτη. Η θεραπεία ήταν καλά ανεκτή, αλλά δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δυο ομάδες, σε οποιαδήποτε χρονική στιγμή, τόσο στην πρωτεϊνουρία όσο και στην κάθαρση κρεατινίνης⁴⁹.

Σε μια πολυκεντρική μελέτη από τις ΗΠΑ, 72 ασθενείς με νεφρωσικό σύνδρομο και ιδιοπαθή ΜΣ έλαβαν τυχαίοποιημένα συμπτωματική θεραπεία ή σε υψηλή (125 mg/24ωρο) παρ ημέρα δόση πρεδνιζολόνης για 2 μήνες, με προοδευτική μείωση στη συνέχεια. Στη διάρκεια της παρακολούθησης υπήρξαν σημαντικά περισσότερες υφέσεις της πρωτεϊνουρίας στην ομάδα της πρεδνιζολόνης, (22 έναντι 11), από ότι στην ομάδα ελέγχου, αλλά εξαιτίας των συχνών υποτροπών στο τέλος, ο αριθμός των ασθενών σε πλήρη ύφεση δεν διέφερε μεταξύ των δυο ομάδων⁵⁰. Το ίδιο πρωτόκολλο θεραπείας, σε μια πολυκεντρική μελέτη στη Μεγ. Βρετανία, επαναλήφθηκε 10 χρόνια αργότερα σε ένα σύνολο 107 νεφρωσικών ασθενών με παρακολούθηση τουλάχιστον 3 έτη, χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δύο ομάδες⁵⁰.

Συμπερασματικά, από τις μέχρι τώρα μελέτες δεν έχει αποδειχθεί όφελος από τη χορήγηση των κορτικοειδών σε ασθενείς με ιδιοπαθή ΜΣ. Το γεγονός αυτό επιβεβαιώθηκε από μια μετα-ανάλυση που έδειξε ότι δεν υπερέχει η θεραπεία με κορτικοειδή της συμπτωματικής αγωγής, τόσο στον έλεγχο της πρωτεϊνουρίας, όσο και στην εξέλιξη της νεφρικής βλάβης³⁷.

ii. **Κυτταροτοξικά φάρμακα:** Η εναλλακτική χορήγηση κυτταροτοξικού φαρμάκου με κορτικοστεροειδή αποτελεί την κλασική πλέον αντιμετώπιση της ιδιοπαθούς ΜΣ, με σκοπό την πρόκληση ύφεσης του νεφρωσικού συνδρόμου. Χρησιμοποιείται ένας αλκυλιούντας παράγοντας η χλωραμβουκίλη, σε εναλλαγή με κορτικοειδή ανά μήνα για διάστημα 6 μηνών. Ειδικότερα, οι χορηγούμενες δόσεις είναι 1g μεθυλ-πρεδνιζολόνης για τις 3 πρώτες ημέρες του μήνα και στη συνέχεια πρεδνιζολόνη per os (0.5 mg/kg/24ωρο), ενώ τον επόμενο μήνα χορηγείται χλωραμβουκίλη σε δόση 0.2 mg/kg/24ωρο. Οι κύκλοι των στεροειδών αντιστοιχούν στους μήνες 1, 3, 5 και της χλωραμβουκίλης στους μήνες 2,4,6⁵¹⁻⁵³.

Από τη μελέτη ασθενών με νεφρωσικό σύνδρομο και ιδιοπαθή ΜΣ, που έλαβαν την παραπάνω θεραπεία, συγκριτικά με άλλους που έλαβαν συμπτωματική αγωγή,

προέκυψε ότι μετά από παρακολούθηση 31 μηνών, η ομάδα που έλαβε κυτταροτοξικά φάρμακα είχε καλύτερη νεφρική λειτουργία και περισσότερες περιπτώσεις πλήρους και μερικής ύφεσης από την ομάδα ελέγχου. Επιπλέον σε παρακολούθηση 5 ετών, φάνηκε ότι 23 από 32 ασθενείς που είχαν λάβει τη θεραπεία ήταν σε ύφεση (12 πλήρη και 11 μερική), ενώ σε ύφεση ήταν μόνο 9 από τους 30 ασθενείς της ομάδας ελέγχου (2 πλήρη και 7 μερική). Η κρεατινίνη ορού ήταν σημαντικά χαμηλότερη (2.6mg/dl έναντι 1.3mg/dl κατά μέση τιμή) στη πρώτη ομάδα ενώ η πολυπαραγοντική ανάλυση έδειξε, ότι ο κίνδυνος για την ανάπτυξη νεφρικής ανεπάρκειας σχετιζόταν με τη μη χορήγηση ανοσοκατασταλτικής θεραπείας και την ύπαρξη διαμεσοσωληναριακών βλαβών στη βιοψία νεφρού^{37,50}.

Σε μια άλλη μελέτη, με σκοπό τη σύγκριση του παραπάνω σχήματος με ένα αντίστοιχο, όπου η χλωραμβουκίλη αντικαταστάθηκε από κυκλοφωσφαμίδη (2.5 mg/kg/24ωρο per os), σε 87 ασθενείς με ιδιοπαθή ΜΣ και βαρύ νεφρωσικό σύνδρομο, τα ποσοστά ύφεσης της πρωτεϊνουρίας ήταν 82% στην ομάδα της χλωραμβουκίλης και 93% στην ομάδα της κυκλοφωσφαμίδης. Τα ποσοστά υποτροπής ήταν 30.5% και 25% αντίστοιχα, ενώ η νεφρική λειτουργία ήταν σταθερή και στις δύο ομάδες σε χρονικό διάστημα παρακολούθησης 3 ετών. Οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι και οι δυο αυτοί παράγοντες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την επίτευξη ύφεσης⁵⁴.

Η χορήγηση κυκλοφωσφαμίδης χωρίς κορτικοειδή, αξιολογήθηκε σε μια μελέτη στην Αυστραλία όπου δόθηκε κυκλοφωσφαμίδη σε συνδυασμό με διπυριδαμόλη και βαρφαρίνη σε 54 ασθενείς με ιδιοπαθή ΜΣ για 3 έτη. Η ομάδα που έλαβε το σχήμα αυτό είχε σημαντικά χαμηλότερη πρωτεϊνουρία και υψηλότερη αλβουμίνη ορού σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου στο τέλος της παρακολούθησης⁵⁵.

Στη περίπτωση ωστόσο που υπάρχει έκπτωση της νεφρικής λειτουργίας απαιτείται ιδιαίτερη προσοχή, γιατί αφενός μεν αυξάνεται η πιθανότητα εκδήλωσης ανεπιθύμητων ενεργειών από τα παραπάνω φάρμακα, αφετέρου η ύπαρξη σπειραματικής σκλήρυνσης και διάμεσης ίνωσης ελαττώνει την δυνατότητα αναστρεψιμότητας της κατάστασης. Στις περιπτώσεις αυτές συνιστάται μείωση της συνιστώμενης δόσης, ενώ οποιαδήποτε θεραπευτική προσπάθεια είναι επικίνδυνη σε ασθενείς με κρεατινίνη ορού πάνω από 4 mg/dl, με ρικνούς και ηχωγενείς νεφρούς στο υπερηχογράφημα καθώς και στοιχεία ενδεικτικά χρόνιας βλάβης όπως σπειραματική σκλήρυνση και διάμεση ίνωση⁵⁰.

iii. **Κυκλοσπορίνη** Ένας άλλος ανοσοκατασταλτικός παράγοντας που έχει δοκιμαστεί στην αντιμετώπιση της ιδιοπαθούς ΜΣ είναι η κυκλοσπορίνη. Σε μια τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη μελέτη, όπου οι ασθενείς είχαν ήδη πριν την εισαγωγή τους επηρεασμένη νεφρική λειτουργία (έναρξη με GFR~50 ml/ml), χορηγήθηκε κυκλοσπορίνη (3.5 mg/kg/24ωρο) για ένα χρόνο, και τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν με μια ομάδα που έλαβε placebo. Η ομάδα της κυκλοσπορίνης παρουσίασε σημαντική μείωση στη πρωτεϊνουρία (από 11.5 σε 7.9 g/24ωρο) και επιβράδυνση του ρυθμού έκπτωσης της νεφρικής λειτουργίας, όπως έδειξε η μέτρηση της κάθαρσης κρεατινίνης και της διολίσθησης της κρεατινίνης ορού. Τα θετικά αυτά αποτελέσματα επιτεύχθηκαν σε περισσότερο από το 50% των ασθενών και διατηρήθηκαν 2 έτη μετά τη διακοπή της θεραπείας^{35,36}.

Σε μια προσπάθεια να διερευνηθεί η καταλληλότερη δόση κυκλοσπορίνης και η διάρκεια της θεραπείας, χορηγήθηκε κυκλοσπορίνη, με ή χωρίς κορτικοειδή, σε 51 ασθενείς με ΜΣ και νεφρωσικό σύνδρομο. Μετά από 12 μήνες παρακολούθησης, η νεφρική λειτουργία και ο αριθμός των υφέσεων δεν διέφερε ανάμεσα στις δύο ομάδες. Ωστόσο, παρατηρήθηκε μεγαλύτερος αριθμός υποτροπών στην ομάδα που ελάμβανε μονοθεραπεία με κυκλοσπορίνη και συσχετίστηκε με επίπεδα <100 ng/ml για την μέτρηση πριν την χορήγηση⁵⁶.

Ο προβληματισμός σε σχέση με το φάρμακο αυτό έγκειται στη δυνητική νεφροτοξική και υπερτασιογόνο δράση του, η οποία είναι εξαρτώμενη από τη χορηγούμενη δόση και την ηλικία του ασθενούς καθώς και από τις διαμεσοσωληναριακές βλάβες στη βιοψία νεφρού⁵⁷. Τυχαιοποιημένη μελέτη, η οποία συγκρίνει τα άμεσα ή απώτερα αποτελέσματα της θεραπείας με κυτταροτοξικά φάρμακα με αυτά της θεραπείας με κυκλοσπορίνη δεν αναφέρεται στην βιβλιογραφία μέχρι σήμερα. Ωστόσο, από αναδρομική πολυκεντρική μελέτη, στην οποία αξιολογήθηκαν τα ιστολογικά δείγματα από ασθενείς, που υπεβλήθησαν σε επαναληπτικές βιοψίες νεφρού μετά από θεραπεία με κυκλοσπορίνη, δεν ανεδείχθη μείωση της εναπόθεσης ανοσοσυμπλεγμάτων, ενώ οι ασθενείς με σημαντική ίνωση στην βιοψία νεφρού είχαν περισσότερες πιθανότητες προοδευτικής επιδείνωσης^{58,59}. Για τους λόγους αυτούς θα πρέπει να αποφεύγεται σε ασθενείς με κάθαρση κρεατινίνης (creatinine clearance, C_{Cr}) < 60ml/min, σοβαρή ή μη ελεγχόμενη αρτηριακή υπέρταση, διάμεση ίνωση και σωληναριακή ατροφία. Για τους ασθενείς που λαμβάνουν τη θεραπεία αυτή, θεωρείται ασφαλές η πιθανή αύξηση της

κρεατινίνης ορού να μην ξεπερνά το 30% της αρχικής τιμής, η μέση δόση να βρίσκεται στα 3-4 mg/kg/24ωρο και τα επίπεδα πριν τη φόρτιση να είναι μεταξύ 75-200 ng/ml^{35,36,56-60}.

Εναλλακτικές Θεραπευτικές Προσεγγίσεις

Η χορήγηση του Mycophenolate Mofetil (MMF) στην ιδιοπαθή ΜΣ δοκιμάστηκε πρώτα σε πειραματόζωα από τους Penny και συν. σε αρχικό στάδιο του μοντέλου Heyman, με αποτέλεσμα την εξαφάνιση ουσιαστικά της πρωτεϊνουρίας και τη σημαντική μείωση της λεμφοκυτταρικής διήθησης του νεφρικού ιστού. Η χορήγηση MMF σε ασθενείς με ιδιοπαθή ΜΣ έχει επίσης δοκιμαστεί σε ελεγχόμενες μελέτες χωρίς ωστόσο να επιβεβαιωθούν τα παραπάνω αποτελέσματα. Στην πρώτη περιλήφθηκαν 16 ασθενείς μετρίου ή υψηλού κινδύνου, που έλαβαν 1.5-2 gMMF/24ωρο για 8 μήνες. Μερική ύφεση της τάξης του 50% επιτεύχθηκε σε 6 ασθενείς⁵⁰. Πιο πρόσφατες μελέτες είχαν παρόμοια αποτελέσματα^{61,62,58}, ενώ ο συνδυασμός με πρεδνιζολόνη φάνηκε πιο αποτελεσματικός⁶³. Η διάσταση των αποτελεσμάτων ανάμεσα στο πειραματικό μοντέλο και τους ασθενείς με ιδιοπαθή ΜΣ αποδόθηκε στο ότι τα πειραματόζωα βρίσκονταν στο πλέον αρχόμενο στάδιο της νόσου και ασθενείς με τέτοιου επιπέδου βλάβη είναι πολύ σπάνιο να εντοπισθούν, ενώ επιπλέον οι περισσότεροι ασθενείς είχαν νεφρωσικό σύνδρομο ανθεκτικό στις ήδη γνωστές θεραπείες.

Υπάρχουν εξάλλου μικρές σειρές ασθενών όπου αναφέρεται χορήγηση του συνθετικού αναλόγου της φλοιοεπινεφριδιοτρόπου ορμόνης (Adrenocorticotropi hormone ACTH), είτε κατά αποκλειστικότητα, είτε σε συνδυασμό με άλλους θεραπευτικούς παράγοντες, με αποτελέσματα τα οποία δεν είναι ακόμη δυνατό να αξιολογηθούν σε κλινική βάση². Μια πιλοτική μελέτη έδειξε ότι όταν η ACTH χορηγήθηκε για ένα έτος σε 8 ασθενείς με ΜΣ, οδήγησε σε ύφεση σε 7 από αυτούς. Με βάση τα δεδομένα αυτά, σε μια προσπάθεια να αξιολογηθεί η χρησιμότητα της ACTH στη ΜΣ, συγκρίθηκε η δράση της (1 mg δυο φορές την εβδομάδα ενδομυϊκά) με το κλασικό σχήμα κυτταροτοξικού παράγοντα σε εναλλαγή με κορτικοστεροειδή. Η μέση τιμή της πρωτεϊνουρίας μειώθηκε από 6 g/24ωρο στην ομάδα της ACTH σε 0.3 g/24ωρο και στην άλλη ομάδα από 5.1 σε 2.1 g/24ωρο².

Σε άλλη μελέτη έχει χρησιμοποιηθεί η πεντοξυφυλλίνη στη θεραπεία της ιδιοπαθούς ΜΣ, ως αναστολέας της παραγωγής TNF-α. Συγκεκριμένα, χορηγήθηκε

πεντοξυφυλλίνη σε 10 ασθενείς με ιδιοπαθή ΜΣ, σε δόση 1200 mg/24ωρο για 6 μήνες, με επακόλουθο σημαντική μείωση της λευκωματουρίας και αύξηση της αλβουμίνης του ορού στο 90% των ασθενών στο 6μηνο²⁹. Η διαθεσιμότητα ασφαλών, ειδικών αναστολέων του TNF-α, που μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε ανθρώπους, προσφέρει επιπλέον τη δυνατότητα να διερευνηθεί ειδικά ο ρόλος του TNF-α στην παθογένεση και τη θεραπεία της ΜΣ.

Μεταξύ των εναλλακτικών θεραπειών ανήκει και η χορήγηση του μονοκλωνικού αντισώματος Rituximab⁶⁴, η οποία είχε ενθαρρυντικά αποτελέσματα σε σύνολο 8 ασθενών με μέση πρωτεϊνουρία 8.6 g/24ωρο με μείωση της πρωτεϊνουρίας κατά 66%, της κλασματικής απέκκρισης αλβουμίνης κατά 76% και αύξηση της αλβουμίνης ορού κατά 41% σε μέσο χρόνο παρακολούθησης 20 εβδομάδων.

Δεν παρατηρήθηκαν σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες, ενώ η νεφρική λειτουργία παρέμεινε σταθερή. Το Rituximab είναι χειμερικό μονοκλωνικό αντίσωμα (αντι CD20), που δρα αναστέλλοντας τον μέσω του CD20 αντιγόνου πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των Β λεμφοκυττάρων. Το CD20 αντιγόνο είναι μια μεμβρανική πρωτεΐνη, που ανιχνεύεται στα Β κύτταρα, φυσιολογικά και κακοήθη, όπως αυτά των μη Hodgkin λεμφωμάτων. Εισήχθη στη θεραπευτική των αιματολογικών παθήσεων στο τέλος της δεκαετίας 1990, και έκτοτε έχει χορηγηθεί σε περισσότερους από 500.000 ασθενείς⁶⁵. Η αξιοποίηση του σε ποικίλες νοσολογικές οντότητες, που εκφράζονται με νεφρωσικό σύνδρομο και σπειραματονεφρίτιδα, ανακινήθηκε τα τελευταία χρόνια με ιδιαίτερα ενδιαφέροντα αποτελέσματα^{65,66}. Σε μικρές σειρές ασθενών, αλλά και αρκετές αναφορές περιπτώσεων, αναφέρεται ύφεση της πρωτεϊνουρίας^{65,67}. Ωστόσο, η έλλειψη τυχαιοποιημένων ελεγχόμενων μελετών και μακροχρόνιας παρακολούθησης αποκλείει την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων.

2. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Εισαγωγή

Η θεραπευτική προσέγγιση της ιδιοπαθούς ΜΣ αποτελεί από έτη ένα κλινικό πρόβλημα και μια πρόκληση για το νεφρολόγο, το οποίο παραμένει μπροστά σε κάθε νέα περίπτωση της νόσου. Πέρα από τις καθιερωμένες θεραπείες, οι αλληπάλληλες προσπάθειες της βασικής κλινικής έρευνας συνεχώς αναδεικνύουν πιθανές διεξόδους στην αντιμετώπιση της. Η εξατομίκευση της θεραπείας αποτελεί τον κύριο στόχο, αφού η νόσος παρουσιάζει σημαντική ετερογένεια στην κλινική εικόνα και έκβαση και υπάρχουν σημαντικά κενά στη γνώση της αιτιοπαθογένειας. Η προσέγγιση με βάση τα ειδικά χαρακτηριστικά του κάθε ασθενούς θα αποτελούσε την ιδεώδη μορφή θεραπείας της ΜΣ. Στην προσπάθεια εισαγωγής θεραπευτικών παραγόντων, που θα μειώσουν την τοξικότητα στα ελάχιστα δυνατά όρια και θα επιτρέψουν καλύτερη μακροπρόθεσμη πρόγνωση για τους ασθενείς με ιδιοπαθή ΜΣ μελετήσαμε την παρέμβαση σε δύο παθοφυσιολογικά κανάλια που πιθανολογείται ότι εμπλέκονται στην παθογένεια της νόσου: Α) Την αναστολή του TNF-α και την Β) Την προσωρινή εξάλειψη των Β λεμφοκυττάρων.

A. Αναστολή του TNF-α στην Ιδιοπαθή ΜΣ

I. Σκοπός

Η Αξιολόγηση της ασφάλειας και της ανοχής στη χορήγηση του παράγοντα Etanercept (ET), που αναστέλλει τη σύνδεση του TNF-α στους υποδοχείς του, καθώς και της ενδεχόμενης αποτελεσματικότητας του στη θεραπεία της ιδιοπαθούς ΜΣ.

II. Μεθοδολογία

Ορισμοί

- Πλήρης ύφεση: ελάττωση της πρωτεϊνουρίας σε <0.3 g/24ωρο
- Μερική ύφεση: μείωση $>50\%$ από την τιμή ένταξης και πρωτεϊνουρία <3 g/24ωρο.
- Υποτροπή: παρόμοια μεταβολή της πρωτεϊνουρίας, όπως στην ανταπόκριση αλλά προς την αντίθετη κατεύθυνση (αύξηση στην πρωτεϊνουρία).

Διάρκεια της μελέτης

Όλοι οι ασθενείς έλαβαν θεραπεία με ET για τουλάχιστον 3 μήνες. Όσοι ανταποκρίθηκαν στη θεραπεία αυτή συνέχισαν την αγωγή για 3 επιπλέον μήνες. Οι ασθενείς που δεν ανταποκρίθηκαν και διεκόπη η θεραπεία με Etanercept στο τρίμηνο, παρέμειναν υπό συμπτωματική αγωγή για ένα επιπλέον τρίμηνο. Οι ασθενείς που υποτροπίασαν μετά την αρχική ανταπόκριση, έλαβαν Etanercept και πάλι για διάστημα μέχρι 1 χρόνο. Οι ασθενείς που ανταποκρίθηκαν παρακολουθούνταν για έναν επιπλέον χρόνο για ενδεχόμενη υποτροπή. Όλοι οι ασθενείς παρακολουθήθηκαν για τοξικότητα-αποτελεσματικότητα επί ένα χρόνο μετά την ολοκλήρωση της θεραπείας (συνολικά 1.5 έτη).

Αριθμός ασθενών

Με βάση το σχεδιασμό της μελέτης, συνολικά 15-20 ασθενείς επρόκειτο να συμπεριληφθούν, ώστε λαμβάνοντας υπόψη τυχόν περιπτώσεις απόσυρσης να παραμείνουν τουλάχιστον 12-15 ασθενείς προς τελική αξιολόγηση.

Δοσολογία και Χορήγηση

Το Etanercept χορηγείτο υποδορίως, σε δόση 25 mg δυο φορές την εβδομάδα. Η πρώτη χορήγηση του ET γινόταν ενδοноσοκομειακά, ώστε να είναι δυνατή η άμεση αντιμετώπιση ενδεχόμενης αλλεργικής αντίδρασης.

Επιλογή ασθενών

Κριτήρια ένταξης

1. Νεφρική βιοψία με ιστολογικά ευρήματα ΜΣ εντός της τελευταίας 2ετίας.
2. Ελάχιστη πρωτεϊνουρία 3g/24ωρο, υπολογιζόμενη eGFR >50 ml/min και κρεατινίνη ορού <2 mg/dl.
3. Ηλικία >18 έτη.
4. Φυσιολογική ακτινογραφία θώρακος τους τελευταίους 3 μήνες.
5. Αρνητική φυματινοαντίδραση ή επαρκής χημειοπροφύλαξη για φυματίωση.
6. Έγγραφη συγκατάθεσης του ασθενούς.

Κριτήρια αποκλεισμού

1. Παρουσία ενεργού λοίμωξης .
2. Ασθενείς θετικοί για αυστραλιανό αντιγόνο, HIV, ηπατίτιδα C.
3. Κύηση ή θηλασμός.
4. Ιστορικό απομυελινωτικής νευρολογικής νόσου.
5. Ιστορικό δυσκρασίας του αίματος.

Επιτρεπόμενη συνοδός θεραπεία κατά τη διάρκεια της μελέτης

Αναστολείς του Μετατρεπτικού Ενζύμου ή/και αναστολείς των ΑΤ-II, γουαρφαρίνη, ηπαρίνη και διουρητικά επιτρεπόταν κατά τη διάρκεια της μελέτης εφόσον η δόση τους είχε παραμείνει σταθερή για τουλάχιστον 2 μήνες πριν την ένταξη.

Μη επιτρεπτή συνοδός θεραπεία κατά τη διάρκεια της μελέτης

Συστηματική χορήγηση μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών παραγόντων δεν επιτρεπόταν τόσο κατά τη διάρκεια της μελέτης όσο και της παρακολούθησης. Επίσης τα κορτικοστεροειδή δεν επιτρεπόταν κατά τη διάρκεια της μελέτης.

Προηγούμενη θεραπεία

Σε όλους τους ασθενείς είχε χορηγηθεί θεραπεία με α-MEA επί 3-6 μήνες πριν την ένταξη στη μελέτη χωρίς ανταπόκριση. Ασθενείς στους οποίους είχαν χορηγηθεί κορτικοστεροειδή ή κυκλοσπορίνη μπορούσαν να συμπεριληφθούν εάν αυτά τα φάρμακα είχαν διακοπεί 3 τουλάχιστον μήνες πριν την ένταξη στη μελέτη. Η ένταξη στη μελέτη επιτρεπόταν και για ασθενείς που είχαν λάβει κυτταροτοξικά, χλωραμβουκίλη ή κυκλοφωσφαμίδη, τουλάχιστον 1 έτος νωρίτερα.

Etanercept

Το ET είναι μία διμερής πρωτεΐνη, που αποτελείται από το εξωκυττάριο συνδετικό μόριο του 75 kD (p75) υποδοχέα του TNF-α του ανθρώπου (TNFR) συνδεδεμένο στο Fc τμήμα της IgG₁, το οποίο συνδέεται εκλεκτικά με τον TNF-α και αναστέλλει την αλληλεπίδρασή του με τους υποδοχείς του TNF-α που βρίσκονται στην κυτταρική επιφάνεια.

Αξιολόγηση του ασθενούς κατά την ένταξη

1. Ιστορικό και αντικειμενική εξέταση
2. Ηλεκτροκαρδιογράφημα
3. Ακτινογραφία θώρακος (εάν δεν υπήρχε τους τελευταίους 3 μήνες), δοκιμασία Mantoux.
4. Γενική αίματος, πλήρης βιοχημική ανάλυση, ανάλυση ούρων, δοκιμασία κύησης.
5. Χρόνος προθρομβίνης, INR, PTT
6. Ορολογικός ιολογικός έλεγχος (HBV, HCV, HIV) και έλεγχος για σύφιλη.
7. Ανοσολογικός έλεγχος (ANA, ENA, anti-DNA, ANCA, RF, ηλεκτροφόρηση των πρωτεϊνών του όρου και των ούρων, C3, C4, ανοσοσφαιρίνες ορού, αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα).
8. Έλεγχος για νεοπλάσματα σύμφωνα με τις οδηγίες της Παγκόσμιας Οργάνωσης Υγείας κατά ηλικία και φύλο (ακτινογραφία θώρακος, μαστογραφία, ενδοσκοπικός έλεγχος πεπτικού, τεστ Παπανικολάου, προστατικό αντιγόνο).
9. Υπερηχογράφημα νεφρών με doppler για αποκλεισμό θρόμβωσης νεφρικής φλέβας (επί κλινικής ένδειξης) ή/και μαγνητική αγγειογραφία.

Αξιολόγηση του ασθενούς κατά τη φάση της θεραπείας

Ανά μήνα: Κλινική εξέταση, γενική αίματος, πλήρες βιοχημικό ανάλυση, λιπίδια ορού, ανάλυση ούρων. Προσδιορισμός του ρυθμού σπειραματικής διήθησης σε κάθε επίσκεψη με την εφαρμογή του τύπου Cockcroft-Gault (eGFR).

Ανά τρίμηνο: Πλάσμα για TNF-α, s-TNF-R 55, IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IgG, sICAM-1, E-selectin. [Μέθοδος: Η συλλογή των δειγμάτων γινόταν σε αποστειρωμένα σωληνάρια περιεκτικότητας 10ml που περιείχαν EDTA και 50μl απροτινίνης ενώ επακολουθούσε άμεση ψύξη και φυγοκέντρηση. Μετά το διαχωρισμό, το πλάσμα φυλαγόταν σε θερμοκρασία -80 C μέχρι την πραγματοποίηση των μετρήσεων. Τα επίπεδα των sICAM-1, E-selectin και s-TNF-R γινόταν με τη χρήση της μεθόδου R&D Systems, Minneapolis, MN, USA, cat #BBE1B,BBE2B & DRT100, αντίστοιχα].

ANA, C3, C4, RF

Απόσυρση από τη μελέτη

1. Ασθενείς που αιτούνταν αποχώρηση
2. Κύηση
3. Σοβαρή λοίμωξη ή άλλη επείγουσα ιατρική κατάσταση.
4. Επιμένουσα αύξηση στην κρεατινίνη ορού κατά >50% σε σχέση με την τιμή ένταξης
5. Έλλειψη συμμόρφωσης

Στατιστική ανάλυση

Υπολογίστηκαν η διάμεση και μέση τιμή και τα SE για τις τιμές των κυτταροκινών και τις ανοσοσφαιρινών του ορού κατά τους χρόνους 0, 3, 6 και 9 μήνες μετά τη θεραπεία. Για να ανιχνευτούν οι μεταβολές στα επίπεδα των παραμέτρων αυτών σε σχέση με τις τιμές αναφοράς χρησιμοποιήθηκαν οι δοκιμασίες Wilcoxon Signed Ranks. Τιμές του P μικρότερες από 0.05 θεωρούνταν ως στατιστικά σημαντικές. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το πρόγραμμα SPSS 13.0.

III. Αποτελέσματα

Κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών

Συνολικά 12 ασθενείς εισήχθησαν στη μελέτη. Οι κλινικές παράμετροι και τα δημογραφικά χαρακτηριστικά των ασθενών παρουσιάζονται το **Πίνακα Α.1**. Η μελέτη των δειγμάτων των νεφρικών βιοψιών ανέδειξε βλάβη ΜΣ σταδίου II σε 8 ασθενείς, σταδίου I σε 3 ασθενείς και σταδίου III σε 1 ασθενή. Ο μέσος χρόνος από την ιστολογική διάγνωση μέχρι την εισαγωγή στη μελέτη ήταν 8.3 μήνες. Ένας ασθενής είχε λάβει αγωγή με χλωραμβουκίλη και κυκλοσπορίνη, 2 και 1 έτη αντίστοιχα πριν την εισαγωγή στη μελέτη, χωρίς ανταπόκριση σε καμία από τις δυο θεραπείες.

Ασφάλεια και Ανοχή

Όλοι οι ασθενείς ολοκλήρωσαν τη θεραπεία με το ET χωρίς προβλήματα. Δεν παρατηρήθηκε σοβαρή λοίμωξη ή άλλη ανεπιθύμητη ενέργεια, τόσο κατά τη φάση της θεραπείας, όσο και κατά τη φάση της παρακολούθησης. Δύο ασθενείς ανέπτυξαν

ANA, τα οποία πριν τη θεραπεία ήταν αρνητικά, σε χαμηλούς τίτλους, χωρίς κανένα κλινικό σύμπτωμα ή σημείο συμβατό με ΣΕΛ.

Κλινική Έκβαση

Μετά από 3μηνη χορήγηση ET, πλήρης ύφεση παρατηρήθηκε σε 2 από τους 12 ασθενείς (16.6%) (**Σχήμα A.1**), ενώ στους υπόλοιπους δεν παρατηρήθηκε σημαντική μεταβολή στην πρωτεϊνουρία. Η θεραπεία με ET συνεχίστηκε για 3 ακόμη μήνες στους 2 ασθενείς που ανταποκρίθηκαν, ενώ διεκόπη στους υπόλοιπους σύμφωνα με το σχεδιασμό της μελέτης. Στους ασθενείς που έδειξαν πλήρη ανταπόκριση στη συγκεκριμένη θεραπεία η ύφεση της νόσου έχει διατηρηθεί για συνολικό διάστημα 4 ετών.

Η μέση τιμή της κρεατινίνης ορού δεν μεταβλήθηκε κατά τη διάρκεια της μελέτης. Ένας μόνο ασθενής παρουσίασε αύξηση της κρεατινίνης από 1.4 mg/dl κατά την ένταξη σε 2.6mg/dl. Συνεπεία αυτού, ακολούθησε πλήρης έλεγχος συμπεριλαμβανομένης νέας βιοψίας νεφρού, που ανέδειξε νεφρική βλάβη οφειλόμενη σε οξεία σωληναριακή νέκρωση, πιθανότατα σχετιζόμενη με υπογκαιμία-ισχαιμία από την χρήση διουρητικών. Ο ασθενής παρουσίασε βελτίωση μετά την ανάλογη αναπροσαρμογή της συμπτωματικής θεραπείας.

Προσδιορισμός κυτταροκινών και μορίων προσκόλλησης στο ενδοθήλιο στον ορό

Η μέση τιμή των επιπέδων TNF-α στον ορό πριν τη θεραπεία ήταν 44 ± 91 pg/ml (ελάχιστη ανιχνεύσιμη συγκέντρωση sICAM-1: 0.57 pg/ml, E-selectin: 1.69pg/ml, TNFR1: 7.8pg/ml) και η μέση τιμή των επιπέδων IL-6 ήταν 3.1 ± 1.6 pg/ml (Φυσιολογικό εύρος: 21.15 ± 11 pg/ml). Οι μέσες τιμές των επιπέδων IL-10 και IL-1 ήταν χαμηλότερες από το επίπεδο ανίχνευσης για τη συγκεκριμένη μέθοδο μέτρησης. Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές μεταβολές στα επίπεδα των TNF-α, IL-1, IL-6, IL-8 και IL-10 του ορού (Wilcoxon Signed Ranks Test). Παρομοίως τα επίπεδα των E-selectin και sICAM-1 δεν μεταβλήθηκαν σημαντικά μετά τη θεραπεία με ET.

Παρότι καμία στατιστικά σημαντική μεταβολή δεν παρατηρήθηκε στα επίπεδα του sTNFR-55 στους 3 και 6 μήνες μετά τη θεραπεία, στατιστικά σημαντική μεταβολή παρατηρήθηκε 9 μήνες μετά τη θεραπεία, σε σύγκριση με τις τιμές κατά την ένταξη

(μέση τιμή από την ένταξη: 333.8 ± 526.5 pg/ml, $p=0.028$, Wilcoxon Signed Ranks Test) (**Σχήμα Α.2**).

Οριακά στατιστικά σημαντική αύξηση παρατηρήθηκε στα επίπεδα της ανοσοσφαιρίνης IgG₁ 6 μήνες μετά τη θεραπεία σε σύγκριση με την ένταξη ($p=0.018$). Αντίστοιχα, τα επίπεδα της IgG₂ ανοσοσφαιρίνης αυξήθηκαν 6 και 9 μήνες μετά τη θεραπεία σε σύγκριση με τις τιμές κατά την ένταξη ($p=0.028$ και $p=0.046$).

B. Εξάλειψη των Β Λεμφοκυττάρων στην Ιδιοπαθή ΜΣ

I. Σκοπός

Η αξιολόγηση της ασφάλειας και της δραστικότητας του μονοκλωνικού αντισώματος Rituximab, που οδηγεί σε πλήρη εξάλειψη των Β λεμφοκυττάρων, στην αντιμετώπιση της ιδιοπαθούς ΜΣ, καθώς και η μελέτη των επιμέρους μεταβολών των υποπληθυσμών των λεμφοκυττάρων ως αποτέλεσμα της παραπάνω θεραπείας. Επίσης η διερεύνηση της πιθανής σχέσης των ιστολογικών παραμέτρων και των Β λεμφοκυττάρων στο νεφρικό ιστό με την ανταπόκριση ή μη στη θεραπεία.

II. Μεθοδολογία

Ορισμοί

Ως πλήρης ύφεση ορίστηκε η ελάττωση της πρωτεϊνουρίας σε <0.3 g/24ωρο.

Ως μερική ύφεση ορίστηκε η μείωση >50% από την τιμή ένταξης με πρωτεϊνουρία <3 g/24ωρο.

Ως υποτροπή ορίστηκε παρόμοια μεταβολή της πρωτεϊνουρίας όπως στην ανταπόκριση αλλά προς την αντίθετη κατεύθυνση (αύξηση στην πρωτεϊνουρία).

Επιλογή ασθενών

Κριτήρια ένταξης

1. Νεφρική βιοψία με ιστολογικά ευρήματα ΜΣ εντός της προηγούμενης διαιτίας.
2. Ελάχιστη πρωτεϊνουρία 3 g/24ωρο, υπολογιζόμενη GFR >30 ml/min/1.73m².
3. Ηλικία >18 έτη.
4. Ασθενείς στους οποίους είχε αποκλεισθεί η θεραπεία με κυτταροτοξικά φάρμακα ή κυκλοσπορίνη, λόγω προβλεπόμενης τοξικότητας, ήδη συσσωρευμένης τοξικότητας ή μη ανταπόκριση στις προαναφερθείσες θεραπείες.
5. Έγγραφη συγκατάθεση του ασθενούς.

Κριτήρια αποκλεισμού

1. Ενεργός ή μη θεραπευόμενη οξεία ή χρόνια λοίμωξη.
2. Θετικοί για Αυστραλιανό αντιγόνο, για HIV, ή ηπατίτιδα C.
3. Κύηση ή θηλασμός.
4. Ιστορικό πρόσφατης θεραπείας με κυτταροτοξικά φάρμακα χλωραμβουκίλη, ή κυκλοφωσφαμίδη, κατά το τελευταίο έτος ή κορτικοστεροειδών και κυκλοσπορίνης κατά το τελευταίο έτος.

Ιστολογική Ανάλυση

Τα δείγματα των νεφρικών βιοψιών μελετήθηκαν με κοινό μικροσκόπιο, και ανοσοφθορισμό με τη χρήση των συμβατικών μεθόδων. Τομές δείγματος εμβαπτισμένες με παραφίνη χρωματίστηκαν με αιματοξυλίνη και ηωσίνη, τρίχρωμη Masson, περιοδική Acid-chiff και χρώση Silver. Τα ιστολογικά ευρήματα εκτιμήθηκαν και βαθμολογήθηκαν με ειδικά ημιποσοτικά ή ποσοτικά κριτήρια με μια αριθμητική τιμή για κάθε παράμετρο από ένα νεφρο-παθολογοανατόμο, ο οποίος δεν γνώριζε τα κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών αυτών. Οι παράμετροι οι οποίες εξετάστηκαν περιλαμβάνουν σπειραματικές, αγγειακές και σωληναριοδιάμεσες μεταβολές και είναι: i/ Σφαιρική σπειραματική σκλήρυνση ii/ Τμηματική σπειραματική σκλήρυνση, iii/ Αύξηση μεσαγγείου ουσίας, iv/ Συνολική σπειραματική βλάβη v/ Σωληναριακή ατροφία vi/ Διάμεση ίνωση vii/ Διάμεση φλεγμονή². Τα χαρακτηριστικά αυτά περιγράφονται με βάση το ακόλουθο σύστημα αξιολόγησης-βαθμολόγησης ως εξής:

0 = Απουσία του συγκεκριμένου χαρακτηριστικού.

1 = Παρουσία του συγκεκριμένου χαρακτηριστικού σε ποσοστό <25%.

2 = Παρουσία του συγκεκριμένου χαρακτηριστικού σε ποσοστό 26-50%.

3 = Παρουσία του συγκεκριμένου χαρακτηριστικού σε ποσοστό 50%.²

Η σφαιρική ή/και τμηματική σπειραματοσκλήρυνση αναφέρονται στο ποσοστό των σπειραμάτων, που παρουσιάζουν αυτή τη βλάβη επί του συνόλου των σπειραμάτων που μελετήθηκαν σε κάθε βιοψία. Η συνολική σπειραματική βλάβη εκτιμήθηκε ως συνδυασμός της αύξησης της μεσαγγείου ουσίας και της παρουσίας τμηματικής σπειραματικής σκλήρυνσης. Η σωληναριακή ατροφία εκτιμήθηκε ποσοστιαία στα φλοιώδη σωληνάκια. Η διάμεση ίνωση αναφέρεται στις φλοιώδεις περιοχές και η φλεγμονή στο σύνολο του παρεγχύματος.

Ανοσοφαινοτυπική μελέτη των Υποπληθυσμών των Λεμφοκυττάρων

Μελέτη με Κυτταρομετρία ροής δύο χρωμάτων εφαρμόστηκε κατά τη φάση ένταξης στη μελέτη και στη συνέχεια μία βδομάδα μετά την ολοκλήρωση της θεραπείας (1^{ος} μήνας) και ακολούθως ανά τρίμηνο έως και τη συμπλήρωση ενός έτους από τη θεραπεία⁶². Δείγματα πλήρους αίματος ελήφθησαν σε EDTA και ακολούθησαν χρώσεις με συνδυασμούς fluorescein isothiocyanate– και με μονοκλωνικά αντισώματα συνδεδεμένα με phycoerythrin έναντι CD45, CD3, CD16/56, CD4, CD8, CD19, CD20, CD22, CD25, CD69, CD154, (CD40 ligand[CD40L]), και HLA–DR (Becton Dickinson, Oxford, UK and Serotec, Oxford,UK)⁶⁶. Τα χρωματισμένα κύτταρα, μετά από ανάδευση, τοποθετούνταν σε 400 ml 1% paraformaldehyde, όπου 15000 κύτταρα μετρούνταν (FACSCalibur; Becton Dickinson) σε διάστημα 24 ωρών χρησιμοποιώντας Simulset software. Η τυποποίηση των υποπληθυσμών των λεμφοκυττάρων πραγματοποιούνταν με τη χρήση ευθείας και πλευρικής διάχυσης χαρακτηριστικών. Η καθαρότητα της πύλης καθορίστηκε με τη χρήση δείγματος βαμμένου με CD45/CD14 (98% CD45bright, CD14 cells), ενώ όλες οι τιμές προσαρμόστηκαν σύμφωνα με τη μη λεμφοκυτταρική επιμόλυνση. Δείγματα επίσης χρωματίστηκαν με ισοτυπικά μονοκλωνικά αντισώματα ελέγχου, τα οποία αναλύθηκαν παράλληλα. Δείγματα πλήρους αίματος μελετήθηκαν σε αυτόματο αναλυτή (STKS; Coulter, Hialeah, FL) και οι απόλυτοι αριθμοί των κυτταρικών υποτύπων καθορίστηκαν πολλαπλασιάζοντας τον ολικό αριθμό των λεμφοκυττάρων με το κλάσμα που αφορά ο συγκεκριμένος φαινοτυπικός δείκτης⁶².

Μελέτη των Λεμφοκυττάρων στο Νεφρικό ιστό

Για την ποσοτική εκτίμηση των λεμφοκυττάρων στο δείγμα νεφρικού ιστού χρησιμοποιήθηκε υπολογιστική ηλεκτρονική μορφομετρία και μετρήθηκαν τα CD45 (βοηθητικά T λεμφοκύτταρα) και CD20 (B λεμφοκύτταρα) κύτταρα. Οι εικόνες ελήφθησαν με μικροσκοπική, κάμερα υψηλής ευκρίνειας μετά από βιντεοσκόπηση. Η ποιοτική ανάλυση των ψηφιακών εικόνων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση εικόνας proplus media software (Cybernetics,Canada) σε Pentium III PC. Οι εικόνες ελήφθησαν σε μεγέθυνση 200X (Zeiss Axiostar) με αποφυγή των σπειραμάτων. Ο υπολογισμός των CD45 και CD20 κύτταρων του διάμεσου ιστού έγινε ως κύτταρα/mm².

Θεραπευτικό Σχήμα

Η χορήγηση του Rituximab γινόταν ενδοφλεβίως, σε δόση 375mg/m² επιφανείας σώματος ανά εβδομάδα, για τέσσερις συνεχείς εβδομάδες. Η κάθε χορήγηση συνδυαζόταν με 24ωρη νοσηλεία του ασθενούς, ενώ προηγείτο δοκιμαστική χορήγηση του φαρμάκου (100 mg Rituximab σε 250 ml σακχαρούχου διαλύματος σε δίωρη έγχυση) για το ενδεχόμενο πιθανής αντίδρασης υπερευαισθησίας. Επιπλέον, προηγείτο ενδοφλέβια χορήγηση αντιϊσταμινικού παράγοντα, μιας ώσης υδρο-κορτιζόνης 500 mg και παρακεταμόλης.

Rituximab

Το Rituximab είναι μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι του CD-20 αντιγόνου που βρίσκεται στην επιφάνεια του B λεμφοκυττάρου (**Εικόνα B.1 & B.2**). Το αντίσωμα είναι IgG₁ kappa ανοσοσφαιρίνη. Συνδέεται ειδικά στο αντιγόνο CD20 και πιθανώς μέσω ενεργοποίησης του συμπληρώματος οδηγεί σε λύση του B κυττάρου (**Εικόνα B.3**). Διατίθεται σε ενδοφλέβια μορφή και χορηγείται διαλυμένο σε αραίωση με σακχαρούχο ορό.

Διάρκεια της μελέτης

Όλοι οι ασθενείς παρακολουθούνταν για το ενδεχόμενο τοξικότητα και για την αποτελεσματικότητα της θεραπείας επί ένα τουλάχιστον χρόνο μετά την ολοκλήρωση της.

Αριθμός ασθενών

Σύμφωνα με το σχεδιασμό της μελέτης αυτής επρόκειτο να συμπεριληφθούν 15 ασθενείς.

Συνοδός Θεραπεία

Επιτρεπόμενη θεραπεία

Αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου, αποκλειστές των υποδοχέων αγγειοτασίνης, γουαρφαρίνη, ηπαρίνη και διουρητικά επιτρεπόταν κατά τη διάρκεια της μελέτης εφόσον η δόση τους παράμενε σταθερή για τουλάχιστον 2 μήνες πριν την ένταξη.

Μη επιτρεπόμενη θεραπεία

Συστηματική χορήγηση μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων απαγορευόταν κατά τη διάρκεια της μελέτης. Κορτικοστεροειδή δεν επιτρεπόταν κατά τη διάρκεια της μελέτης.

Προηγούμενη θεραπεία

Όλοι οι ασθενείς είχαν λάβει θεραπεία με α-MEA επί 3-6 μήνες πριν την ένταξη στη μελέτη χωρίς ανταπόκριση. Ασθενείς, στους οποίους είχαν χορηγηθεί κορτικοστεροειδή, κυτταροτοξικά ή κυκλοσπορίνη, θεωρούνταν υποψήφιοι, εάν αυτά τα φάρμακα είχαν διακοπεί για 3 τουλάχιστον μήνες πριν την ένταξη στη μελέτη.

Αξιολόγηση του ασθενούς κατά την ένταξη

1. Ιστορικό και αντικειμενική εξέταση
2. Ηλεκτροκαρδιογράφημα
3. Ακτινογραφία θώρακος (εάν δεν υπήρχε τους τελευταίους 3 μήνες) και Mantoux.
4. Γενική αίματος, ηλεκτρολύτες, και ηπατική λειτουργία, ανάλυση των ούρων, δοκιμασία κύησης.
5. Χρόνος προθρομβίνης , INR, PTT
6. Ορολογικός ιολογικός έλεγχος (HBV, HCV, HIV) και έλεγχος για σύφιλη.

Κατά τη διάρκεια της μελέτης

Ανά μήνα

Κλινική εξέταση.

Γενική & καλλιέργεια ούρων, πρωτεϊνουρία 24ώρου.

Γενική αίματος , δείκτες νεφρικής και ηπατικής λειτουργίας.

C Reactive Protein, ολικά λευκώματα ορού και αλβουμίνη ορού.

Προσδιορισμός του υπολογιζόμενου ρυθμού σπειραματικής διήθησης (eGFR) με τη χρήση του τύπου Cockcroft-Gault.

III. Αποτελέσματα

Κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών

Συνολικά 12 ασθενείς περιλήφθηκαν στη μελέτη, 4 γυναίκες και 8 άνδρες με μέση ηλικία 51.3 έτη κατά την ένταξη. Όλοι είχαν ΜΣ ιστολογικά επιβεβαιωμένη. Η θεραπεία με το μονοκλωνικό αντίσωμα Rituximab χορηγήθηκε σε μέσο χρόνο 2 έτη [εύρος: (3, 24) μήνες] από την διενέργεια της βιοψίας νεφρού σε όλους τους ασθενείς. Η μέση διάρκεια της παρακολούθησης ήταν 42 μήνες [Median (25th, 75th): 39 (15, 46), εύρος: 9-62]. Κατά το χρόνο ένταξης στη μελέτη, κανένας ασθενής δεν είχε κλινικές ή εργαστηριακές ενδείξεις δευτεροπαθούς ΜΣ. Η μέση Συστολική ΑΠ (ΣΑΠ) ήταν 122.2 (\pm 11.5) mmHg και η μέση Διαστολική ΑΠ (ΔΑΠ) 78.3 (\pm 7.2) mmHg. Η μέση τιμή κρεατινίνης στην ένταξη ήταν 1.5 (\pm 0.6) mg/dl και η μέση τιμή αλβουμίνης ορού 3.2 (\pm 0.5) g/dl. Η eGFR ήταν 77.6 (\pm 38.2) ml/min/1.73m². Οι τιμές της χοληστερόλης και των τριγλυκεριδίων του ορού ήταν 276.7 (\pm 55) mg/dl και 210 (\pm 76) αντίστοιχα. Όλοι οι ασθενείς είχαν λάβει προηγούμενη θεραπεία με α -ΜΕΑ για 3-6 μήνες χωρίς ανταπόκριση και η χορήγηση συνεχίστηκε. Τέσσερις ασθενείς είχαν λάβει προηγουμένως ανοσοκατασταλτική θεραπεία (συνδυασμό κυκλοσπορίνης με κορτικοειδή, σχήμα Ponticelli, Mycophenolate Mofetil). Οι κλινικές παράμετροι και τα δημογραφικά στοιχεία των ασθενών παρουσιάζονται στον **Πίνακα Β.1**.

Ιστολογική Ανάλυση

Η σταδιοποίηση των βιοψικών δειγμάτων ανέδειξε ΜΣ σταδίου I σε 4 περιπτώσεις (33.8%), σταδίου II σε 7 (58.3%) περιπτώσεις, και σταδίου III (8.3%) σε 1 περίπτωση. Από τα 11 δείγματα νεφρικών βιοψιών, που εξετάστηκαν με μορφομετρική ανάλυση στα 4 (36.4%) απουσίαζε σφαιρική σπειραματική σκλήρυνση (score=0). Αντίστοιχα, 6/11 (54.5%) περιπτώσεις βαθμολογήθηκαν με score=1 και 1/11 με score=3 (**Πίνακας Β.3**). Κανένας ασθενής δεν είχε τμηματική σπειραματική σκλήρυνση, score=0 (100%). Η αύξηση της μεσαγγειακής ουσίας ήταν απύσα σε 5/11 βιοψίες (45%), ενώ οι υπόλοιπες 6/11 βαθμολογήθηκαν με score 1, 2, και 3 σε ισότιμη αναλογία (18.2%). Σωληναριακή ατροφία με score=1 βρέθηκε σε 6/11 ασθενείς (54.5%), με score=2 σε 1 ασθενή (9.1%) και ήταν απύσα σε 4/11 ασθενείς. Διάμεση ίνωση βρέθηκε σε 6/11 (54.5%) ασθενείς, με score=1, για τους 5 από αυτούς, και με score=3 για 1 ασθενή. Σε 5 ασθενείς (45.5%) δεν υπήρχαν στοιχεία

διάμεσης ίνωσης (score=0). Σε 4 ασθενείς (36.4%) απουσίαζε η διάμεση φλεγμονή και σε 7 (63.6%) βαθμολογήθηκε με 1 (**Πίνακας B.3**).

Η διακύμανση της βαθμολόγησης στο σύνολο των δειγμάτων νεφρικού ιστού προ θεραπείας, φαίνεται στο **Πίνακα B.4**.

Ασφάλεια & Ανοχή

Όλοι οι ασθενείς ανέχθηκαν τη θεραπεία με Rituximab χωρίς προβλήματα. Δεν παρατηρήθηκε άμεση ή απώτερη αλλεργική αντίδραση, λοίμωξη ή άλλη ανεπιθύμητη ενέργεια, τόσο κατά τη φάση της θεραπείας όσο και κατά τη φάση της παρακολούθησης.

Κλινική Έκβαση

Στο τέλος της παρακολούθησης πλήρης ύφεση παρατηρήθηκε σε 7/12 ασθενείς (58.3%), και μερική ύφεση σε 4/12 (33.3%), ενώ μη ανταπόκριση σε 1 ασθενή (8.3%). Στους 7 ασθενείς που τελικά επιτεύχθηκε πλήρης ύφεση, αρχικά παρατηρήθηκε μερική ύφεση, ξεκινώντας από τον 3^ο μήνα μετά την θεραπεία. Συγκεκριμένα, τον 3^ο μήνα μετά τη θεραπεία, 33.3% των ασθενών είχε επιτευχθεί μερική ύφεση ($p=0.084$) και κανένας πλήρη, στον 6^ο μήνα 50% είχαν μερική ύφεση ($p=0.26$) και σε κανέναν πλήρης, και τον 9^ο μήνα 58.3% βρισκόταν σε μερική ύφεση ($p=0.033$) και κανένας σε πλήρη. Αντίστοιχα, στο 12^ο και 15^ο μήνα 68.8% ($p=0.003$) και 89.6% ($p=0.005$) των ασθενών είχαν μερική ύφεση και 18.2% και 28.4% πλήρη ύφεση. Όλες οι συγκρίσεις έχουν ως τιμή αναφοράς την τιμή της πρωτεϊνουρίας 24ωρου κατά την ένταξη. (**Πίνακας B.1**).

Στους 4 ασθενείς που επιτεύχθηκε μόνο μερική ύφεση, αυτή διατηρήθηκε σε όλο το διάστημα της παρακολούθησης. Ένας ασθενής δεν ανταποκρίθηκε στη θεραπεία, αλλά διατήρησε σταθερή νεφρική λειτουργία. Η ανάλυση της επίτευξης μερικής ή πλήρους ύφεσης φαίνεται στο **Σχήμα B.1 & Σχήμα B.2**.

Η μέση τιμή της κρεατινίνης ορού δεν μεταβλήθηκε σημαντικά κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης σε σχέση με τη αρχική τιμή της ($p=NS$), όπως και η μέση τιμή της eGFR ($p=NS$). Η μέση τιμή της αλβουμίνης του ορού παρουσίασε στατιστικά σημαντική αύξηση από 3.2 (± 0.5) g/dl κατά την ένταξη στη μελέτη σε 4.2 (± 0.7) g/dl στο 15^ο μήνα μετά τη θεραπεία ($p<0.001$).

Η μέση τιμή της ΣΑΠ παρουσίασε αύξηση τον 3^ο μήνα μετά τη θεραπεία σε σχέση τη τιμή ένταξης ($p=0.05$), που ακολουθήθηκε όμως από μείωση κατά το 15^ο μήνα μετά τη θεραπεία ($p<0.01$) συγκρινόμενη με την τιμή ένταξης. Τόσο η μέση τιμή της χοληστερόλης ($p<0.05$), όσο και των τριγλυκεριδίων ($p<0.01$) του ορού παρουσίασαν μείωση σε στατιστικά σημαντικό επίπεδο, κατά τον 12^ο και 6^ο μήνα αντίστοιχα. Η διακύμανση των κλινικών παραμέτρων στη διάρκεια του χρόνου παρακολούθησης φαίνεται στο **Πίνακα Β.1**.

Ποσοτικές Μεταβολές στους Υποπληθυσμούς των Λεμφοκυττάρων μετά τη θεραπεία με Rituximab

Η ανάλυση των επιμέρους μεταβολών των υποπληθυσμών των λεμφοκυττάρων κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης πραγματοποιήθηκε πάντα σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές εκκίνησης, δηλαδή αυτές που διαπιστώθηκαν κατά την ένταξη στη μελέτη (πριν τη χορήγηση του μονοκλωνικού αντισώματος). Οι μετέπειτα μετρήσεις των λεμφοκυττάρων έγιναν στη φάση που είχε πραγματοποιηθεί πλήρης εξάλειψη των Β κυττάρων, στη φάση που τα Β λεμφοκύτταρα είχαν επανακάμψει και κατά την τελική ανοσοφαινοτυπική μελέτη, η οποία έγινε 9-12 μήνες μετά τη θεραπεία. Η ανάλυση αυτή, η οποία παρατίθενται στον **Πίνακα Β.7**, ανέδειξε στατιστικά σημαντική μεταβολή μόνο στα Β λεμφοκύτταρα (CD20) σε σχέση με την τιμή εκκίνησης. Συγκεκριμένα παρατηρήσαμε, ότι τα CD20 κύτταρα μηδενίστηκαν μετά τη θεραπεία με Rituximab (ο μέσος χρόνος για την εξάλειψη των Β κυττάρων ήταν 1 μήνας) ($p=0.002$). Η εξάλειψη των Β κυττάρων διήρκησε 6 μήνες (διάμεσος χρόνος) (min/max, 5/10) και στη συνέχεια παρατηρήθηκε αύξηση εκ νέου. Στη φάση επανάκαμψης των CD20 κυττάρων συνέχισε να υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά με την συγκέντρωση εκκίνησης των Β κυττάρων ($p=0.003$), η οποία και διατηρήθηκε μέχρι το τέλος της παρακολούθησης ($p=0.023$), (**Πίνακας Β.7**). Επίσης παρατηρήθηκε μια τάση για σημαντική μεταβολή στα CD425 (ρυθμιστικά Τ λεμφοκύτταρα) κύτταρα ($p=0.068$) κατά το τέλος της παρακολούθησης (**Πίνακας Β.7**).

Αξιολόγηση κλινικο-εργαστηριακών παραμέτρων ως προγνωστικών δεικτών πλήρους ύφεσης

Η ανάλυση για την ανάδειξη προγνωστικών δεικτών πλήρους ύφεσης συμπεριέλαβε τα δημογραφικά στοιχεία των ασθενών, καθώς και κλινικές, εργαστηριακές και παθολογοανατομικές παραμέτρους. Έτσι, εκτός από την ηλικία και το φύλο στην ανάλυση αυτή συμπεριλήφθησαν το σωματικό βάρος, η ΣΑΠ και η ΔΑΠ. Σ' αυτή τη μικρή σειρά ασθενών δεν διαπιστώθηκε κάποιος από τους προαναφερόμενους παράγοντες να έχει προγνωστική αξία για την επίτευξη πλήρους ύφεσης μετά από θεραπεία με Rituximab.

Μεταξύ των εργαστηριακών στοιχείων, η κρεατινίνη και η αλβουμίνη του ορού, η υπολογιζόμενη κάθαρση κρεατινίνης, η πρωτεϊνουρία 24ωρου, η χοληστερόλη και τα τριγλυκερίδια του ορού μελετήθηκαν ως πιθανοί προγνωστικοί δείκτες.

Η πιθανότητα για πλήρη ύφεση φάνηκε να μειώνεται με την αύξηση της κρεατινίνης του ορού [αύξηση της κρεατινίνης του ορού κατά ανά 1mg/dl, Hazard ratio=0.11, CI: (0.01, 0.97) p=0.047]. Παρομοίως η υψηλότερη πρωτεϊνουρία 24ωρου σχετίστηκε με μειωμένη πιθανότητα για πλήρη ύφεση [ανά γραμμάριο αύξησης στο 24ωρο, CI: (0.56, 1.00) Hazard ratio=0.75, p=0.05]. Το εύρημα αυτό επιβεβαιώθηκε και μετά την εναλλακτική προσέγγιση της παραμέτρου αυτής, με τον χαρακτηρισμό της πρωτεϊνουρίας των ασθενών ως νεφρωσικού επιπέδου ή όχι. Έτσι διαπιστώσαμε, ότι οι ασθενείς με μη νεφρωσικού εύρους πρωτεϊνουρία είχαν 12.4 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα για επίτευξη πλήρους ύφεσης σε σύγκριση με τους ασθενείς που είχαν μη νεφρωσικού επιπέδου πρωτεϊνουρία [Hazard ratio=12.4, CI: (1.25, 124.1), p=0.032].

Διαπιστώθηκε επίσης, ότι όσο υψηλότερη είναι η αλβουμίνη του ορού κατά το χρόνο έναρξης της θεραπείας, τόσο πιο πιθανή είναι η επίτευξη πλήρους ύφεσης μετά από την εξάλειψη των Β κυττάρων με Rituximab. Συγκεκριμένα, κάθε αύξηση της αλβουμίνης του ορού κατά 0.5 g/L φάνηκε να συνοδεύεται από 2.65 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα για επίτευξη πλήρους ύφεσης (p=0.037) (**Πίνακας Β.5**).

Στην ανάλυση με την εφαρμογή του πολυπαραγοντικού μοντέλου (προσαρμογή για την τιμή εκκίνησης της πρωτεϊνουρίας 24ωρου), η μόνη παράμετρος που παρέμεινε στατιστικά σημαντική ήταν η υπολογιζόμενη κάθαρση κρεατινίνης (eGFR). Έτσι υψηλότερα επίπεδα νεφρικής λειτουργίας κατά την ένταξη συσχετίστηκαν με

αυξημένες πιθανότητες επίτευξης πλήρους ύφεσης [Hazard ratio: 1.35, CI: (1.00, 1.81), $p=0.048$].

Ιστολογικές παράμετροι ως Προγνωστικοί δείκτες πλήρους ύφεσης

Οι ιστοπαθολογοανατομικές παράμετροι που μελετήθηκαν ως πιθανοί προγνωστικοί δείκτες για την επίτευξη πλήρους ύφεσης περιελάμβαναν: το ιστολογικό στάδιο της ΜΣ, τη σφαιρική σπειραματική σκλήρυνση, την αύξηση της μεσαγγείου ουσίας, την σωληναριακή ατροφία, την διάμεση φλεγμονή, τη διάμεση ίνωση και την ολική σπειραματική βλάβη. Καμία από τις προαναφερθείσες παραμέτρους δεν διαπιστώθηκε να συσχετίζεται με την επίτευξη πλήρους ύφεσης. Η μελέτη της σχέσης του απόλυτου αριθμού των Β λεμφοκυττάρων στο νεφρικό ιστό με την ανταπόκριση στη θεραπεία δεν ανέδειξε συσχέτιση. Η λεπτομερής διερεύνηση των επιμέρους ιστολογικών παραμέτρων με την πρόγνωση της πλήρους ύφεσης παρατίθενται στον **Πίνακα Β.6**.

Γ. Συζήτηση

Η μελέτη αυτή αφορά την εκτίμηση της ασφάλειας και αποτελεσματικότητας της στοχευμένης θεραπευτικής παρέμβασης στην ιδιοπαθή ΜΣ. Η στόχευση κατευθύνεται σε ειδικά παθοφυσιολογικά κανάλια, εμπλεκόμενα στην ΜΣ. Η επιλογή των θεραπευτικών αυτών οδών και φαρμακευτικών παραγόντων έγινε με βάση συγκεκριμένα δεδομένα της βιβλιογραφίας, που κυρίως αναφέρονται σε στοιχεία που προκύπτουν από πειραματικά μοντέλα της νόσου.

Συγκεκριμένα, περιγράφουμε την πρώτη πιλοτική μελέτη της επίδρασης του *Etanercept*, ενός αποδεδειγμένα αποτελεσματικού εκλεκτικού αναστολέα του TNF-α, στην κλινική έκβαση και στα επίπεδα των κυτταροκινών του πλάσματος σε ασθενείς με ιδιοπαθή ΜΣ. Παρά το γεγονός ότι, η χορήγηση του ET συνοδεύτηκε από καλή ανοχή και ασφάλεια, δεν παρατηρήθηκε αποτελεσματικότητα και επίτευξη ύφεσης της πρωτεϊνουρίας σε αυτή την περιορισμένη ομάδα ασθενών.

Με αφορμή στοιχεία που δείχνουν, ότι ο TNF-α αποτελεί ένα σημαντικό μεσολαβητή στη ΜΣ^{68,69}, υποθέσαμε ότι η αναστολή του παράγοντα αυτού θα μπορούσε να έχει ευεργετική επίδραση σε ασθενείς που πάσχουν από τη σπειραματοπάθεια αυτή. Ο TNF-α στα πειραματόζωα βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα των σπειραματικών επιθηλιακών κυττάρων^{66,67}, γεγονός που είναι επιβεβαιωμένο και στον άνθρωπο^{70,71,67}. Διάφοροι πολυμορφισμοί του γονιδίου, που κωδικοποιεί τον παράγοντα αυτό έχουν ταυτοποιηθεί^{68,69}. Τα επίπεδα του TNF-α έχουν ευρεθεί αυξημένα σε ασθενείς με ΜΣ^{71,18} αλλά και σε άλλα νεφρικά νοσήματα⁷². Τα ευρήματα αυτά υποδηλώνουν, ότι ο TNF-α θα μπορούσε να παίζει ρόλο στην εκκίνηση ή στη συντήρηση της διαδικασίας, που σχετίζεται με τη δυσλειτουργία του σπειραματικού φραγμού στον άνθρωπο. Στοχεύοντας στη διερεύνηση της υπόθεσης αυτής χρησιμοποιήσαμε το ET, έναν ανταγωνιστή του TNF-α με πολύ καλές φαρμακοκινητικές ιδιότητες⁷³, όπως έχει φανεί⁷³ σε υγιείς εθελοντές και σε ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα.

Δεδομένης της χορήγησης του ET με βάση την εμπειρία από τη χρήση του στη ρευματοειδή αρθρίτιδα, η έλλειψη αποτελεσματικότητας στη ΜΣ θα μπορούσε να εξηγηθεί από πιθανές μεταβολές των φαρμακοκινητικών χαρακτηριστικών του σε ασθενείς με νεφρωσικό σύνδρομο. Θα μπορούσε κάποιος να πιθανολογήσει ενδεχόμενη ανάγκη τροποποίησης της δοσολογίας ή της διάρκειας θεραπείας με ET στους ασθενείς με ΜΣ ή άλλης αιτιολογίας νεφρωσικό σύνδρομο.

Παρομοίως, ποικίλα αποτελέσματα έχουν αναφερθεί από την αναστολή του TNF-α σε ασθενείς με διαφορετικά αυτοάνοσα νοσήματα⁷⁴. Οι ειδικοί παθογενετικοί μηχανισμοί που ενοχοποιούνται σε κάθε περίπτωση, καθώς και η συμμετοχή άλλων οργάνων στην κλινική εικόνα θα μπορούσαν να ευθύνονται για τις διαφορές που βρέθηκαν. Χαρακτηριστικά, ο ρόλος του TNF-α μελετήθηκε σ' ένα ειδικό μοντέλο της anti-GBM σπειραματονεφρίτιδας⁷⁴, όπου αναφέρεται μικρή βελτίωση με την αναστολή του, ενώ στο ετερόλογο μοντέλο της ίδιας νόσου σε τρωκτικά η θεραπεία με ανταγωνιστή του TNF-α, οδήγησε σε πλήρη αναστολή της δημιουργίας μηνοειδών σχηματισμών⁷⁵. Εάν η διαδικασία της νόσου αυτής καθ' αυτή ή και ο τύπος της σπειραματικής βλάβης, εμπλέκονται στον κύκλο της λειτουργίας του TNF-α αποτελεί ερώτημα. Η αναστολή του TNF-α είναι δυνατή και με άλλους δύο παράγοντες, το χειμερινό αντίσωμα Infliximab και το Adalimumab, ένα πλήρως ανθρώπινο anti-TNF αντίσωμα⁷². Τόσο το Infliximab όσο και το Adalimumab συνδέονται στον TNF-α παρεμποδίζοντας την αντίδραση με τους υποδοχείς του (**Εικόνα Α.1**). Οι χρησιμοποιούμενοι anti-TNF-α παράγοντες έχουν δείξει διάφορα αποτελέσματα κατά τη χορήγηση τους σε ασθενείς με αυτοάνοσες διαταραχές^{70,77-81}. Έτσι η αποτελεσματικότητα του ET και του Infliximab σε ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα φαίνεται, ότι είναι παρόμοια⁸², ενώ σε ασθενείς με εντερίτιδα Crohn το ET φαίνεται ότι δεν είναι δραστικό⁸³. Ο παράγοντας Adalimumab είναι αποτελεσματικός και στα δυο νοσήματα. Όταν ερευνήθηκε η επίδραση της αναστολής του TNF-α με Infliximab σε ασθενείς με αγγειίτιδες των μικρών αγγείων σχετιζόμενες με ANCA, είτε τα αποτελέσματα δεν ήταν ενθαρρυντικά^{84,85} είτε η ανταπόκριση ακολουθήθηκε από σημαντικό ποσοστό ανεπιθύμητων ενεργειών, που περιελάμβαναν λοιμώξεις, θρομβωτικά επεισόδια και μία περίπτωση λεμφώματος⁷⁴. Επιπλέον, οι υποτροπές ήταν συχνές. Η χορήγηση του ET σε ασθενείς με ANCA αγγειίτιδα, σε μια διπλή τυφλή, placebo ελεγχόμενη, πολυκεντρική μελέτη δεν έδειξε σημαντικές διαφορές στην επίτευξη ύφεσης, στην ενεργότητα της νόσου και στη νεφρική βλάβη, ανάμεσα σε αυτούς που έλαβαν και εκείνους που δεν έλαβαν ET⁸⁶. Ο αριθμός όμως των ασθενών που εμφάνισαν κακοήγη νεοπλασμάτα κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης στην ομάδα του ET, ήταν σημαντικά υψηλότερος.

Όπως αποδεικνύεται από μελέτες, όπου χρησιμοποιήθηκε η αναστολή του TNF-α σε αυτοάνοσα νοσήματα, οι ξεχωριστές ιδιότητες του κάθε βιολογικού παράγοντα μπορούν να εξηγήσουν την ποικιλία των αποτελεσμάτων. Ειδικότερα το

Infliximab, συνδεδεμένο και με τη διαλυτή και με τη μεμβρανική μορφή του TNF-α έχει αυξημένη ικανότητα να αναστέλλει την κυτταροτοξική δράση του TNF-α και την επακόλουθη ενεργοποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων⁸⁷. Ως εκ τούτου, το Infliximab αλλά όχι και το ET, μπορεί να έχει μια αντιφλεγμονώδη δράση με ανάστροφη σηματοδότηση, μέσω της μεμβρανικής σύνδεσης του TNF-α⁸⁸. Διαφορετικές δράσεις επίσης έχουν περιγραφεί με τους παράγοντες αυτούς στα T λεμφοκύτταρα και τα μονοκύτταρα⁸⁹⁻⁹¹.

Μια άλλη παράμετρος, που θα μπορούσε να εμπλέκεται στη θεραπεία της ΜΣ, σχετίζεται με το γεγονός, ότι η ενεργότητα της νόσου δεν είναι δυνατό να καθοριστεί σε ένα συγκεκριμένο ασθενή. Επί του παρόντος, μπορούμε μόνο να περιγράψουμε την κλινική εικόνα χρησιμοποιώντας παραμέτρους, όπως το επίπεδο της πρωτεϊνουρίας ή το βαθμό επηρεασμού της νεφρικής λειτουργίας, αλλά δε μπορούμε να προσδιορίσουμε την πραγματική ανοσολογική δραστηριότητα του κάθε ασθενούς. Μία τέτοια προσέγγιση θα ήταν ιδιαίτερα χρήσιμη για τον κλινικό γιατρό, στην εκτίμηση της πρόγνωσης και την απόφαση εάν ενδεχόμενη ανοσορρυθμιστική θεραπεία θα ήταν ωφέλιμη ή όχι.

Στην παρούσα μελέτη, αν και τα επίπεδα του TNF-α δεν μεταβλήθηκαν σημαντικά με την επίδραση του ET, καταγράφηκε μια στατιστικά σημαντική μεταβολή στα επίπεδα του s-TNFR 9 μήνες μετά την έναρξη της θεραπείας, που πιθανόν αντανακλά μείωση στη δραστηριότητα του συστήματος του TNF-α. Μέχρι σήμερα δεν υπάρχουν πειραματικά δεδομένα σχετικά με τη φαρμακοκινητική του ET σε νεφρωσικούς ασθενείς. Από την άλλη πλευρά, υπάρχει το ενδεχόμενο η έκφραση του TNF-α να αποτελεί ένα επιφαινόμενο, δευτερογενές στην ενεργοποίηση των μονοκυττάρων και όχι πρωτοπαθή διαταραχή στη σπειραματοπάθεια αυτή^{71,74,75}. Αυτή η πιθανότητα ενισχύεται από ευρήματα αυξημένης παρουσίας του παράγοντα αυτού στον ορό και στα ούρα και σε άλλες νεφρικές παθήσεις¹⁸.

Άλλα γνωστά δεδομένα, που ενισχύουν τη συμμετοχή του TNF-α στη σπειραματική βλάβη, προέρχονται από την χρήση της πεντοξυφυλλίνης στις σπειραματοπάθειες. Έχει χρησιμοποιηθεί στην ΜΣ με ενθαρρυντικά αποτελέσματα, τα οποία συσχετίστηκαν με την επίδραση στα επίπεδα TNF-α, που χαρακτηρίζει τον παράγοντα αυτό²⁹. Η πεντοξυφυλλίνη εξάλλου είναι γνωστή από τη χρήση της στην διαβητική νεφροπάθεια, όπου έχει δειχθεί ότι οδηγεί σε μείωση της πρωτεϊνουρίας⁹². Ο φαρμακευτικός αυτός παράγοντας έχει ισχυρή αντιφλεγμονώδη δράση και μειώνει

τη παραγωγή κυτοκινών σε φυσιολογικές και παθολογικές καταστάσεις⁹³. Επίσης, ρυθμίζει την έκφραση των μορίων προσκόλλησης στο ενδοθήλιο, όπως το ICAM-1 και έτσι επιδρά στην σύνδεση των λευκών αιμοσφαιρίων στο ενδοθήλιο^{60,61}. Η πεντοξυφυλλίνη έχει δειχθεί να μειώνει τη παραγωγή του TNF-α από τα μονοκύτταρα και μακροφάγα⁹⁴ και μειώνει την έκφραση του ICAM-1 στα μονοκύτταρα και τα νεφρικά κύτταρα^{95,96}. Σε πειραματικό μοντέλο μηνοειδούς σπειραματονεφρίτιδας το mRNA για τον TNF-α και το mRNA για το ICAM-1^{97,98} μειώθηκαν σημαντικά με την πεντοξυφυλλίνη.

Η πεντοξυφυλλίνη εξάλλου ασκεί μη εκλεκτικού τύπου ρυθμιστική δράση στη σύνθεση και έκκριση του TNF-α^{60,61}. Η αντι-πρωτεϊνουρική δράση της θα μπορούσε να αποδοθεί στις ρεολογικές ιδιότητες της, που ασκούνται με την αύξηση της ικανότητας διαμόρφωσης των ερυθροκυττάρων, μειώνοντας τη γλοιότητα του αίματος και τη σπειραματική υδροστατική πίεση⁹⁹. Τέλος, δρα ως ανταγωνιστής της αδενοσίνης και των υποδοχέων της, που μειώνουν την υπερδιήθηση και την πρωτεϊνουρία^{100,101}. Για το λόγο αυτό έχει δοκιμασθεί στη θεραπεία της χρόνιας νεφρικής νόσου, ανεξάρτητα από την πρωτοπαθή αιτία¹⁰².

Αν και οι δύο υποδοχείς του TNF-α εμπλέκονται στη ρύθμιση και έκφραση του ICAM-1 και πολλών άλλων μορίων προσκόλλησης στο ενδοθήλιο^{103,104}, στην παρούσα μελέτη τα επίπεδα των ICAM-1 και E-selectin στον ορό δεν μεταβλήθηκαν μετά τη χορήγηση του ET. Οι Suranyi και συν. έδειξαν, ότι η θεραπεία με κυκλοσπορίνη δεν οδήγησε σε μείωση των επιπέδων του TNF-α στον ορό νεφρωσικών ασθενών, που είχαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα από αυτά της ομάδας των υγιών ατόμων¹⁸. Στην παρούσα μελέτη τα επίπεδα TNF-α στον ορό ήταν σημαντικά υψηλότερα από αυτά της μελέτης των Suranyi και συν.¹⁸. Μια βασική διαφορά είναι, ότι στην παραπάνω μελέτη οι ασθενείς είχαν λάβει θεραπεία με στεροειδή πριν από την μέτρηση, ενώ εμείς επιλέξαμε ασθενείς που δεν είχαν λάβει καμία πρόσφατη ανοσορρυθμιστική θεραπεία.

Ενδιαφέρον είναι επίσης το γεγονός, ότι δυο λειτουργικοί πολυμορφισμοί στο γονίδιο του TNF-α, οι οποίοι διαπιστώθηκαν πρόσφατα, συσχετίζονται με την εμφάνιση της ΜΣ¹². Τα αυξημένα επίπεδα στο πλάσμα και τα ούρα και η εκσεσημασμένη έκφραση του γονιδίου του TNF-α στο νεφρικό ιστό των ασθενών με ΜΣ¹⁰⁵ θα μπορούσε ίσως να εξηγηθούν με την ύπαρξη αυτών των πολυμορφισμών. Εάν και κατά πόσο οι ασθενείς με ιδιοπαθή ΜΣ, που είναι φορείς τέτοιων

μεταλλάξεων, θα μπορούσαν να ωφεληθούν από ένα συγκεκριμένο είδος και επίπεδο αναστολής του TNF-α παραμένει ερώτημα. Αναλόγως, το γενετικό προφίλ των ασθενών με ρευματοειδή αρθρίτιδα έχειδειχθεί να επηρεάζει την επικείμενη ανταπόκριση σε ανοσορρυθμιστικούς παράγοντες γενικά, αλλά και τη θεραπεία με ET ειδικότερα¹⁰². Αξιοσημείωτη είναι και η ύφεση της πρωτεϊνουρίας, που αναφέρεται μετά από ένα 6μηνο σχήμα θεραπείας με ET, σε 2 περιπτώσεις νεφρωσικού συνδρόμου, που οφειλόταν σε άλλη μετάλλαξη του TNFR-1¹⁰⁷⁻¹¹⁰. Επίσης η χρήση του Infliximab οδήγησε σε μείωση της πρωτεϊνουρίας σε ένα μικρό αριθμό ασθενών με νεφρίτιδα του ΣΕΛ όταν προστέθηκε στη θεραπεία με μεθοτρεξάτη ή αζαθειοπρίνη¹¹⁰.

Συμπερασματικά, η τρίμηνη θεραπεία με ET σε μια σειρά 12 ασθενών με ιδιοπαθή ΜΣ αποδείχθηκε ασφαλής και καλά ανεκτή. Η δραστηριότητα του συστήματος του TNF-α είναι πιθανό ότι μειώθηκε, όπως φάνηκε από τη μείωση των επιπέδων του s-TNFR-55 του ορού. Ωστόσο, δεν διαπιστώθηκε θεραπευτικό όφελος ή μεταβολή των δεικτών ενεργοποίησης του ενδοθηλίου. Επιπλέον, η έλλειψη ομάδας ελέγχου στη μελέτη μας δεν αποκλείει την πιθανότητα αυτόματης ύφεσης στους 2 ασθενείς που φάνηκε να ανταποκρίθηκαν στη θεραπεία με ET. Τα δεδομένα αυτά όμως εγείρουν εκ νέου το ενδιαφέρον σχετικά με την σημασία του TNF-α στην παθογένεση της σπειραματικής βλάβης. Ωστόσο απαιτείται περαιτέρω έρευνα ώστε να αποκαλυφθεί εάν η θεραπεία με ET ή άλλο αναστολέα του TNF-α για μακρότερο χρονικό διάστημα ή με άλλο δοσολογικό σχήμα μπορεί να είναι αποτελεσματική στην ΜΣ.

Η δεύτερη μελέτη αφορά στη χορήγηση του μονοκλωνικού αντισώματος Rituximab στην ιδιοπαθή ΜΣ. Η χορήγηση του παράγοντα αυτού έχει αναφερθεί στο παρελθόν σε μικρές σειρές ασθενών και έχει δώσει ενθαρρυντικά κλινικά αποτελέσματα^{64,111,112}. Ωστόσο, αυτή είναι η πρώτη μελέτη, που παρουσιάζει την μακρόχρονη έκβαση των ασθενών υπό τη συγκεκριμένη θεραπευτική αγωγή [διάμεσος χρόνος=39 μήνες, εύρος (15,46)] και επίσης σε συσχέτιση τόσο με ιστολογικές παραμέτρους όσο και τις μεταβολές στους υποπληθυσμούς των λεμφοκυττάρων, όπως αυτές διαμορφώνονται μετά την προσωρινή εξάλειψη των Β κυττάρων.

Η κλινική έκβαση των ασθενών με ιδιοπαθή ΜΣ στη συγκεκριμένη μελέτη ήταν αξιοσημείωτα θετική, αφού όλοι οι ασθενείς ανέχθηκαν καλά τη θεραπεία και είχαν

σημαντικά ποσοστά ανταπόκρισης. Έτσι, 7/12 (58.3%) ασθενείς παρουσίασαν πλήρη ύφεση και επιπλέον 4/12 (33.3%) είχαν μερική ύφεση στο τέλος του χρόνου παρακολούθησης (συνολική ανταπόκριση με πλήρη ή μερική ύφεση 91.6%). Δεδομένου ότι και η μερική ύφεση είναι σημαντικός θετικός προγνωστικός παράγοντας στην έκβαση της ΜΣ¹¹³, το ποσοστό των ασθενών που παρουσίασαν ύφεση στη μελέτη αυτή, πλήρη ή μερική, είναι ιδιαίτερα σημαντικό. Συγκεκριμένα, παρατηρήσαμε, 11/12 (91.6%) ασθενείς παρουσίασαν αρχικά μερική ύφεση, και 7/11(63.6%) από αυτούς οδηγήθηκαν σε πλήρη ύφεση αργότερα, ενώ οι υπόλοιποι παρέμειναν σε μερική ύφεση. Είδαμε ότι 25%, 50% και 75% των ασθενών είχαν πετύχει μερική ύφεση 3, 6 και 15 μήνες αντίστοιχα μετά τη θεραπεία (**Σχήμα Β.5, Πίνακας Β.2**), ενώ 25%, 50% και 75% των ασθενών είχαν πετύχει πλήρη ύφεση 15, 24 και 42 μήνες μετά τη θεραπεία (**Σχήμα Β.6**). Τα θετικά αυτά αποτελέσματα σε σχέση με την πρωτεϊνουρία 24ώρου επιβεβαιώνονται από την παράλληλη αύξηση της αλβουμίνης του ορού και την υποχώρηση της υπερλιπιδαιμίας που διαπιστώθηκε.

Παρομοίως, θετικά αποτελέσματα με σημαντική ανταπόκριση στη θεραπεία έχουν αναφερθεί στο παρελθόν σε άλλες σειρές ασθενών^{64,11,112}. Η πρώτη αναφορά στη θεραπεία αυτή σε ασθενείς με ΜΣ περιγράφηκε σ' ένα μέσο χρόνο παρακολούθησης 20 εβδομάδων και όλοι οι συμμετέχοντες ασθενείς παρουσίασαν σημαντική μείωση της πρωτεϊνουρίας 24ώρου (από 8.6 g/24ωρο σε 3.8 g/24ωρο), αν και πλήρης ύφεση (<1 g/24ωρο) παρατηρήθηκε μόνο σε 2/8 (25%) των ασθενών⁶⁴. Ο μικρός χρόνος παρακολούθησης στη μελέτη αυτή ήταν περιοριστικός παράγοντας για την εξαγωγή περαιτέρω συμπερασμάτων. Ακολούθως, δημοσιεύτηκαν στοιχεία από την παρακολούθηση των ασθενών αυτών σε διάστημα 12 μηνών¹¹¹ και διαπιστώθηκε ακόμα μεγαλύτερη μείωση της πρωτεϊνουρίας 24ωρου στο χρόνο αυτό (από 8.6±4.2 g/24ωρο σε 3.0±2.5 g/24ωρο). Αναλόγως, οι Fervenza et al. περιγράφουν μια σειρά ασθενών, που αφού είχαν αποδειχθεί ανθεκτικοί σε προηγούμενες θεραπείες και παρουσίασαν ύφεση (μερική ή πλήρη) σε ποσοστό 57% (8/14), 12 μήνες μετά από αγωγή με Rituximab¹¹². Στη δική μας σειρά, όλοι οι ασθενείς είχαν λάβει θεραπεία με αναστολή του συστήματος ρενίνης αγγειοτασίνης για 6 μήνες πριν την ένταξη στη μελέτη και επιπλέον 4/12 από τους ασθενείς μας είχαν λάβει ανοσοκατασταλτική θεραπεία χωρίς ανταπόκριση.

Δεδομένου ότι τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης αναφέρονται σε πολύ μακρότερο χρονικό διάστημα [διάμεσος χρόνος παρακολούθησης =39 μήνες, εύρος (15,46)] είναι πιθανό ότι η συγκεκριμένη θεραπεία απαιτεί μακρότερο χρόνο δράσης στους ασθενείς όπου επιτυγχάνεται ύφεση. Εάν και κατά πόσο αυτή η παρατήρηση έχει σχέση με το μηχανισμό εξάλειψης των Β κυττάρων αποτελεί ερώτημα. Οι Ruggenenti και συν. διαπίστωσαν βελτίωση της κλασματικής κάθαρσης του νατρίου περίπου 9 φορές σε σχέση με την τιμή εκκίνησης¹¹³, καθώς και πλήρη ή μερική απορρόφηση των ανοσοεναποθέσεων με σημαντική εξασθένηση της χρώσης για IgG₄ χρώσης σε δείγματα βιοψίας μετά την θεραπεία με Rituximab¹¹⁴. Εάν το μονοκλωνικό αυτό αντίσωμα είναι σε θέση να αναστείλει το παθοφυσιολογικό μονοπάτι, που οδηγεί σε σύνθεση παθολογικών αντισωμάτων και ανοσοσυμπλεγμάτων, οι παραπάνω μεταβολές καθώς και ο μακρός χρόνος που απαιτείται για την υποστροφή των βλαβών μπορεί να κατανοηθεί. Επιπλέον, επειδή και η πρωτεϊνουρία αυτή καθ αυτή επιδρά βλαπτικά στα σπειράματα, οδηγώντας σε περαιτέρω καταστροφή της μεμβρανικής δομής, φαίνεται ότι η πρωτεϊνουρία αποτελεί καθοριστικό παράγοντα για τη συγκεκριμένη θεραπεία. Εάν δηλαδή χορηγείται σε ασθενείς με πρωτεϊνουρία χαμηλού επιπέδου, είναι περισσότερο πιθανό να οδηγήσει σε αναστροφή της βλάβης και πλήρη ύφεση, όπως προκύπτει από τα αποτελέσματα μας. Συγκεκριμένα, ασθενείς με υψηλότερη αλβουμίνη του ορού, φάνηκε να έχουν 2.65 φορές υψηλότερες πιθανότητες για την επίτευξη ύφεσης (ανά 0.5 g/dl αύξησης). Επίσης όσο πιο χαμηλή είναι η πρωτεϊνουρία 24ωρου κατά τη χορήγηση της θεραπείας, τόσο πιο πιθανή είναι η επίτευξη πλήρους ύφεσης. Η εξήγηση αυτών των αποτελεσμάτων πιθανόν να σχετίζεται με τη βαρύτητα της νόσου, όπως αυτή αντικατοπτρίζεται στην πρωτεϊνουρία 24ωρου και όλα τα συνοδά παθολογικά ευρήματα. Σοβαρότερες μορφές πρωτεϊνουρίας, που βιβλιογραφικά² συσχετίζονται με βαρύτερη μεμβρανική βλάβη, όπως σε περιπτώσεις με βαρύ και παρατεταμένο νεφρωσικό σύνδρομο, έχουν λιγότερες πιθανότητες για την επίτευξη πλήρους ύφεσης. Επομένως, τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά των ασθενών που μπορούν να επιτύχουν ύφεση με τη συγκεκριμένη θεραπεία ίσως παίζουν πρωταρχικό ρόλο. Μεταξύ αυτών, η αλβουμίνη ορού (p=0.037), η κρεατινίνη του ορού (p=0.047) και η GFR (p=0.042) κατά την ένταξη στη μελέτη αποτελούν θετικούς προγνωστικούς δείκτες (**Πίνακας Β.5**) για την ανταπόκριση στη θεραπεία.

Οι ιστολογικές παράμετροι από την άλλη πλευρά δεν φάνηκε να συσχετίζονται με την ανταπόκριση στη θεραπεία στην παρούσα μελέτη. Και όμως, σκόπιμο είναι να παρατηρήσουμε, ότι όλοι οι ασθενείς μας είχαν χαμηλούς δείκτες χρονιότητας της βλάβης (σπειραματική σκλήρυνση, διάμεση ίνωση, σωληναριακή ατροφία) με πολύ μικρή διακύμανση των score (**Πίνακας Β.3**). Γνωρίζουμε δε, από προηγούμενη μεγάλη μελέτη σε 520 ασθενείς με ΜΣ, που είχαν λάβει κλασική θεραπεία¹¹⁵, ότι η σοβαρότητα των ιστολογικών βλαβών είναι καθοριστική για τη απώτερη νεφρική επιβίωση αλλά όχι και για την ανταπόκριση ή όχι στη θεραπεία. Οι Ruggenenti όμως και συν. στην προσπάθειά τους να εντοπίσουν τα κριτήρια επιλογής των ασθενών που μπορούν να ωφεληθούν από τη συγκεκριμένη θεραπεία, έδειξαν ότι το Rituximab μειώνει την πρωτεϊνουρία σε ασθενείς με ελάχιστες ή ήπιες ιστολογικές βλάβες¹¹⁶. Είναι προφανές, ότι οι ιδιαιτερότητες που συνδέονται με το μηχανισμό δράσης της κάθε θεραπείας καθορίζουν το πλαίσιο και το χρονοδιάγραμμα της ενδεχόμενης ανταπόκρισης και κυρίως τη δυνατότητα αναστροφής ή όχι της παθογενετικής διαδικασίας.

Στα πλαίσια λοιπόν διερεύνησης του τρόπου δράσης του Rituximab μετά την εξάλειψη των Β κυττάρων, μελετήσαμε τις επιμέρους επιδράσεις του στις υπόλοιπες ανοσολογικές λειτουργίες μέσω των αριθμητικών μεταβολών των επιμέρους υποπληθυσμών λεμφοκυττάρων. Τα CD20 κύτταρα παρουσίασαν στατιστικά σημαντική μεταβολή σε σχέση με τον αριθμό εκκίνησης τόσο τον 1^ο μήνα μετά τη θεραπεία όσο και στη φάση επανάκαμψης τους (6^{ος} μήνας μετά τη θεραπεία). Το εύρημα αυτό είναι σε συμφωνία με την άποψη, ότι η συγκεκριμένη νόσος μπορεί να είναι αποτέλεσμα διαταραγμένης αντισωματικής απάντησης^{117,118} και επακόλουθης εναπόθεσης ανοσοσυμπλεγμάτων στη σπειραματική μεμβράνη. Είναι δε πιθανό, η επανάκαμψη των Β κυττάρων μετά την προσωρινή εξάλειψη τους, να συνδυάζεται με αποβολή των «παθολογικών» κυτταρικών μορφών, που σχετίζονται με την παθολογική αντισωματική απάντηση και ως εκ τούτου να οδηγούν σε ύφεση της νόσου¹¹⁸.

Ως εκ τούτου, η κλινική δοκιμή με το Rituximab παρουσιάζει ιδιαίτερο θεραπευτικό ενδιαφέρον και για το λόγο αυτό θα επιχειρήσουμε μια ανασκόπηση των δεδομένων που αφορούν την εξάλειψη των Β κυττάρων στην ΜΣ, σε αντιπαραβολή με τις εδραιωμένες θεραπείες για την νόσο αυτή. Η ιδέα για την εξάλειψη των Β κυττάρων στη ιδιοπαθή ΜΣ προκύπτει από δεδομένα της μοριακής βιολογίας¹¹⁶⁻¹¹⁸.

Γνωρίζουμε από πειραματικά μοντέλα, στοιχεία για την πρόκληση της συγκεκριμένης βλάβης στα σπειράματα^{118,119} τα οποία υποστηρίζουν την εμπλοκή της Th2 ανοσιακής απάντησης με την παραγωγή και εναπόθεση ανοσοσφαιρινών να αποτελεί το κυρίαρχο στοιχείο^{118,119}. Επίσης υποστηρικτική αυτής της άποψης είναι η διαπίστωση ότι η έκφραση του CD20 mRNA είναι πιο έντονη στο διάμεσο ιστό σε ασθενείς με ΜΣ σε σχέση με την ομάδα ελέγχου¹¹⁸ ή ασθενείς με άλλες σπειραματονεφρίτιδες. Η παρατήρηση αυτή, σε συνδυασμό με ευρήματα που συνηγορούν υπέρ της συμμετοχής των B κυττάρων στη φλεγμονώδη διαδικασία στο νεφρικό ιστό¹¹⁵, οδηγούν στην αξιοποίηση παραγόντων, όπως το anti CD20 μονοκλωνικό αντίσωμα, στη θεραπεία της ιδιοπαθούς ΜΣ.

Μέχρι τώρα το Rituximab έχει χορηγηθεί στην ιδιοπαθή ΜΣ ως θεραπεία 2^{ης} γραμμής, σε περιπτώσεις που είχαν αποτύχει σε προηγούμενες θεραπείες. Μόνο οι Remuzzi και συν⁶⁴, έχουν παρουσιάσει αποτελέσματα σε ασθενείς, που έλαβαν τη θεραπεία αυτή ως πρώτη επιλογή^{64,111,119-121} ανοσοκαταστολής. Στην πλειοψηφία των περιπτώσεων χρησιμοποιείται το πρωτόκολλο των 4 συνεχών εβδομαδιαίων ώσεων σε δόση 375mg/m² επιφάνειας σώματος, εκτός από 3 περιπτώσεις, όπου χρησιμοποιήθηκε παραλλαγή του παραπάνω σχήματος¹²². Δέκα μελέτες αναφέρονται αποκλειστικά σε περιπτώσεις ιδιοπαθούς ΜΣ, περιγράφοντας 67 ασθενείς συνολικά.

Οι *ανεπιθύμητες ενέργειες* που έχουν αναφερθεί μετά από χορήγηση του Rituximab σε ασθενείς με ιδιοπαθή ΜΣ, είναι γενικά λίγες σε αριθμό και σε σοβαρότητα^{123,124}. Συγκεκριμένα, έχουν περιγραφεί περιορισμένες περιπτώσεις παροδικής, ήπιας αλλεργικής ή άλλης αντίδρασης στη διάρκεια της έγχυσης, η οποία αντιμετωπίστηκε χωρίς ιδιαίτερη δυσκολία. Σπανιότερα και σε υπόβαθρο άλλων νοσημάτων, έχουν αναφερθεί περιπτώσεις γενικευμένου αγγειο-οιδήματος ή/και βρογχόσπασμου, καθώς και ουδετεροπενία, θρομβοπενία και ερπητικές λοιμώξεις¹²⁵ (σε ανασκόπηση από A. Salama & Pusey C.)¹²⁵. Είναι ωστόσο γεγονός, ότι τα μακροπρόθεσμα αποτελέσματα και οι απώτερες επιδράσεις του βιολογικού αυτού παράγοντα παραμένουν άγνωστα στους ασθενείς με αυτοάνοσα νοσήματα. Έτσι, η περίπτωση αδενοκαρκινώματος, που περιγράφεται από τους Garrett και συν¹²⁵ σε ασθενή με πιο μακροχρόνια παρακολούθηση, εγείρει ένα ερώτημα σχετικά με την συχνότητα τέτοιων περιστατικών σε ασθενείς που λαμβάνουν τη θεραπεία αυτή¹²⁵.

Μια άλλη ανεπιθύμητη ενέργεια που έχει αναφερθεί αφορά την ανάπτυξη ανθρώπινων αντιχειμερικών αντισωμάτων (Human Antichimeric Antibodies, HACAs), σε ασθενείς με ΣΕΛ¹²⁶. Η ανάπτυξη τους συσχετίστηκε με τη μαύρη φυλή, τον υψηλότερο δείκτη ενεργότητας του ΣΕΛ και την μειωμένη ικανότητα εξάλειψης των Β κυττάρων¹²⁶. Ενδιαφέρον δε είναι το γεγονός, ότι ενώ στο ΣΕΛ αναφέρεται ανίχνευση των αντισωμάτων αυτών σε ποσοστό 64.7% των ασθενών που έλαβαν Rituximab, με τίτλους >100 ng/ml σε ποσοστό 35%, ενώ σε ασθενείς με λέμφωμα αναφέρεται σε ποσοστό 0.6%¹²⁷. Αποτελεί δηλαδή ερώτημα εάν και κατά πόσο το ίδιο το Rituximab είναι ανοσογόνο ή το ανοσολογικό υπόβαθρο του εκάστοτε ασθενούς, σχετιζόμενο πάντοτε με το υποκείμενο νόσημα του, μπορεί να ενεργοποιήσει την διαδικασία παραγωγής των HACA¹²⁷⁻¹³¹. Στη παρούσα μελέτη δεν επιχειρήθηκε ανίχνευση των αντισωμάτων αυτών στους ασθενείς που έλαβαν τη θεραπεία, αφού τα βιβλιογραφικά δεδομένα σε ότι αφορά την ΜΣ δεν δικαιολογούν τέτοια ανησυχία, η δε κλινική τους σημασία, είναι αμφιλεγόμενη^{113,114,126}. Οι ανεπιθύμητες ενέργειες όμως από τη χρήση της κυκλοφωσφαμίδης/χλωραμβουκίλης είναι γνωστές, τόσο σε βραχυπρόθεσμο, όσο και μακροπρόθεσμο χρόνο παρακολούθησης^{123,124}. Η συσχέτιση των θεραπειών αυτών με αυξημένη επίπτωση νεοπλασμάτων είναι γνωστή και τεκμηριωμένη από έτη¹²⁴. Σε ότι αφορά τους αναστολείς καλσινευρίνης, και κυρίως την κυκλοσπορίνη, ο προβληματισμός αφορά στη γνωστή νεφροτοξική και υπερτασιογόνο δράση της, η οποία σε συνάρτηση με την δόση και την ηλικία του ασθενούς μπορεί να αποβεί τοξική. Ως εκ τούτου, η χρήση τους δεν συνιστάται σε ασθενείς με κάθαρση κρεατινίνης <60 ml/min, σοβαρή αρτηριακή υπέρταση, διάμεση ίνωση και σωληναριακή ατροφία^{35,36,57-60}. Επιπλέον η ασφάλεια επιβάλλει περιοριστικούς κανόνες⁵⁷, όπως η πιθανή αύξηση της κρεατινίνης ορού να μην ξεπερνά το 30% της αρχικής τιμής, η μέση δόση να κυμαίνεται στα 3-4 mg/kg/24ωρο και τα επίπεδα του ορού πριν την χορηγούμενη δόση να είναι μεταξύ 75-200 ng/ml^{35,36,57-60}.

Οι μέχρι τώρα μελέτες, που αφορούν στην χορήγηση του Rituximab στην ιδιοπαθή ΜΣ, δεν παρέχουν δεδομένα συγκρίσιμα με αυτά των κλασικών θεραπειών, που έχουν εισαχθεί τεκμηριωμένα στη θεραπευτική του συγκεκριμένου νοσήματος^{36,53}. Κλασικές θεραπευτικές προσεγγίσεις αποτελούν εκτός της αναστολής του συστήματος ρενίνης αγγειοτασίνης, ανοσοκατασταλτικές θεραπείες, και συγκεκριμένα, η κυκλοφωσφαμίδη, η χλωραμβουκίλη, και αναστολείς της καλσινευρίνης, όπως η κυκλοσπορίνη^{36,53}. Επιπλέον τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του

κάθε ασθενούς παίζουν σημαντικό ρόλο στη θεραπευτική επιλογή και αφορούν *προγνωστικούς παράγοντες*, κλινικούς, εργαστηριακούς, και παθολογοανατομικούς, που έχουν φανεί καθοριστικοί για την έκβαση της νόσου^{36,39,40}. Τα μοντέλα σκιαγράφησης της εξέλιξης της νόσου έχουν δείξει, ότι το επίπεδο της πρωτεϊνουρίας, η ιστολογία (σπειραματική σκλήρυνση, διάμεση ίνωση, σωληναριακή ατροφία, αγγειακή βλάβη), και η νεφρική λειτουργία παίζουν πρωταρχικό ρόλο στην απώτερη πρόγνωση¹¹³. Σε ότι αφορά τη χορήγηση Rituximab στην ΜΣ, ανάλογη έρευνα έχει δείξει ότι η παρουσία μέτριας ή σημαντικής σωληναριακής ατροφίας στη διαγνωστική βιοψία αποτελεί αρνητικό προγνωστικό παράγοντα για την ανταπόκριση στη θεραπεία αυτή¹¹⁴.

Σχετικά με την *αποτελεσματικότητα* του Rituximab στην ιδιοπαθή ΜΣ, 20% των ασθενών στη μελέτη των Remuzzi και συν και 13% των ασθενών στη μελέτη των Ferrenza και συν. πέτυχαν πλήρη ύφεση^{60,107,108}. Στην πρώτη περίπτωση η μελέτη αφορούσε 8 ασθενείς με μέση πρωτεϊνουρία 24ωρου 8.6g και στη δεύτερη περίπτωση 15 ασθενείς με μέση πρωτεϊνουρία 24ωρου 13g. Αντίστοιχα, η μερική ύφεση διακυμάνθηκε από 36-50% στην πρώτη περίπτωση, και 40% στη δεύτερη. Ο μέσος χρόνος για τη επίτευξη πλήρους ή μερικής ύφεσης δεν αναφέρεται στις μελέτες αυτές αλλά ο ολικός χρόνος παρακολούθησης ήταν μικρότερος των 15 μηνών. Από την άλλη πλευρά η χορήγηση κυτταροτοξικών φαρμάκων και αναστολέων της καλσινευρίνης, τεκμηριωμένη με μεθοδική έρευνα, έχει από έτη στοιχειοθετήσει την δραστικότητα τους στην ιδιοπαθή ΜΣ με υψηλά ποσοστά νεφρικής επιβίωσης στα 10 έτη (92% έναντι 60% για την ομάδα ελέγχου)^{50-54,36}.

Η χλωραμβουκίλη, σε εναλλαγή με κορτικοειδή (Ponticelli protocol) ανά μήνα για διάστημα 6 μηνών^{51,52,53} έχει συσχετισθεί με καλύτερη νεφρική λειτουργία και περισσότερες περιπτώσεις πλήρους και μερικής ύφεσης από την ομάδα ελέγχου, μετά από παρακολούθηση 31 μηνών. Σε μακρόχρονη παρακολούθηση (5 έτη), φάνηκε ότι 72% (23/32) των ασθενών, που είχαν λάβει τη θεραπεία αυτή ήταν σε ύφεση (12 πλήρη και 11 μερική), ενώ μόνο 30% (9/30) της ομάδας ελέγχου (2 πλήρη και 7 μερική). Η νεφρική λειτουργία ήταν σημαντικά καλύτερη στην πρώτη ομάδα, ενώ η πολυπαραγοντική ανάλυση έδειξε, ότι ο κίνδυνος για την ανάπτυξη νεφρικής ανεπάρκειας συσχετιζόταν με τη μη θεραπεία και την ύπαρξη διαμεσοσωληναριακών βλαβών στη βιοψία νεφρού^{37,50}. Όταν η χλωραμβουκίλη αντικαταστάθηκε από κυκλοφωσφαμίδη, σε 87 ασθενείς με ιδιοπαθή ΜΣ και βαρύ νεφρωσικό σύνδρομο, τα

ποσοστά ύφεσης της πρωτεϊνουρίας ήταν 82% στην ομάδα της χλωραμβουκίλης, και 93% στην ομάδα της κυκλοφωσφαμίδης. Η επίπτωση των υποτροπών που καταγράφηκε ήταν 30.5% και 25% αντίστοιχα, ενώ η νεφρική λειτουργία ήταν σταθερή στις δύο ομάδες μετά από 3ετή παρακολούθηση⁵⁴. Η χορήγηση κυκλοφωσφαμίδης χωρίς κορτικοειδή, αλλά σε συνδυασμό με διπυριδαμόλη και βαρφαρίνη είχε σημαντικά χαμηλότερη πρωτεϊνουρία και υψηλότερη αλβουμίνη ορού σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου⁵⁵.

Οι αναστολείς καλσινευρίνης και κυρίως η κυκλοσπορίνη, χορηγούμενη για ένα χρόνο σε 51 ασθενείς με ιστολογικά επιβεβαιωμένη ΜΣ και σε σύγκριση με μια ομάδα που έλαβε placebo, έδειξε σημαντική μείωση της πρωτεϊνουρίας και ακόμη πιο αξιοσημείωτα, επιβράδυνση στο ρυθμό έκπτωσης της νεφρικής λειτουργίας. Τα θετικά αυτά αποτελέσματα αφορούσαν πάνω από το 50% των ασθενών και διατηρήθηκαν 2 έτη μετά τη διακοπή της θεραπείας^{35,36,60}.

Παρά τα ενθαρρυντικά αποτελέσματα από τη μέχρι τώρα χρήση του Rituximab στην ιδιοπαθή ΜΣ, το γεγονός ότι αυτά περιορίζονται σε μικρές σειρές ασθενών και η έλλειψη τυχαίοποιημένων ελεγχόμενων μελετών, υπογραμμίζουν την ανάγκη περαιτέρω έρευνας στο πεδίο αυτό, ώστε να δικαιολογείται το υψηλό κόστος της θεραπείας αυτής. Αναμφισβήτητα, το Rituximab δίνει μια νέα προοπτική στη θεραπεία της ιδιοπαθούς ΜΣ, στοχεύοντας εκλεκτικά στα Β κύτταρα, τα οποία θεωρείται ότι εμπλέκονται στη παθογένεση της¹¹⁸. Εάν για παράδειγμα η δραστηριότητα των κυτταροτοξικών παραγόντων στη ΜΣ προέρχεται από την παρεμβολή τους στη λειτουργία των Β κυττάρων είναι πιθανό, ότι το Rituximab θα αποδειχθεί μελλοντικά ανώτερη θεραπευτική λύση. Επί του παρόντος οι τεκμηριωμένες πληροφορίες¹²⁵, προερχόμενες από την βασική και κλινική έρευνα, για την δράση του Rituximab συνοψίζονται στα εξής:

- α. Το Rituximab επιδρά στην παραγωγή αντισωμάτων και τη ρύθμιση της ωρίμανσης των ανοσοσφαιρινών μέσω της δράσης του στα Β κύτταρα¹²⁵.
- β. Επιδρά στην παραγωγή κυτταροκινών από τα Β κύτταρα¹²⁵.
- γ. Επηρεάζει την ενεργοποίηση των Τ κυττάρων μέσω των δράσεων του στα Β κύτταρα, κυρίως μέσω της μειωμένης έκφρασης των CD154, CD69 HLA-DR μορίων^{67,125}.

- δ. Επιδρά στην ομοιοστάση των λεμφοκυττάρων μέσω των δράσεων του στα Β κύτταρα επάγοντας ομαλοποίηση των επιμέρους τύπων τους, όπως έχει δειχθεί σε ασθενείς με ενεργό ΣΕΛ^{67,125}.

Επίσης, μένει να απαντηθούν ερωτήματα, που αφορούν την καταλληλότερη δοσολογία¹²³ και το σχήμα του φαρμάκου αυτού για το συγκεκριμένο νόσημα⁶⁷. Το προφίλ των ανεπιθύμητων ενεργειών είναι αναμφίβολα ήπιο, αλλά στις μέχρι τώρα μελέτες ο χρόνος παρακολούθησης ήταν περιορισμένος^{64,111,112,122}. Η παρούσα μελέτη ωστόσο, παρέχει αποτελέσματα, με σχετικά ασήμαντες ανεπιθύμητες ενέργειες, σε διάμεσο χρόνο παρακολούθησης 39 μηνών από την θεραπεία (μέσος χρόνος παρακολούθησης 42 μήνες). Ακόμη πιο ενδιαφέρουσα είναι η πρόσφατη διαπίστωση από τους Ruggenenti και συν. ότι επί υφέσεως η συγκεκριμένη θεραπεία συνδέεται με μορφολογικές και λειτουργικές μεταβολές, που ευοδώνουν την αναστροφή της βλάβης στο πειραματικό επίπεδο¹¹⁸. Οι μεταβολές αυτές παρατηρήθηκαν σε μέσο χρόνο 21 μήνες από τη έναρξη της θεραπείας, γεγονός που υπογραμμίζει την βραδεία πιθανώς ταχύτητα με την οποία η συγκεκριμένη θεραπεία επιτυγχάνει ύφεση στους ασθενείς αυτούς. Η έλλειψη ομάδας ελέγχου περιορίζει την σημαντικότητα του ευρήματος αυτού και πάλι επισημαίνει την αναγκαιότητα για τυχαιοποιημένες συγκριτικές μελέτες στην κλινική και βασική έρευνα, που να εδραιώνουν την ασφάλεια και τη δραστηριότητα του.

Συνοψίζοντας τα ευρήματα από τις δύο σειρές των ασθενών που μελετήσαμε, μπορούμε να υποστηρίξουμε ότι: διερευνήσαμε την πιθανή αξιοποίηση δύο παθοφυσιολογικών μηχανισμών, που όπως στοιχειοθετείται από τα βιβλιογραφικά δεδομένα είναι πιθανό να εμπλέκονται, πρωτογενώς ή δευτερογενώς, στην ιδιοπαθή ΜΣ. Ο μικρός αριθμός ασθενών σε κάθε περίπτωση αποτρέπει την εξαγωγή οριστικών συμπερασμάτων, ωστόσο είναι ενδιαφέρον να γίνει αξιολόγηση των παραπάνω δεδομένων, σε σχέση με τις έως τώρα προτεινόμενες-κλασικές θεραπείες, καθώς πρόκειται για ένα νόσημα που η αιτιοπαθογένεια και η αντιμετώπιση του βρίσκονται ακόμη υπό διερεύνηση. Η χορήγηση του παράγοντα Etanercept, σε αυτή τη μικρή σειρά ασθενών δεν συνοδεύτηκε από ανταπόκριση, παρά μόνο σε ένα μικρό ποσοστό ασθενών (16%). Έτσι η χρήση της παθοφυσιολογικής αυτής οδού και η εκμετάλλευση των εμπλεκόμενων φαρμακευτικών παραγόντων δεν συνιστάται παρά μόνο υπό συγκεκριμένες ερευνητικές συνθήκες. Δεν αποκλείεται, ότι η επιλογή των ασθενών με βάση γενετικά

ή και άλλα ειδικότερα κριτήρια, να μπορούσε να οδηγήσει σε θετικά αποτελέσματα και να επιβεβαιώσει την εμπλοκή του TNF-α στην παθογένεια της ΜΣ με θεραπευτικό όφελος υπό συγκεκριμένες συνθήκες. Επιπλέον, περαιτέρω διερεύνηση με τη χρήση άλλων αναστολέων του TNF-α ή και του ίδιου, αλλά με μεγαλύτερη διάρκεια ή/και δοσολογία θεραπείας, θα μπορούσε να αποτελέσει αντικείμενο μελλοντικής έρευνας. Ως εκ τούτου, αν και αποδεικνύεται ασφαλής, η χορήγηση του TNF-α στην ιδιοπαθή ΜΣ, με δεδομένη τη μη αποτελεσματικότητα της, αποτρέπει τη χρήση του συγκεκριμένου παράγοντα (Etanercept), τουλάχιστον υπό το παρόν σχήμα στην κλινική πράξη.

Η χορήγηση του μονοκλωνικού αντισώματος Rituximab από την άλλη μεριά, στη σειρά αυτή των 12 ασθενών που μελετήσαμε, οδήγησε σε ύφεση, πλήρη ή μερική, σε 91.6% % των περιπτώσεων. Επιπλέον, η ύφεση αυτή διατηρήθηκε για μεγάλο χρονικό διάστημα στους συγκεκριμένους ασθενείς. Τα θετικά αυτά αποτελέσματα σε συνδυασμό με την απουσία ανεπιθύμητων ενεργειών προκρίνουν τη θεραπεία αυτή ως ενδιαφέρουσα και ελπιδοφόρα στην αντιμετώπιση της ιδιοπαθούς ΜΣ. Η ειδοποιός δε διαφορά της συγκεκριμένης μελέτης σε σχέση με τις προηγούμενες^{64,111,112} που εξέτασαν τη συμμετοχή του παθοφυσιολογικού αυτού μηχανισμού, είναι η μεγάλη διάρκεια του χρόνου παρακολούθησης.

Δ. Συμπεράσματα

1. Η χορήγηση του αναστολέα του TNF-α, Etanercept, αποδεικνύεται καλά ανεκτή και ασφαλής σε ασθενείς με ιδιοπαθή ΜΣ.
2. Η χορήγηση του αναστολέα του TNF-α, Etanercept, στην σειρά αυτή των ασθενών με ιδιοπαθή ΜΣ δεν συνοδεύτηκε από μείωση της πρωτεϊνουρίας και ως εκ τούτου αποτρέπει τη χρήση του συγκεκριμένου φαρμακευτικού παράγοντα, τουλάχιστον υπό το παρόν σχήμα στην κλινική πράξη.
3. Η χορήγηση του Etanercept στους ασθενείς αυτούς με ιδιοπαθή ΜΣ οδήγησε σε αναστολή του συστήματος του TNF-α αλλά δεν επηρέασε τα μόρια προσκόλλησης στο ενδοθήλιο ή τους άλλους ανοσιακούς ρυθμιστές που ελέγχθηκαν στον ορό των ασθενών αυτών (E-selectin και sICAM-1, TNF-α, IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-1).
4. Πιθανή μελλοντική έρευνα θα μπορούσε να κατευθυνθεί στην επιλογή των ασθενών με ιδιοπαθή ΜΣ που ενδεχομένως είναι κατάλληλοι για να λάβουν θεραπεία με αναστολή του TNF-α, λαμβάνοντας υπόψη, γενετικά ή άλλα κριτήρια.
5. Η εξάλειψη των Β κυττάρων στην ιδιοπαθή ΜΣ, με το μονοκλωνικό αντίσωμα Rituximab, στη σειρά αυτή των 12 ασθενών, φάνηκε να είναι μια θεραπεία καλά ανεκτή και χωρίς ανεπιθύμητες ενέργειες.
6. Η χορήγηση του Rituximab συνοδεύτηκε με επίτευξη ύφεσης της ΜΣ σε ποσοστό 91.6% (πλήρους ή μερικής) των ασθενών. Από τους ασθενείς αυτούς 58% οδηγήθηκαν σε πλήρη ύφεση και 33% σε μερική ύφεση.
7. Όλοι οι ασθενείς παρουσίασαν εξάλειψη των Β κυττάρων σε χρονικό διάστημα 1 μήνα από τη θεραπεία [διάμεσος τιμή, εύρος (1,1)].
8. Η διάρκεια της εξάλειψης των Β λεμφοκυττάρων ήταν 6 μήνες [διάμεσος τιμή, εύρος (5,10)].
9. Οι ασθενείς που παρουσίασαν ανταπόκριση αρχικά πέτυχαν μερική ύφεση (N=11) σε χρονικό διάστημα 6 μηνών από τη χορήγηση του μονοκλωνικού αντισώματος [διάμεσος τιμή, εύρος (3,15)], ενώ στη συνέχεια κάποιοι από αυτούς πέτυχαν πλήρη ύφεση (N=7), σε χρονικό διάστημα 24 μηνών [διάμεσος τιμή, εύρος (15, 42)] από τη θεραπεία.

10. Θετικοί προγνωστικοί δείκτες για την επίτευξη πλήρους ύφεσης βρέθηκαν να είναι, το επίπεδο της πρωτεΐνουρίας 24ωρου, η αλβουμίνη του ορού, το επίπεδο της νεφρικής λειτουργίας (eGFR), και η μεταβολή των CD20 κυττάρων μετά τη θεραπεία.
11. Το ποσοστό διήθησης του νεφρικού ιστού από CD20 και CD45 κύτταρα, στην διαγνωστική νεφρική βιοψία, δεν συσχετίζεται με την επίτευξη πλήρους ύφεσης.
12. Η απουσία ομάδας ελέγχου δεν μπορεί να αποκλείσει την πιθανότητα περιπτώσεων αυτόματης ύφεσης.
13. Τυχαιοποιημένες και ελεγχόμενες μελέτες θα μπορούσαν να διαλευκάνουν στο μέλλον, την ενδεχόμενη θέση του μονοκλωνικού αντισώματος Rituximab στη θεραπεία της ιδιοπαθούς ΜΣ.

Περίληψη

«Θεραπεία της Ιδιοπαθούς Μεμβρανώδους Σπειραματοπάθειας»

Σκοπός: Να εκτιμηθεί η ασφάλεια, η ανοχή και το πιθανό θεραπευτικό όφελος από την αξιοποίηση νέων παθοφυσιολογικών καναλιών στην θεραπεία της ιδιοπαθούς ΜΣ και συγκεκριμένα η αναστολή του TNF-α και η προσωρινή εξάλειψη των Β λεμφοκυττάρων.

A. Αναστολή του TNF-α στην ιδιοπαθή ΜΣ

Σκοπός: Να εκτιμηθεί η ασφάλεια, η ανοχή και το πιθανό θεραπευτικό όφελος από τη χορήγηση ενός αναστολέα του TNF-α, του Etanercept (ET), στη θεραπεία της ιδιοπαθούς ΜΣ.

Ασθενείς-Μέθοδοι: Οι ασθενείς με ιστολογικά επιβεβαιωμένη ΜΣ και νεφρωσικού επιπέδου πρωτεϊνουρία ήταν υποψήφιοι για ένταξη στη μελέτη εάν είχαν κάθαρση κρεατινίνης >50 ml/min. Τα κριτήρια αποκλεισμού περιελάμβαναν: θεραπεία με στεροειδή ή κυκλοσπορίνη το προηγούμενο 3μηνο, ή κυτταροτοξικά φάρμακα το 6μηνο πριν την ένταξη στη μελέτη. Το Etanercept χορηγούνταν υποδορίως 2 φορές την εβδομάδα, σε δόση 25 mg για 3 μήνες. Τα επίπεδα των: TNF-α, Ιντερλευκίνη-1 (IL-1), Ιντερλευκίνη-6 (IL-6), Ιντερλευκίνη-10 (IL-10), διαλυτό ενδοκυττάριο μόριο προσκόλλησης τύπου-1 (sICAM-1), E-selectin, και η διαλυτή μορφή του υποδοχέα-55 του TNF-α, (s-TNFR-55), μετρούνταν στο πλάσμα κατά την είσοδο στη μελέτη και ακολούθως στους μήνες 3, 6, και 9 μετά την έναρξη της θεραπείας.

Αποτελέσματα: Δώδεκα ασθενείς εισήχθησαν στη μελέτη (4 γυναίκες/8 άνδρες) σε μέσο χρόνο από τη διάγνωση 8.3 μήνες. Η θεραπεία με το ET έγινε καλά ανεκτή. Δεν παρατηρήθηκαν λοιμώξεις ή άλλες ανεπιθύμητες ενέργειες στη διάρκεια της θεραπείας και της μετέπειτα παρακολούθησης. Δύο ασθενείς πέτυχαν πλήρη ύφεση της πρωτεϊνουρίας, η οποία διατηρήθηκε για τουλάχιστον 4 χρόνια. Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μεταβολή στα επίπεδα των TNF-α, IL-1, IL-6 IL-8 και IL-10 κατά τη διάρκεια της μελέτης. Παρομοίως, τα επίπεδα των E-selectin και sICAM-1 δεν μεταβλήθηκαν σημαντικά μετά την θεραπεία. Παρότι τα επίπεδα του

υποδοχέα sTNFR-55 δεν παρουσίασαν μεταβολή 3 και 6 μήνες μετά τη θεραπεία, μια στατιστικά σημαντική μεταβολή παρατηρήθηκε 9 μήνες μετά την θεραπεία (μέση διαφορά από την τιμή εκκίνησης: 334 ± 527 pg/ml, $p=0.028$)

Συμπέρασμα: Βραχύχρονη χορήγηση ET σε μια μικρή σειρά ασθενών με ιδιοπαθή ΜΣ φάνηκε να είναι ασφαλής και καλά ανεκτή. Το σύστημα του TNF- α ανεστάλη, όπως διαπιστώθηκε από την μείωση των επιπέδων του υποδοχέα του sTNFR-55, αλλά δεν συνοδεύτηκε από θεραπευτικό όφελος

B. Εξάλειψη των Β Λεμφοκυττάρων στην ιδιοπαθή ΜΣ

Σκοπός: Να αξιολογηθεί η δραστηριότητα του μονοκλωνικού αντισώματος Rituximab, στη θεραπεία της ιδιοπαθούς ΜΣ, καθώς και να μελετηθούν οι ενδεχόμενες μεταβολές των λεμφοκυττάρων που ακολουθούν.

Ασθενείς-Μέθοδοι: Οι ασθενείς με ιστολογικά επιβεβαιωμένη ΜΣ θεωρούνταν υποψήφιοι για ένταξη στη μελέτη εάν είχαν ελάχιστη πρωτεϊνουρία 3 g/24ωρο, υπολογιζόμενη CrCl >30 ml/min/1.73m² και ηλικία >18 έτη. Ασθενείς με ενεργό ή μη θεραπευμένη οξεία ή χρόνια λοίμωξη, ή με ιστορικό πρόσφατης θεραπείας με κυτταροτοξικά φάρμακα (χλωραμβουκίλη, κυκλοφωσφαμίδη) αποκλείσθηκαν. Ως πλήρης ύφεση ορίστηκε η ελάττωση στην πρωτεϊνουρία $>50\%$ από την τιμή ένταξης με πρωτεϊνουρία 24ωρου <0.3 g/24ωρο και ως μερική ύφεση η μείωση $>50\%$ από την τιμή ένταξης με πρωτεϊνουρία <3 g/24ωρο. Η θεραπεία με Rituximab περιελάμβανε 4 εβδομαδιαίες ώσεις (375 mg/m²).

Αποτελέσματα: Όλοι οι ασθενείς ανέχθηκαν τη θεραπεία με Rituximab χωρίς προβλήματα. Στο τέλος της παρακολούθησης πλήρης ύφεση παρατηρήθηκε σε 7/12 ασθενείς (58.3%), μερική ύφεση σε 4/12 (33.3%), ενώ μη ανταπόκριση σε ένα ασθενή 1/12 (8.3%). Το 3^ο μήνα μετά τη θεραπεία, 33.3% των ασθενών είχαν πετύχει μερική ύφεση ($p=0.084$) και κανένας πλήρη, στον 6^ο μήνα 50% είχαν μερική ύφεση ($p=0.26$) και κανένας πλήρη, και τον 9^ο μήνα 58.3% είχαν μερική ύφεση ($p=0.033$) και κανένας πλήρη. Αντίστοιχα στο 12^ο και 15^ο μήνα 68.8% ($p=0.003$) και 89.6% ($p=0.005$) των ασθενών είχαν μερική ύφεση και 18.2% και 28.4% πλήρη ύφεση. Η μέση τιμή της κρεατινίνης ορού δεν μεταβλήθηκε σημαντικά σε σχέση τη τιμή ένταξης κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης ($p=NS$), όπως και η μέση τιμή του eGFR ($p=NS$). Η μέση τιμή της αλβουμίνης του ορού παρουσίασε στατιστικά σημαντική

αύξηση από 3.2 (± 0.5) g/dl κατά την ένταξη στη μελέτη, σε 4.2 (± 0.7) g/dl στο 15^ο μήνα μετά την θεραπεία ($p < 0.001$).

Η ανάλυση των επιμέρους μεταβολών των υποπληθυσμών των λεμφοκυττάρων κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης ανέδειξε στατιστικά σημαντική μεταβολή στα B λεμφοκύτταρα (CD20) σε σχέση με την τιμή εκκίνησης. Τα CD20 κύτταρα μηδενίστηκαν μετά τη θεραπεία με Rituximab (μέσος χρόνος για την εξάλειψη των B κυττάρων = 1 μήνας) ($p = 0.002$). Η εξάλειψη των B κυττάρων διήρκησε 6 μήνες (median time) (min/max, 5/10).

Συμπεράσματα

α. Βραχύχρονη χορήγηση ET σε μια μικρή σειρά ασθενών με ιδιοπαθή ΜΣ φάνηκε να είναι ασφαλής και καλά ανεκτή. Το σύστημα του TNF- α ανεστάλη, όπως διαπιστώθηκε από την μείωση των επιπέδων του υποδοχέα του sTNFR-55, αλλά δεν συνοδεύτηκε από θεραπευτικό όφελος.

β. Η εξάλειψη των B κυττάρων στην ιδιοπαθή ΜΣ με το μονοκλωνικό αντίσωμα Rituximab στη σειρά αυτή των 12 ασθενών φάνηκε να είναι μια θεραπεία καλά ανεκτή και χωρίς ανεπιθύμητες ενέργειες. Η χορήγηση του Rituximab συνοδεύτηκε με επίτευξη ύφεσης της ΜΣ σε ποσοστό 91.6% (58% πλήρης και 33% μερική) των ασθενών. Όλοι οι ασθενείς παρουσίασαν εξάλειψη των B κυττάρων σε χρονικό διάστημα 1 μήνα από τη θεραπεία [διάμεσος τιμή, εύρος (1,1)] που διήρκησε 6 μήνες [διάμεσος τιμή, εύρος (5,10)].

Summary

“Alternative approaches in the treatment of Membranous Glomerulopathy (MGN)”

Idiopathic Membranous Glomerulopathy and its treatment have always been an enigma and a challenge for practicing nephrologists. Continuing efforts to explore this disease reveal potential pathways that might be involved in its pathogenesis and consequently its therapy.

We describe two series of patients who received two different kinds of pharmacological agents relying on data reported in the literature. As we seek to investigate the possibility to exploit these agents in patients with MG, the primary goal in both cases was to evaluate their safety and tolerability profile. Subsequently, we assessed efficacy, if any, and the associated characteristics.

i. Inhibition of Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) in idiopathic MGN

Aim: To evaluate the safety, tolerability and potential efficacy of the TNF- α inhibitor, Etanercept (ET), in patients with idiopathic Membranous Glomerulopathy.

Patients-Methods: Patients with biopsy proven MGN, nephrotic range proteinuria and clearance of creatinine 50 ml/min or more were included in the study. Exclusion criteria were; treatment with steroids or cyclosporine during the previous 3 months, or cytotoxic agents within six months prior to entry. Etanercept was administered subcutaneously twice per week at a dose of 25 mg for 3 months. Plasma levels of TNF- α , interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6), interleukin-10 (IL-10), soluble intercellular adhesion molecule type 1 (sICAM-1), E-selectin, and the soluble form of tumor necrosis factor receptor-55 (sTNFR-55) were measured at the entry and at months 3, 6, and 9 post therapy start.

Results: Twelve patients entered the study (4 females/8 males, mean time from diagnosis 8.3 months). The therapy was well tolerated; no infections or other adverse events were recorded by the end of follow up. Two patients exhibited complete

remission of proteinuria for at least four years. No significant change was found in the levels of TNF- α , IL-1, IL-6 IL-8 and IL-10 during the study. Similarly the levels of E-selectin and sICAM-1 were not significantly altered by therapy. Although we found no change in sTNFR-55 at 3 and 6 months, the levels of sTNFR-55 were found significantly decreased 9 months after therapy (mean difference from baseline: 334 ± 527 pg/ml, $p=0.028$)

ii. Depletion of B lymphocytes in idiopathic MGN

Aim: To assess the potential therapeutic benefit of temporary depletion of B lymphocytes Rituximab in patients with idiopathic Membranous Glomerulopathy and describe any associated alterations in the subsets of lymphocytes.

Patients-Methods: Patients were entered in the study if they had biopsy proven MG and no clinical or laboratory evidence of secondary causes of the disease. They should also have glomerular filtration rate above $30 \text{ ml/min/1.73m}^2$, and minimum 24 hour proteinuria $>3 \text{ g/day}$. Patients who had been treated with cyclosporine or cytotoxic agents the year prior to entry were excluded. Depletion of B cells was achieved with Rituximab, which was administered intravenously, in a dose of 375 mg/m^2 , once weekly, for 4 consecutive weeks. Partial remission was defined as a $> 50\%$ decrease in proteinuria and absolute proteinuria $< 3 \text{ g/d}$ while complete remission was defined as a $>50\%$ decrease in proteinuria and an absolute protein excretion $< 0.3 \text{ gm/day}$.

Results: Twelve patients were entered, (4 females/8 males) with a mean age of 51.3 years. No adverse effects were observed during a median follow up time of 39 months. 11/12 (91.6%) patients achieved remission by the end of follow up time [7/12, 58.3% complete remission and 4/12 (33.3%) partial remission], while 1/12 didn't not respond to therapy. By the 12th month after instistution of therapy we observed remission rates: 68.8% ($p=0.003$) had achieved partial remission and $\alpha\theta\epsilon\nu\acute{\omega}\nu$ 28.4% had achieved complete remission. Mean serum cretinine was not altered significantly during the follow up time as well as mean eGFR. Mean serum albumin was significantly increased from $3.2 (\pm 0.5) \text{ g/dl}$ at baseline to $4.2 (\pm 0.7) \text{ g/dl}$ 15 months post therapy ($p<0.001$). CD20 lymphocytes were altered significantly in peripheral blood during the follow up time. We observed depletion of CD20

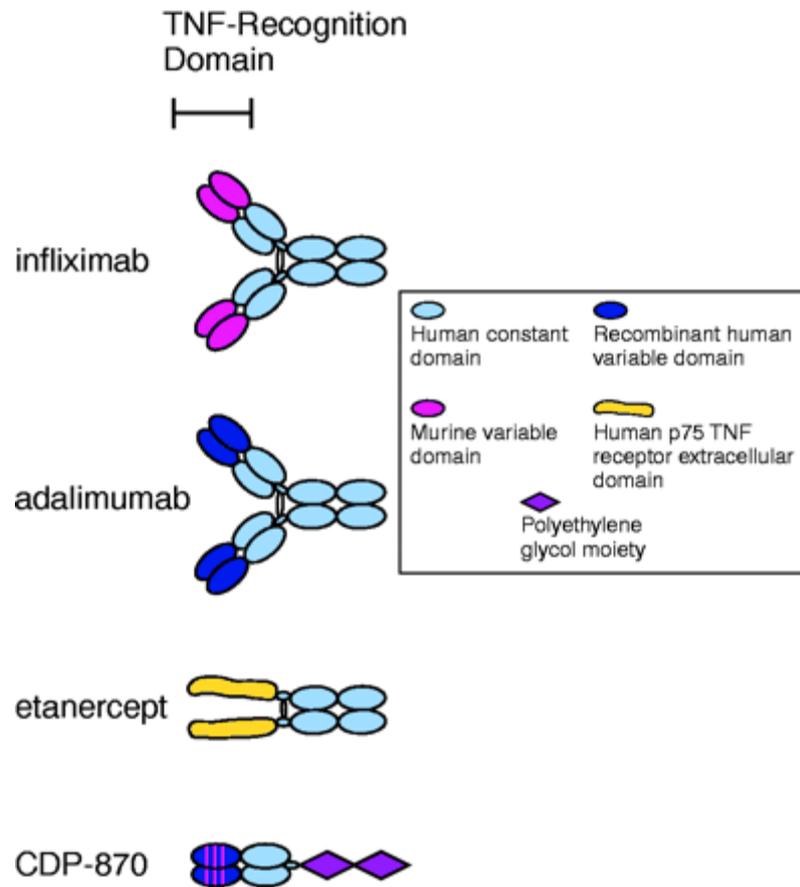
lymphocytes by the 1st month post therapy which lasted for a median time of 6 months (min/max, 5/10).

Conclusions

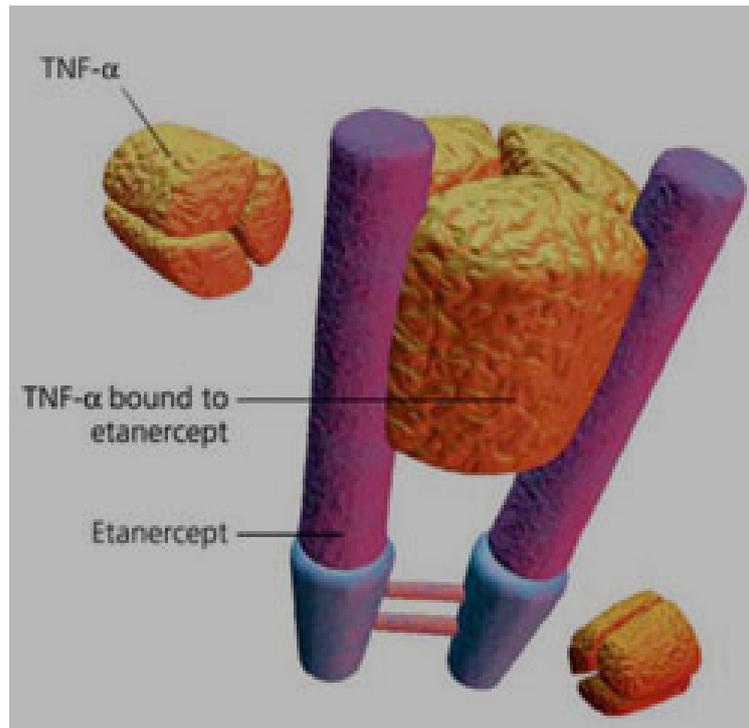
a. Short-term use of ET in a small series of patients with idiopathic MGN reduced sTNFR-55 levels but did not exhibit any significant clinical effect in the majority of patients.

b. Depletion of B cells in idiopathic MGN with Rituximab in a series of 12 patients was well tolerated and with no adverse events. 11/12 (91.6%) of patients achieved remission (58% complete & 33% partial remission). Depletion of B cells was observed 1 month post therapy and lasted for a median time of 6 months.

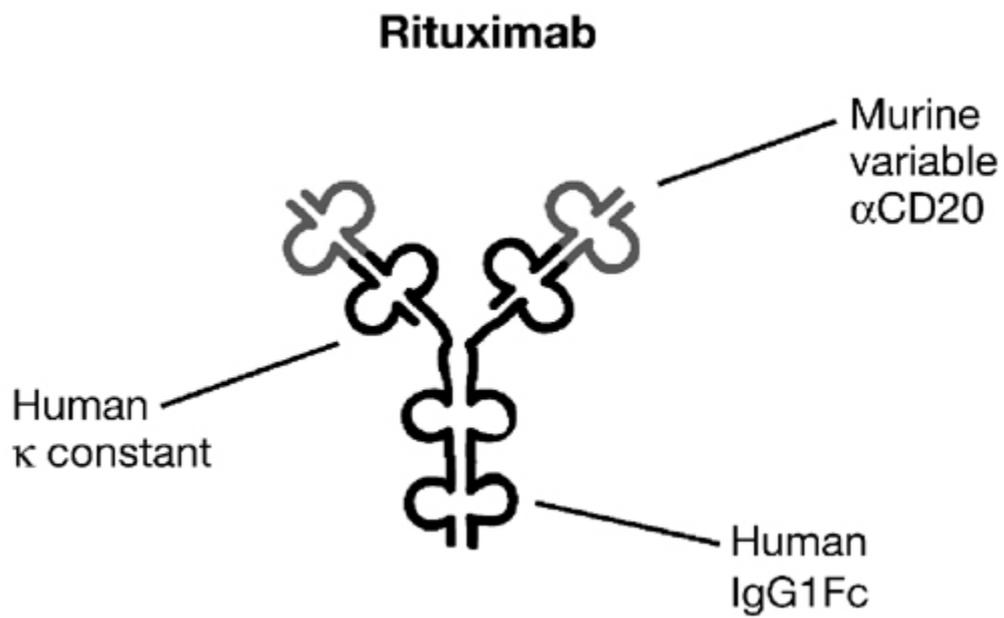
Ε. Εικόνες



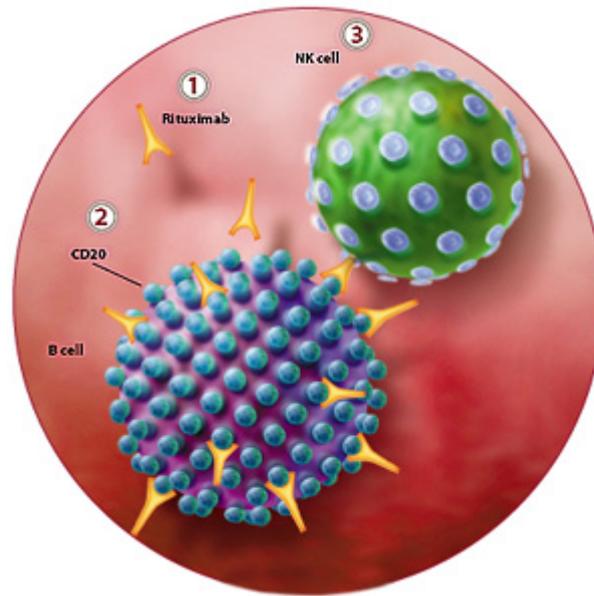
Εικόνα Α.1. Σχηματική παρουσίαση των διαθέσιμων αναστολέων του TNF-α (<http://molinterv.aspetjournals.org/cgi/>)



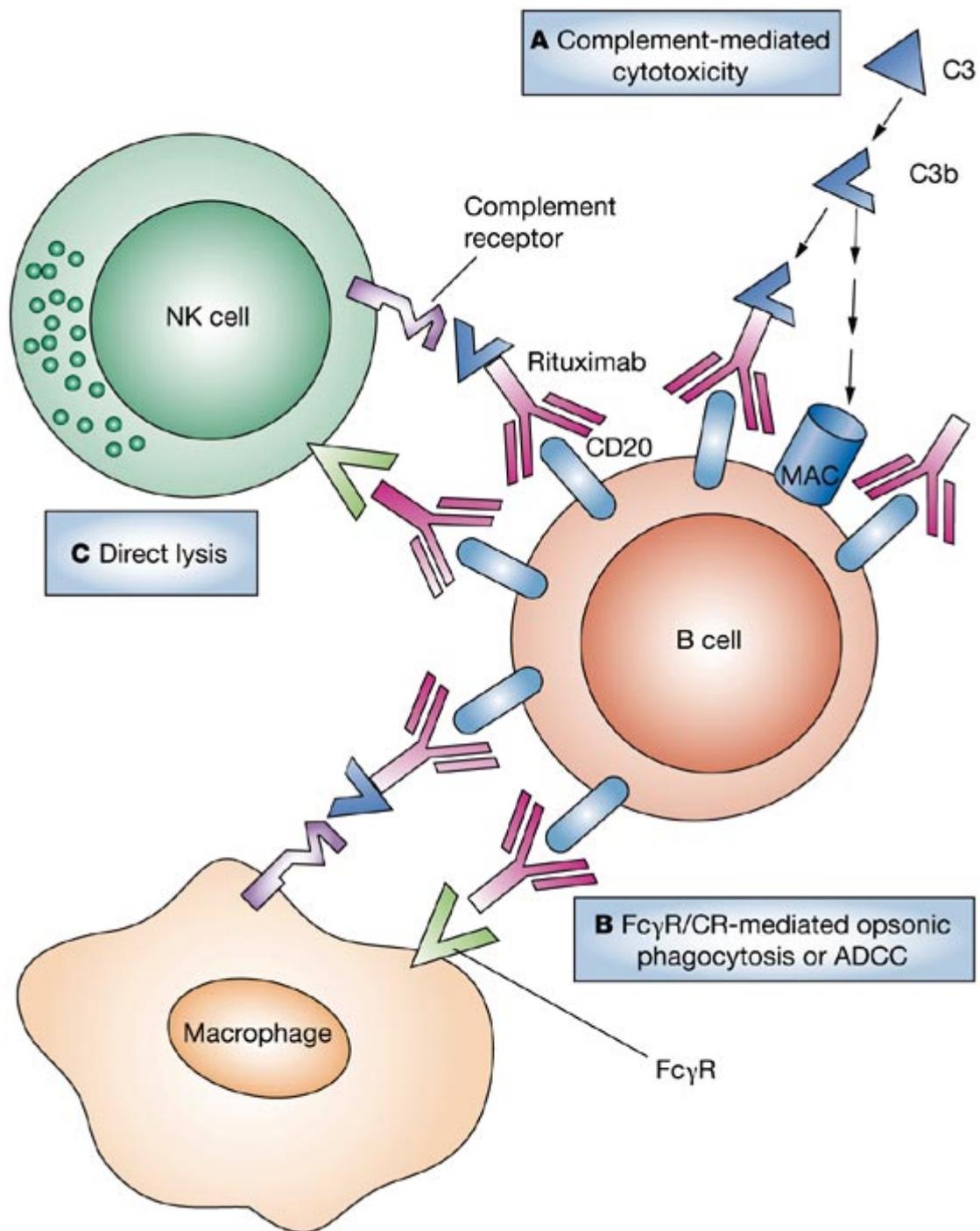
Εικόνα Α.2. Σχηματική αναπαράσταση του τρόπου δράσης του Etanercept (<http://allergy.immunodefence.com/2007/04/inflammation-asthma-and-tumor.html>)



Εικόνα Β.1. Rituximab: χειμερινή δομή (<http://www.nature.com/onc/journal/>)



Εικόνα Β.2. Σχηματική αναπαράσταση της θέσης του CD 20 αντιγόνου στα Β λεμφοκύτταρα (<http://www.jamesline.com/>)



Εικόνα Β.3 Σχηματική αναπαράσταση των πιθανών μηχανισμών καταστροφής των Β κυττάρων μετά την οψωνοποίηση τους με Rituximab (www.nature.com/)

ΣΤ. Πίνακες

Πίνακας Α.1. Δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών που έλαβαν θεραπεία με Etarnecept

Αριθμός ασθενών	12
Ηλικία (έτη), διάμεσος τιμή (εύρος)	53 (19–69)
Φύλο (Άρρεν/Θήλυ)	8/4
Φυλή (Καυκάσια/άλλη)	12/0
Χρόνος από τη διάγνωση (μήνες), διάμεσος τιμή (εύρος)	1 (0–24)
Νεφρική βιοψία, στάδιο	
I	3
II	8
III	1
IV	0
Προηγούμενη θεραπεία	
<i>ΑΜΕΑ</i>	5
<i>Χλωραμβουκίλη</i>	1
<i>Κυκλοσπορίνη</i>	1
Κρεατινίνη ορού (mg/dl), μέση τιμή (SEM)	1.1 (0.1)
GFR (ml/min), mean (SEM)	93.1 (6.8)
Πρωτεϊνουρία (g/day), μέση τιμή (SEM)	9.4 (1.5)
Αλβουμίνη ορού (g/dl), μέση τιμή (SEM)	2.9 (0.2)
Αρτηριακή υπέρταση	8

Πίνακας Β.1. Μέση τιμή (\pm SD) των κλινικο-εργαστηριακών παραμέτρων κατά την ένταξη στη μελέτη και μετά τη θεραπεία με Rituximab. Όλες οι συγκρίσεις αναφέρονται vs. μήνα 0 (χρονική φάση ένταξης στη μελέτη) και ανέδειξαν διαφορά στη στατιστική σημαντικότητα:

Χαρακτηριστικά	Μήνας από την ένταξη στη μελέτη					
	0	3	6	9	12	15
	N=12	N=12	N=12	N=11	N=11	N=10
Σωματικό βάρος, (Kg)	83.1 (13.9)	82.1 (12.1)	82.3 (12.6)	83.5 (10.3)	80.4 (12.2)	78.3 (12.5)
ΣΑΠ (mmHg)	122.2 (11.5)	126.9 (15.4)	123.6 (9.4)	117.5 (10.0)	126.5 (16.4)	111.6 (9.5)**
ΔΑΠ (mmHg)	78.3 (7.2)	78.5 (8.4)	73.3 (4.9)*	72.5 (5.7)*	76.4 (9.2)	75.2 (6.7)
Κρεατινίνη ορού (mg/dl)	1.5 (0.6)	1.5 (0.7)	1.4 (0.6)	1.3 (0.5)	1.4 (0.6)	1.4 (0.7)
Αλβουμίνη ορού (g/dl)	3.2 (0.5)	3.4 (0.8)	3.7 (0.6)*	3.8 (0.7)*	4.0 (0.5)***	4.2(0.3)***
e-GFR (ml/min/1.73m ²)	77.6 (38.2)	76.3 (36.9)	79.3 (33.2)	79.7 (32.5)	79.1 (38.2)	79.7 (39.3)
Χοληστερόλη ορού (mg/dl)	276.7 (55.0)	258.3 (46.5)	58.8 (59.3)	236.0 (51.7)	217.7 (31.6)*	221.0 (49.0)
Τριγλυκερίδια ορού (mg/dl)	210.0 (76.2)	206.5 (123.5)	174.0 (60.5)**	179.4 (71.2)*	172.5 (115.9)	153.2 (73.7)

* 5% level, ** 1% level, *** 0.1% level

Πίνακας Β.2. Διακύμανση της πρωτεϊνουρίας 24ωρου μετά τη θεραπεία

Μήνας	Επίπεδα πρωτεϊνουρίας 24ωρου (g/24ωρο)		Ανταπόκριση	
	Πρωτεϊνουρία 24ωρου, Median (25 th , 75 th)		p value (vs. μήνα 0)	
0	6.7 (3.8, 10.4)	-	Ασθενείς (%) με μερική ύφεση	Ασθενείς (%) με πλήρη ύφεση
3	4.7 (1.7, 8.2)	0.084	-	-
6	2.6 (1.8, 6.7)	0.260	33.3%	0%
9	1.3 (0.5, 5.2)	0.033	50.0%	0%
12	0.8 (0.4, 3.5)	0.003	58.3%	0%
15	1.1 (0.4, 1.6)	0.005	68.8%	18.2%

Πίνακας Β.3. Μορφομετρική ανάλυση ιστολογικών παραμέτρων

Ιστολογικό Χαρακτηριστικό	Αριθμός ασθενών N (%)
Σφαιρική Σπειραματική σκλήρυνση	
Score	
0	4 (36.4)
1	6 (54.6)
3	1 (9.1)
Τμηματική Σπειραματική σκλήρυνση	
Score	
0	11 (100.0)
Αύξηση της Μεσαγγείου ουσίας	
Score	
0	5 (45.5)
1	2 (18.2)
2	2 (18.2)
3	2 (18.2)
Ολική Σπειραματική βλάβη	
Score	
0	6 (54.5)
1	4 (36.4)
2	0 (0.0)
3	1 (9.1)
Σωληναριακή Ατροφία	
Score	
0	4 (36.4)
1	6 (54.5)
2	1 (9.1)
Διάμεση Ινώση	
Score	
0	5 (45.5)
1	5 (45.5)
2	0 (0.0)
3	1 (9.1)
Διάμεση Φλεγμονή	
Score	
0	4 (36.4)
1	7 (63.6)

Πίνακας Β.4. Διακύμανση των Ιστοπαθολογοανατομικών χαρακτηριστικών στο δείγμα των ασθενών που έλαβαν Rituximab

Ιστολογικό χαρακτηριστικό	Median (25th, 75th)
Σφαιρική Σπειραματική σκλήρυνση	1 (0,1)
Τμηματική Σπειραματική σκλήρυνση	0 (0,0)
Αύξηση της Μεσαγγείου ουσίας	1 (0,2)
Ολική Σπειραματική βλάβη	0 (0,1)
Σωληναριακή Ατροφία	1 (0,1)
Διάμεση Ινωση	1 (0,1)
Διάμεση Φλεγμονή	1 (0,1)

Πίνακας Β.5. Κλινικοεργαστηριακές παράμετροι ως προγνωστικοί δείκτες

Κλινική/Εργαστηριακή Παράμετρος	Hazard ratio	95% CI	<i>P value</i>
Ηλικία (ανά δεκαετία)	0.69	(0.38, 1.28)	0.24
Φύλο (Θήλυ –Αρρεν)	2.32	(0.51, 10.5)	0.28
MGN στάδιο (II,III versus I, I/II)	1.74	(0.85, 3.57)	0.13
Σωματικό Βάρος (ανά 5 kg αύξησης)	0.91	(0.62, 1.33)	0.615
ΔΑΠ	0.94	(0.83, 1.08)	0.41
ΣΑΠ	0.95	(0.84, 1.06)	0.33
Αλβουμίνη ορού (ανά 0.5 g/dl αύξησης)	2.65	(1.06, 6.64)	0.037
Κρεατινίνη ορού (ανά 0.5 mg/dl αύξησης)	0.11	(0.01, 0.97)	0.047
Πρωτεΐνουρία 24ωρου (ανά 1 g/24ωρο αύξηση)	0.75	(0.56, 1)	0.05
Πρωτεΐνουρία 24ωρου (<3.5 g/24ωρο vs ≥3.5 g/24ωρο)	12.4	(1.25, 124.1)	0.03
eGFR (per 10 units of increase)	1.27	(1.01, 1.6)	0.04
Χοληστερόλη ορού (mg/dl)	1.02	(0.86, 1.22)	0.815
Τριγλυκερίδια ορού (mg/dl)	0.98	(0.89, 1.09)	0.74

Πίνακας Β.6. Ιστοπαθολογοανατομικές παράμετροι και πρόγνωση πλήρους ύφεσης

	Hazard ratio	95% CI	p value
Σφαιρική Σπειραματική Σκλήρυνση Score (1,3 vs. 0)	1.72	(0.2, 15.01)	0.62
Αύξηση Μεσαγγείου Ουσίας Score (1,2,3 vs. 0)	0.29	(0.05, 1.63)	0.16
Ολική Σπειραματική Βλάβη Score (1,3 vs. 0)	0.9	(0.18, 4.65)	0.91
Σωληναριακή Ατροφία Score (1,2 vs. 0)	6.2	(0.67, 57.4)	0.11
Διάμεση Φλεγμονή Score (1 vs. 0)	4.61	(0.52, 40.7)	0.17

Πίνακας Β.7. Μεταβολές στους απόλυτους αριθμούς των λεμφοκυττάρων στη διάρκεια της παρακολούθησης

Χαρακτηριστικά	Στην ένταξη [¶]	Στη φάση εξάλειψης των Β κυττάρων [¥]		Στην επανάκαμψη των Β κυττάρων		Τελική μέτρηση	
	median (25 th , 75 th)	median (25 th , 75 th)	p ¹	median (25 th , 75 th)	p ¹	median (25 th , 75 th)	p ¹
Λευκά αιμοσφαίρια[©]	7350 (6460, 9085)	8125 (650, 9850)	0.84	7100 (6340, 8000)	0.197	7175 (6370, 8250)	0.8
Λεμφοκύτταρα (%)	31 (20.5, 40)	25.5 (19, 35)	0.08	30 (23, 35)	0.34	28.5 (21, 36.5)	0.865
CD3*	1627 (1190, 2176)	1687 (1334, 2084)	0.5	1490 (949, 2229)	0.93	1329 (1025, 2039)	0.43
CD20*	137 (62, 270)	0 (0,0)	0.002	28 (16, 93)	0.003	40 (15, 104)	0.02
CD3-16.56+*	276 (215, 319)	301 (186, 366)	0.875	267 (138, 339)	0.575	250 (176, 321)	0.95
CD3+16.56+*	84 (57, 193)	94 (49, 151)	0.64	221 (52, 304)	0.09	113 (56, 251)	0.79
CD4*	859 (669, 1187)	1020 (650, 1303)	1	765 (480, 1108)	0.965	822 (509, 1159)	0.845
CD8*	684 (410, 1091)	761 (425, 942)	0.56	659 (342, 1088)	0.86	637 (457, 798)	0.27
CD4+DR+*	54 (38, 135)	89 (48, 127)	0.46	119 (14, 187)	0.27	107 (33, 200)	0.89
CD+69+*	52 (24, 67)	30 (23, 63)	0.586	55 (24, 62)	0.35	61 (14, 107)	0.79
CD+25+*	356 (167, 82)	349 (157, 545)	0.87	452 (363, 775)	0.345	492 (56, 672)	0.92
CD+154+*	0 (0, 3)	1 (0, 22)	0.83	0 (0, 28)	0.32	0 (0, 0)	0.2
CD4-25+*	69 (62, 78)	57 (16, 89)	1	57 (24, 83)	0.5	123 (56, 130)	0.07

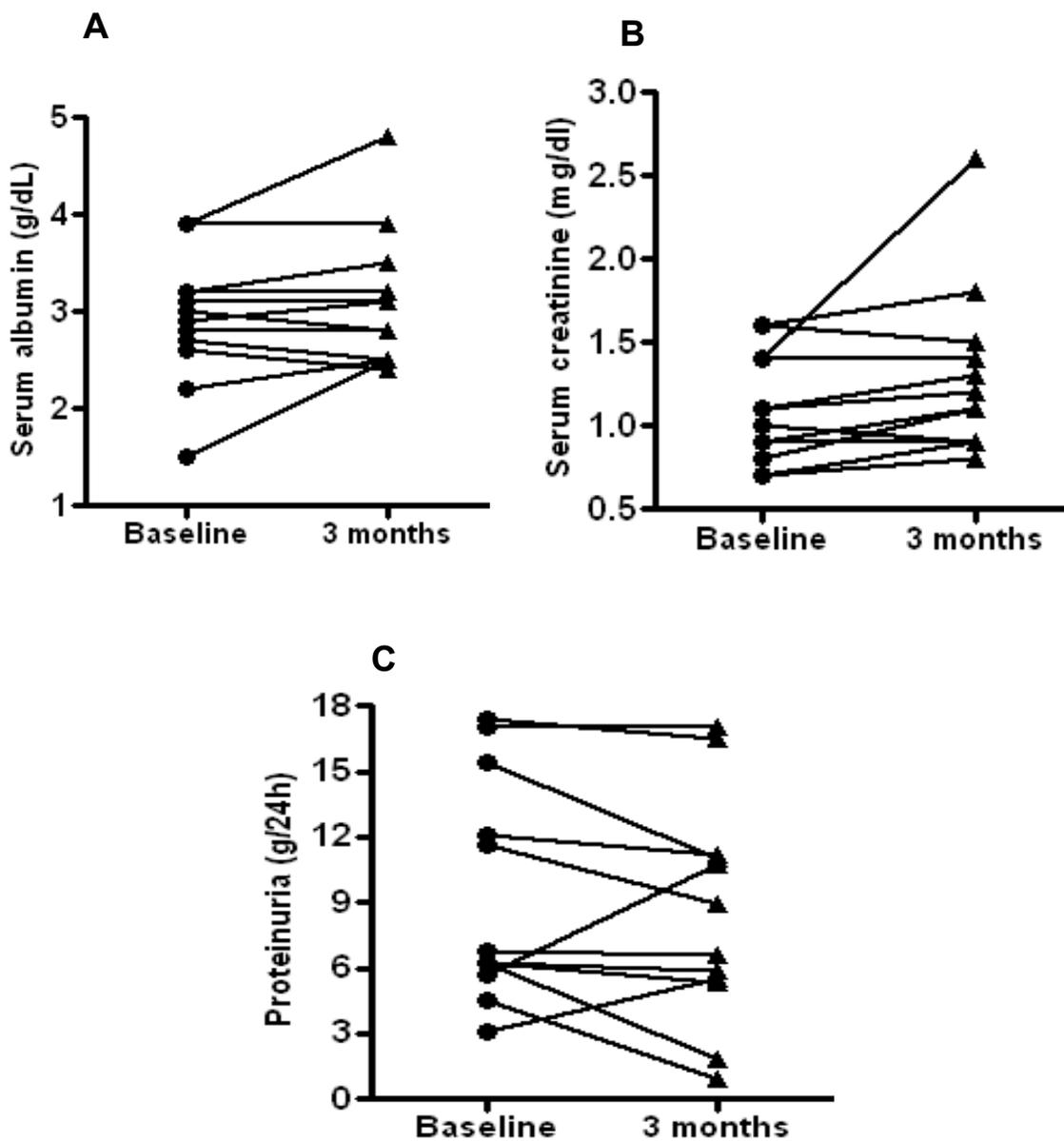
[¶] προ χορηγήσεως του Rituximab

[¥] CD-20 κύτταρα = 0

[©] ολικός αριθμός λευκών αιμοσφαιρίων

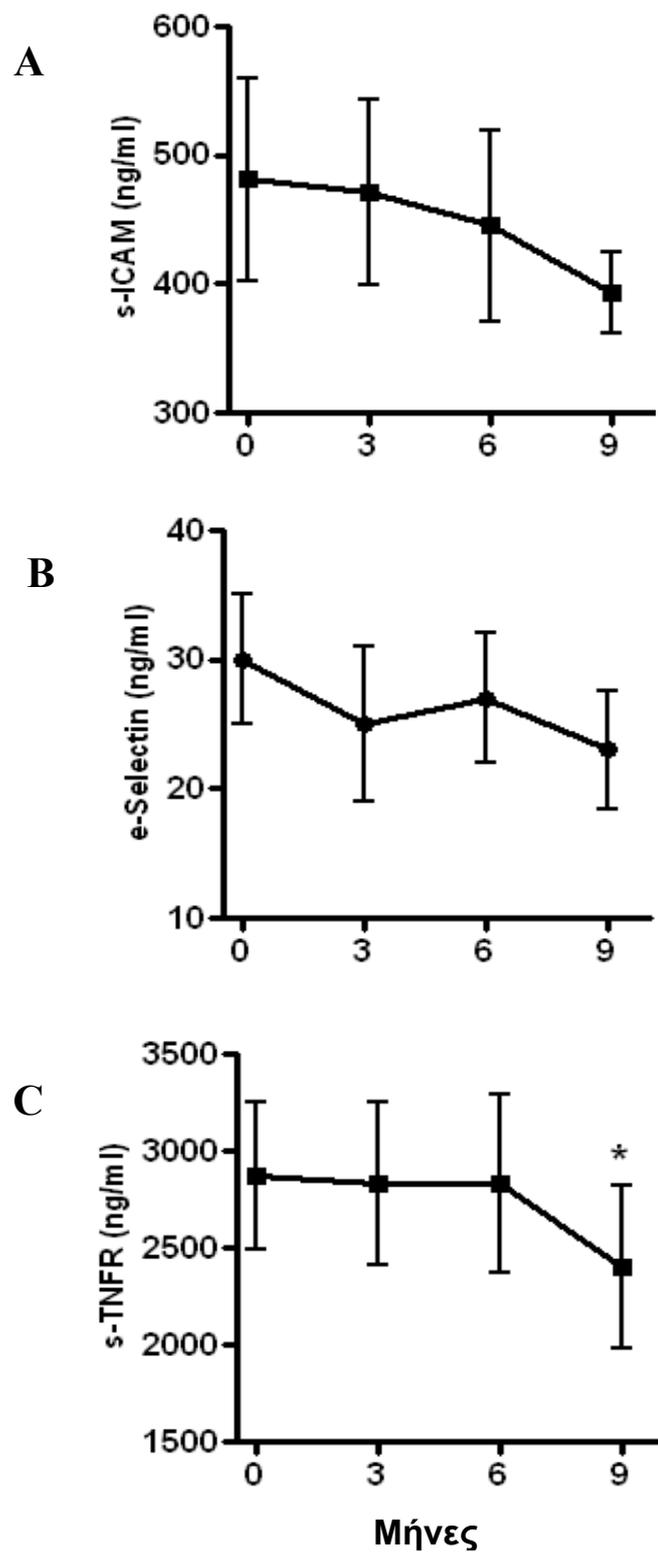
* απόλυτος αριθμός

Z. Διαγράμματα

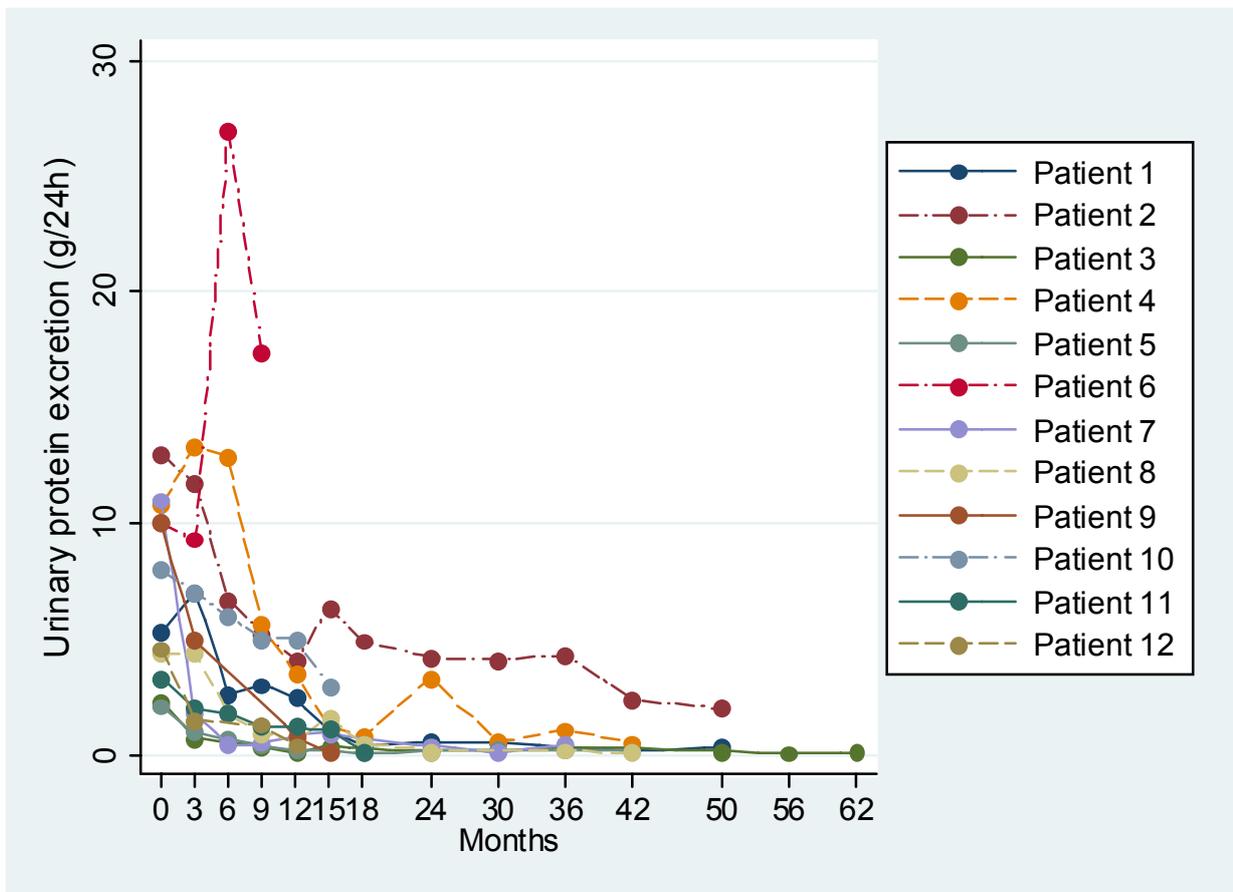


Σχήμα A.1.

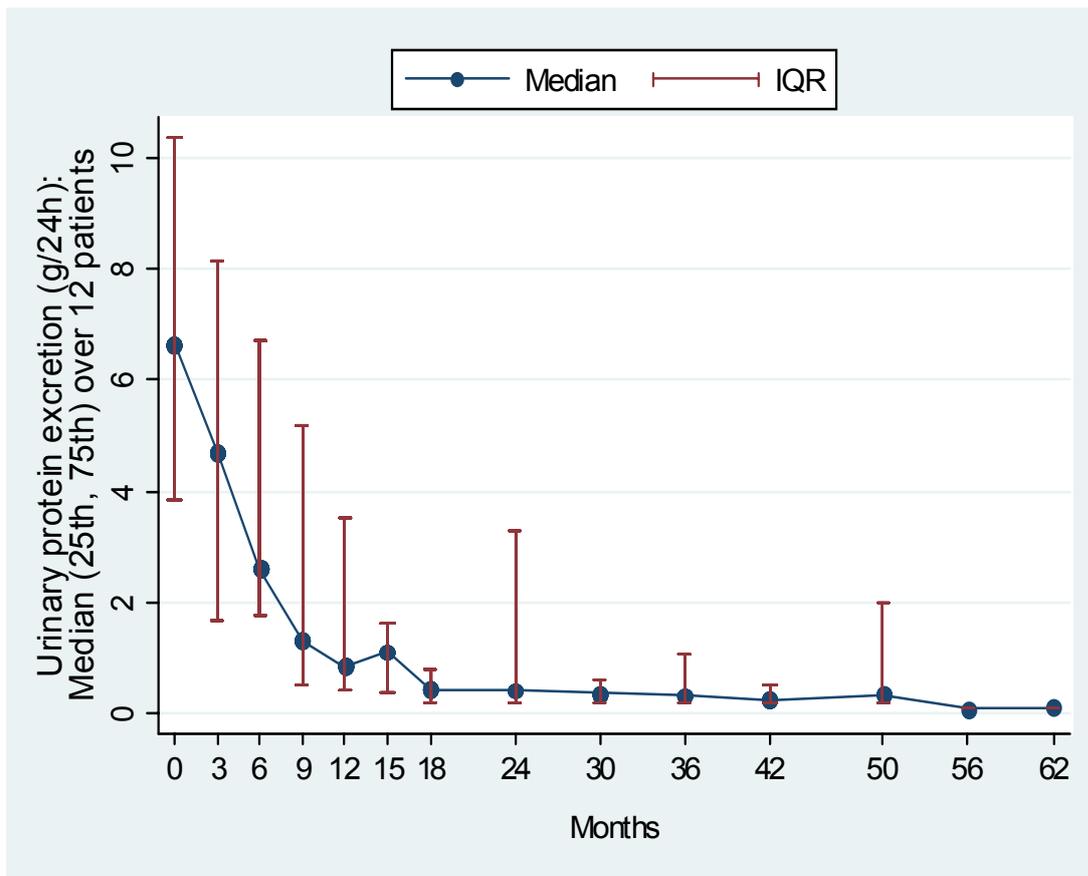
Επίδραση της θεραπείας με Etarnecept στην πρωτεϊνουρία (A), στη συγκέντρωση της αλβουμίνης του ορού (B), και την κρεατινίνη του ορού (C) σε ασθενείς με ιδιοπαθή MN. Στους 3 μήνες καταγράψαμε πλήρη σε 2 από τους 12 ασθενείς ενώ οι υπόλοιποι είχαν μη σημαντική μεταβολή στην πρωτεϊνουρία. Η θεραπεία με ET συνεχίστηκε στους ανταποκριτές για 3 επιπλέον μήνες ενώ διεκόπη στους υπόλοιπους σύμφωνα με το πρωτόκολλο. Οι δύο ανταποκριτές βρίσκονται ακόμη σε ύφεση μετά από 4 και πλέον έτη παρακολούθησης.



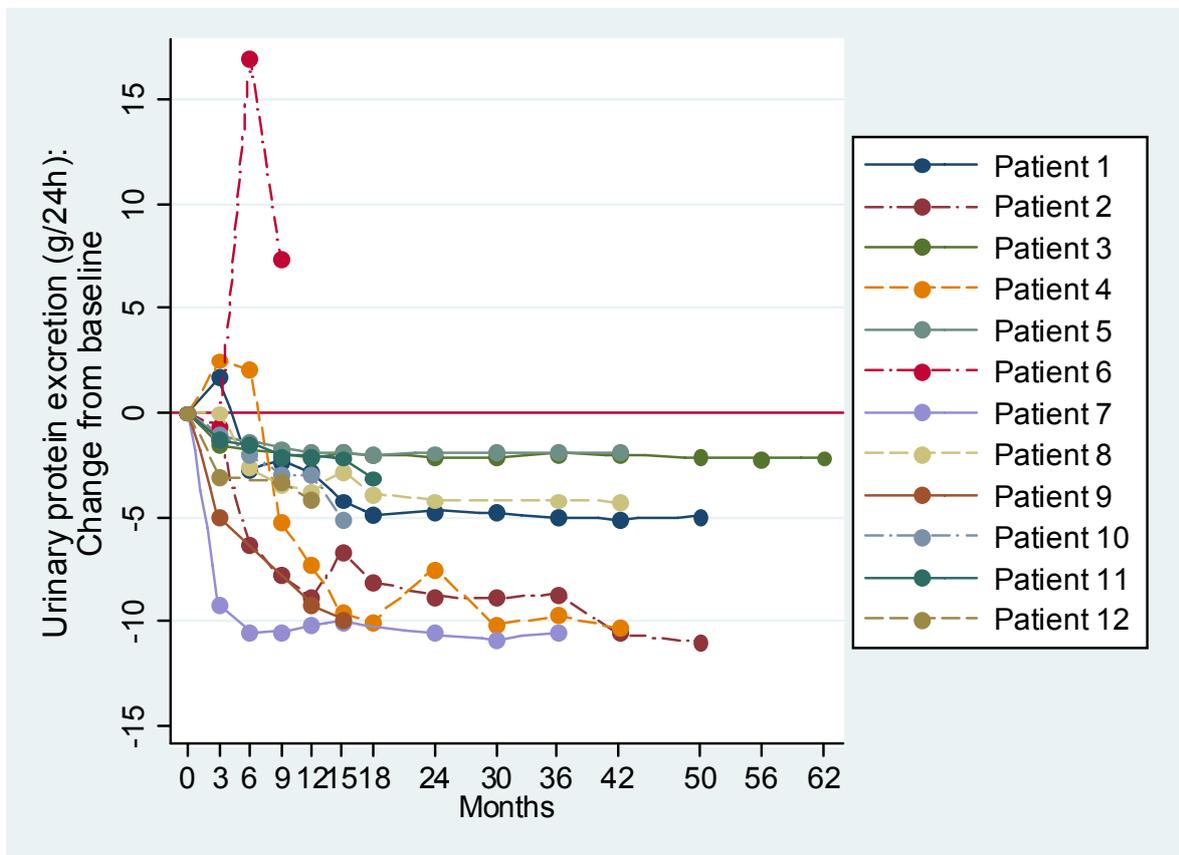
Σχήμα Α.2: Μεταβολές στα διαλυτά μόρια ICAM (Α), E-selectin (Β), και TNF-receptor (C) μετά τη θεραπεία με Etanercept στους ασθενείς με Ιδιοπαθή ΜΝ. Τα επίπεδα των μορίων αυτών καθορίστηκαν με ELISA στις συγκεκριμένες χρονικές στιγμές. Ο αστερίσκος (*) υποδηλώνει στατιστικά σημαντική διαφορά από την τιμή εκκίνησης (baseline, t=0).



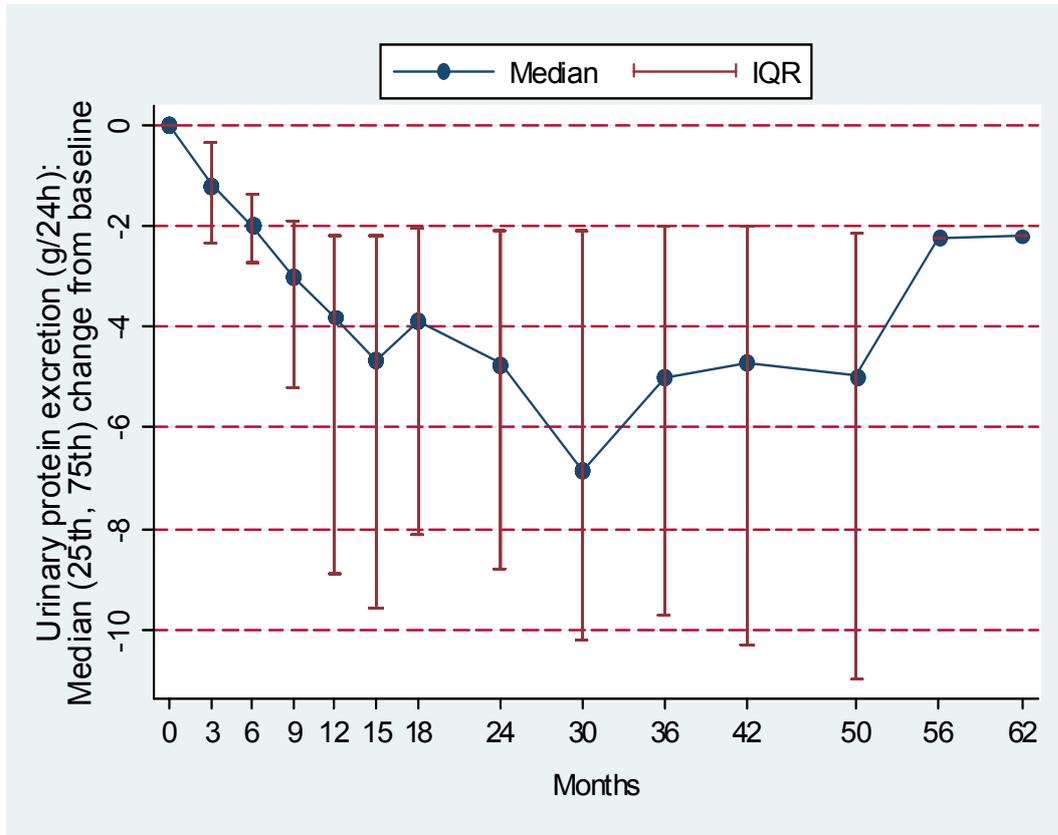
Σχήμα Β.1 Μεταβολή της πρωτεϊνουρίας 24ωρου για τους 12 ασθενείς κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης.



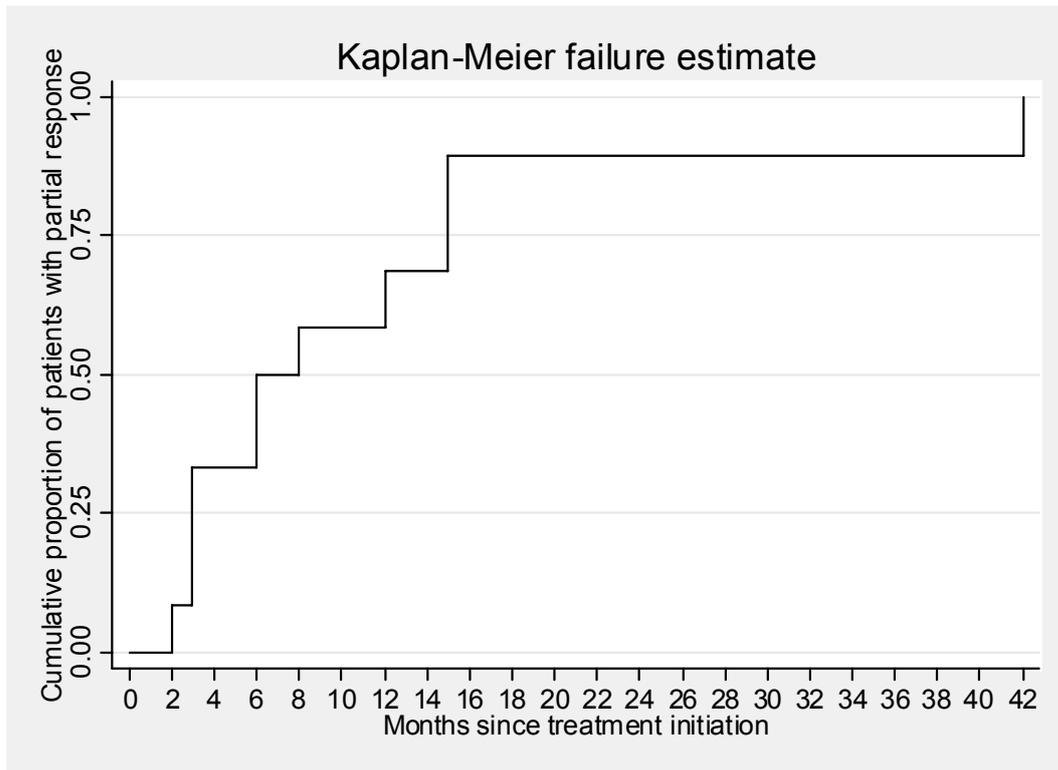
Σχήμα Β.2 Διάμεση πρωτεϊνουρία 24ωρου Median (25th 75th) για τους 12 ασθενείς



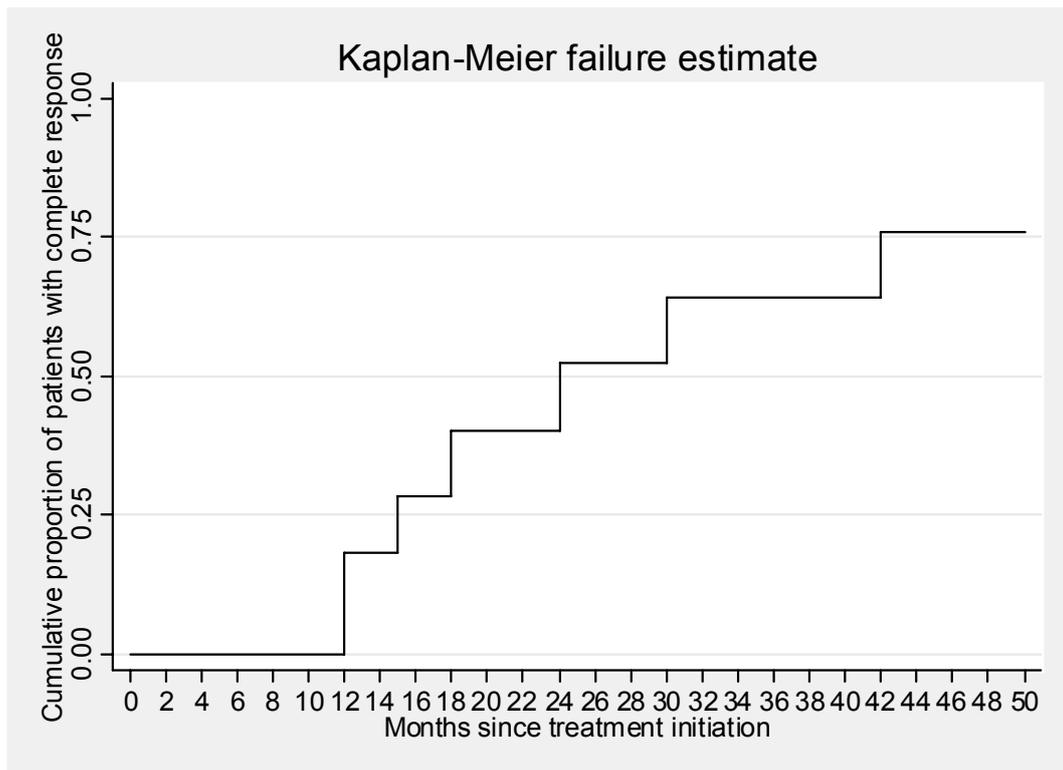
Σχήμα Β.3 Σχετική μεταβολή της πρωτεϊνουρίας 24ωρου από τη βασική τιμή για κάθε ασθενή.



Σχήμα Β.4. Διάμεση μεταβολή πρωτεϊνουρίας σε σχέση με τη τιμή ένταξης για το σύνολο των 12 ασθενών.



Σχήμα Β.5. Καμπύλες Kaplan-Meier για την εκτίμηση της διαμέσου τιμής και του εύρους διακύμανσης [median (25th, 75th)] του χρόνου που μεσολάβησε για την επίτευξη μερικής ύφεσης από την θεραπεία: 6 (3, 15) μήνες
50% των ασθενών είχαν μερική ύφεση 6 μήνες μετά τη θεραπεία. 25% και 75% των ασθενών είχαν μερική ύφεση 3 & 15 μήνες μετά τη θεραπεία αντίστοιχα



Σχήμα Β.6. Καμπύλες Kaplan-Meier για την εκτίμηση της διαμέσου τιμής και του εύρους διακύμανσης [median (25th, 75th)] του χρόνου που μεσολάβησε για την επίτευξη πλήρους ύφεσης από την θεραπεία: 24 (15,42) μήνες
 50% των ασθενών είχαν πλήρη ύφεση 24 μήνες μετά τη θεραπεία. 25% & 75% των ασθενών είχαν πλήρη ύφεση 15 & 42 μήνες μετά τη θεραπεία αντίστοιχα.

Η. Βιβλιογραφία

1. Couser WG, Abrass CK. Pathogenesis of membranous nephropathy. *Annu Rev Med.* 1988;39:517-30.
2. Jennette JC, Thomas, DB. Membranous glomerulonephritis. In *Heptinstall's Pathology of the Kidney*. J. C. Jennette, J. L. Olson, M. M. Schwartz, and F. G. Silva, eds. Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia, 2007; pp. 205-251.
3. Glassock RJ. Diagnosis and natural course of membranous nephropathy. *Semin Nephrol.* 2003 Jul;23(4):324-32.
4. Beck LH Jr, Bonegio RG, Lambeau et al. M-type phospholipase A2 receptor as target antigen in idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med.* 2009 Jul 2;361(1):11-21.
5. Cybulsky AV, Quigg RJ, Salant DJ. The membrane attack complex in complement-mediated glomerular epithelial cell injury: formation and stability of C5b-9 and C5b-7 in rat membranous nephropathy. *J Immunol.* 1986; Sep 1;137(5):1511-6.
6. Cybulsky AV, Lieberthal W, Quigg RJ, et al. A role for thromboxane in complement-mediated glomerular injury. *Am J Pathol.* 1987;128(1):45-51.
7. Cybulsky AV, Salant DJ, Quigg RJ, et al. Complement C5b-9 complex activates phospholipases in glomerular epithelial cells. *Am J Physiol.* 1989;257(5 Pt 2):F826-36.
8. Papadakis KA, Targan SR. Tumor necrosis factor: biology and therapeutic inhibitors. *Gastroenterology.* 2000;119(4):1148
9. Kacprzyk F, Chrzanowski W. Tumor necrosis factor (TNF) and interleukin-6 (IL-6) in patients with glomerulonephritis. *Pol Arch Med Wewn.* 1996; 96(3):224-33.
10. Egido J et al. Role of tumor necrosis factor- α in the pathogenesis of glomerular diseases. *Kidney Int.* Vol. 43, Suppl.39 9.1993; pp.S 59-64.
11. Laurent Baud, Raymond Ardaillou. Tumor necrosis factor alpha in glomerular injury. *Kidney Int.* Vol.45 (1994) pp. S32-36.
12. Rama P, Babu B, Kirschenbaum MA et al. TNF- α stimulates monocyte adhesion to glomerular mesangial cells. The role of intercellular adhesion molecule-1 gene expression and protein kinases. *J Immunol* 1996; 156: 2571-2579
13. Baud L, Fouqueray B, Philippe. Glomerular expression of tumor necrosis factor alpha (TNF- α) and of its receptors. *C R Seances Soc Biol Fil.* 1993;187(4):434-9.

14. Donadio K.K, Shames BD, Harken AH, et al. The role of tumor necrosis factor in renal ischemia-reperfusion injury. *The Journal OF Urology*, 1999; Vol 162, 196-203.
15. Ozen S, Saatci U, Tinaztepe K et al. Urinary tumor necrosis factor levels in primary glomerulopathies. *Nephron*.1994;66(3):291-4.
16. Bull RL, Julian BA, Jackson S. Late expression of tumor necrosis factor-alpha is markedly depressed in patients with IgA nephropathy. *Immunol Invest*. 1998; 27(4-5):243-55.
17. Honkanen E, Teppo AM, Meri S et al. Urinary excretion of cytokines and complement C5b-9 in idiopathic membranous glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant* 1994; 9(11): 1553-9
18. Suranyi MG, Myers BD et al; Elevated levels of tumor necrosis -a in the nephrotic syndrome in humans. *Am. Journal of kidney disease*, Vol 21, No 3 1993: pp251-259.
19. Neale TJ, Ruger BM, Macaulay H et al. Tumor necrosis factor-alpha is expressed by glomerular visceral epithelial cells in human membranous nephropathy. *Am J Pathol* 1995; 146(6): 1444-54
20. Matsumoto K. et al: Increased release of tumor necrosis factor-a by monocytes from patients with glomerulonephritis. *Clinical Nephrology*, Vol. 40 No3-1993 (148-154).
21. Honkanen R, von Willebrand E, Teppo AM et al. Adhesion molecules and urinary tumor necrosis factor-alpha in idiopathic membranous glomerulonephritis. *Kidney Int* 1998; 53(4): 909-17
22. David C, Kluth and Andrew J. Rees. Inhibitng inflammatory cytokines. *Sem Nephrol* 1996; 16: 576-582
23. Marques LJ, Zheng L, Poulakis N, et al: Pentoxifylline inhibits TNF-a production from human alveolar macrophages. *Am J Respir Crit Care Med* 159;508-511, 1999.
24. Moller DR, Wysocka M, Greenlee BM, et al: Inhibition of human interleukine-12 production by pentoxifylline. *Immunology*, 1997; 91: 197-203.
25. Lauterbach R, Zembala M: Pentoxifylline reduces plasma tumor necrosis-alpha concentration in premature infants with sepsis. *Eur J Pediatr*, 1996; 155: 404-409.
26. Mandi Y, Farkas G, Ocsovszky I, et al. Inhibition of tumor necrosis factor production and ICAM-1 expression by pentoxiyliline: Beneficial effects in sepsis syndrome. *Res Exp Med (Berl)* 1995; 195: 297-307.
27. Mandell GL: cytokines, phagokytes and pentoxifylline. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995; 25: S20-S22, (Suppl 2).

28. Navarro JF, Mora-Fernández C. The role of TNF-alpha in diabetic nephropathy: pathogenic and therapeutic implications. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2006; 17(6):441-50.
29. Ducloux D, Bresson-Vautrin C, Chalopin J. Use of pentoxifylline in membranous nephropathy. *Lancet.* 2001; 26;357(9269):1672-3
30. Biancone L, Andres G, Ahn H, et al. Inhibition of the CD40-CD40ligand pathway prevents murine membranous glomerulonephritis. *Kidney Int.* 1995;48(2):458-68.
31. Zucchelli P, Ponticelli C, Cagnoli L et al. Prognostic value of T lymphocyte subset ratio in idiopathic membranous nephropathy. *Am J Nephrol.* 1988;8(1):15-20.
32. Coggins CH. Is membranous nephropathy treatable? *Am J Nephrol.* 1981;1(3-4):219-21.
33. Honkanen E, Törnroth T, Grönhagen-Riska C. Natural history, clinical course and morphological evolution of membranous nephropathy. *Nephrol Dial Transplant.* 1992;7 Suppl 1:35-41.
34. Schieppati A, Mosconi L, Perna A, et al. Prognosis of untreated patients with idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med.* 1993; 8;329(2):85-9.
35. Cattran C Daniel: Idiopathic membranous glomerulonephritis. *Kidney Int, Vol 59.* pp. 1983-1994.
36. Cattran D. Management of membranous nephropathy: when and what for treatment. *J Am Soc Nephrol.* 2005;16(5):1188-94.
37. Hogan SL, Muller KE, Jennette JC et al. A review of therapeutic studies of idiopathic membranous glomerulopathy. *Am J Kidney Dis* 1995; 25: 862-75
38. Short CD, Durrington PN, Mallick NP et al. Serum lipoprotein (a) in men with proteinuria due to idiopathic membranous nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 1992; 7 Suppl 1: 109-13
39. Cattran DC, Pei Y, Greenwood CM, et al. Validation of a predictive model of idiopathic membranous nephropathy: its clinical and research implications. *Kidney Int.* 1997;51(3):901-7.
40. Cattran D. Predicting outcome in the idiopathic glomerulopathies. *J Nephrol.* 1998;11(2):57-60.
41. Ruggenti P, Mosconi L, Vendramin G, et al: ACE inhibition improves glomerular size selectivity in patients with idiopathic membranous nephropathy and persistent nephrotic syndrome *Am J Kidney Dis*, 2000; 35: 381-391.

42. Campell R, Sangali F, Perticucci E, et al; Effects of combined ACE inhibitor and angiotensin II antagonist treatment in human chronic nephropathies. *Kidney Int*, 2003 ;63 1094-103.
43. Remuzzi G, Schieppati A, Ruggeneti P. Noimmunosuppressive Therapy of Membranous Nephropathy. *Seminars in nephrology* Vol 23, No4,,2003; pp:333-339.
44. Donker AJ, Brentjens JR, van der Hem GK, Arisz L. Treatment of the nephrotic syndrome with indomethacin. *Nephron*. 1978;22(4-6):374-81.
45. Ordonez JD, Hiatt RA, Killebrew KJ et al. The increased risk of coronary heart disease associated with nephrotic syndrome. *Kidney Int* 1993; 44: 638-642
46. Nicholas T, Radhakrishnan J, Appel G. Hyperlipidemia and Thrombotic Complications in Patients With Membranous Nephropathy. *Seminars in nephrology* Vol 23, No 4, 2003; pp406-411.
47. Cameron JS: Complications of the nephrotic syndrome, Cameron JS, Glassock RJ, (eds): *The Nephrotic Syndrome* New York, Marcel Dekker,1988, pp 849-870.
48. Glassock RJ. Prophylactic anticoagulation in nephrotic syndrome: a clinical conundrum. *J Am Soc Nephrol*. 2007;18(8):2221-5.
49. Cattran DC. Delmore T, Roscoe J, et al: A randomized controlled trial of prednisone in patients with idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med* 320:8-13,1989
50. Ponticelli C, Zuccheli P, Imbasciati E, et al: Controlled trial of methylprednisolone and chlorambucil in idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med*, 1984; 310:946-950.
51. Ponticelli C, Zuccheli P, Passerini P, et al: A randomized trial of methylprednisolone and chlorambucil in idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med*, 1989; 320:8-13.
52. Ponticelli C, Zuccchelli P, Passerini P et al: Methylprednisolone plus chlorambucil as compared with methylprednisolone alone for the treatment of idiopathic membranous nephropathy. The Italian Idiopathic Membranous Nephropathy Treatment Study Group. *N Engl J Med* 1992; 327:599-603
53. Passerini P, Ponticelli C. Corticosteroids, cyclophosphamide, and chlorambucil therapy of membranous nephropathy. *Semin Nephrol*. 2003 Jul;23(4):355-61.

54. Ponticelli C, Altieri P, Scolari F, et al: A randomized study comparing methylprednisolone plus chlorambucil versus methylprednisolone plus cyclophosphamide in idiopathic membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol*, 1998; 9: 444-450.
55. Tiller DJ: A prospective randomized trial in the use of cyclophosphamide, dipyridamole and warfarin in membranous and mesangiocapillary glomerulonephritis: Proceedings of 8th International Congress of Nephrology. University Studio and Karger , Thessaloniki, Greece AND Basel, Switzerland 1981; pp345-354.
56. Alexopoulos E, Papagianni A, Tsamelashvili M et al. Induction and long-term treatment with cyclosporine in membranous nephropathy with the nephrotic syndrome. *Nephrol Dial Transplant*. 2006 Nov;21(11):3127-32.
57. Cattran DC, Greenwood C, Ritchie S, et al: A controlled trial of cyclosporine in patients with progressive membranous nephropathy. Canadian Glomerulonephritis Study Group. *Kidney Int*, 1995; 47: 1130-1135.
58. Goumenos DS. What have we learned from the use of ciclosporin A in the treatment of nephrotic patients with idiopathic membranous nephropathy? *Expert Opin Pharmacother*. 2008 Jul;9(10):1695-704.
59. Goumenos DS, Katopodis KP, Siamopoulos KC et al. Corticosteroids and ciclosporin A in idiopathic membranous nephropathy: higher remission rates of nephrotic syndrome and less adverse reactions than after traditional treatment with cytotoxic drugs. *Am J Nephrol*. 2007;27(3):226-31.
60. Goumenos DS, Kalliakmani P, Tsakas S et al. Cyclosporin-A in the treatment of nephrotic syndrome: the importance of monitoring C0 (trough) and C2 (two hours after its administration) blood levels. *Med Chem*. 2006 Jul;2(4):391-3.
61. Goumenos DS, Kalliakmani P, Tsakas et al. The remission of nephrotic syndrome with cyclosporin treatment does not attenuate the progression of idiopathic membranous nephropathy. *Clin Nephrol*. 2004 Jan;61(1):17-24.
62. Dussol B, Morange S, Burtey S, et al. Mycophenolate mofetil monotherapy in membranous nephropathy: a 1-year randomized controlled trial. *Am J Kidney Dis*. 2008;52(4):699-705.
63. Branten AJ, du Buf-Vereijken PW, Vervloet M, et al. Mycophenolate mofetil in idiopathic membranous nephropathy: a clinical trial with comparison to a historic control group treated with cyclophosphamide. *Am J Kidney Dis*. 2007;50 (2):248-56.
64. Chan TM, Lin AW, Tang SC, et al. Prospective controlled study on mycophenolate mofetil and prednisolone in the treatment of membranous nephropathy with nephrotic syndrome. *Nephrology (Carlton)*.2007;12(6):576-81.

65. Remuzzi G et al: Rituximab for idiopathic membranous nephropathy. *Lancet*. 2002; 360(9337): 923-4.
66. Ahmed MS, Wong CF. Rituximab and nephrotic syndrome: a new therapeutic hope? *Nephrol Dial Transplant*. 2008;23(1):11-7.
67. Sfikakis PP, Boletis JN, Lionaki S et al. Remission of proliferative lupus nephritis following B cell depletion therapy is preceded by down-regulation of the T cell costimulatory molecule CD40 ligand: an open-label trial. *Arthritis Rheum*. 2005;52(2):501-13.
68. Bomback AS, Derebail VK, McGregor JG et al. Rituximab Therapy for Membranous Nephropathy: A Systematic Review. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2009; 4(4):734-44.
69. Bantis C, Heering PJ, Aker S et al. Tumor necrosis factor-alpha gene G-308A polymorphism is a risk factor for the development of membranous glomerulonephritis. *Am J Nephrol*. 2006;26(1):12-5.
70. Thibaudin D, Thibaudin L, Berthoux P et al. TNFA2 and d2 alleles of the tumor necrosis factor alpha gene polymorphism are associated with onset/occurrence of idiopathic membranous nephropathy. *Kidney Int*. 2007;71(5):431-7.
71. Lipsky PE, van der Heijde DM, St Clair EW, et al; Anti-Tumor Necrosis Factor Trial in Rheumatoid Arthritis with Concomitant Therapy Study Group. Infliximab and methotrexate in the treatment of rheumatoid arthritis. Anti-Tumor Necrosis Factor Trial in Rheumatoid Arthritis with Concomitant Therapy Study Group. *N Engl J Med*. 2000;343(22):1594-602.
72. Nakajima M, Kawahara S, Sakagami Y et al. Immunogold labelling of cytokines in glomeruli in children with various renal diseases. *Nephron*. 1999;83(2):132-8.
73. Ihm CG, Park JK, Hong SP, et al. Circulating factors in sera or peripheral blood mononuclear cells in patients with membranous nephropathy or diabetic nephropathy. *J Korean Med Sci*. 1997;12(6):539-44.
74. Bustos C, González E, Muley R, et al. Increase of tumour necrosis factor alpha synthesis and gene expression in peripheral blood mononuclear cells of children with idiopathic nephrotic syndrome. *Eur J Clin Invest*. 1994;24(12):799-805.
75. Huugen D, Cohen Tervaert JW, Heeringa P. TNF-alpha bioactivity-inhibiting therapy in ANCA-associated vasculitis: clinical and experimental considerations. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2006;1(5):1100-7.
76. Karkar AM, Smith J, Pusey CD. Prevention and treatment of experimental crescentic glomerulonephritis by blocking tumour necrosis factor-alpha. *Nephrol Dial Transplant*. 2001;16(3):518-24.

77. Lovell DJ, Ruperto N, Goodman S, et al; Pediatric Rheumatology Collaborative Study Group; Pediatric Rheumatology International Trials Organisation. Adalimumab with or without methotrexate in juvenile rheumatoid arthritis. *N Engl J Med.* 2008;359(8):810-20.
78. Bathon JM, Martin RW, Fleischmann RM, et al. A comparison of etanercept and methotrexate in patients with early rheumatoid arthritis. *N Engl J Med.* 2000;343(22):1586-93.
79. St Clair EW, van der Heijde DM, Smolen JS, et al. Active-Controlled Study of Patients Receiving Infliximab for the Treatment of Rheumatoid Arthritis of Early Onset Study Group. Combination of infliximab and methotrexate therapy for early rheumatoid arthritis: a randomized, controlled trial. *Arthritis Rheum.* 2004;50(11):3432-43.
80. Targan SR, Hanauer SB, van Deventer SJ, et al. A short-term study of chimeric monoclonal antibody cA2 to tumor necrosis factor alpha for Crohn's disease. Crohn's Disease cA2 Study Group. *N Engl J Med.* 1997;337(15):1029-35.
81. Gorman JD, Sack KE, Davis JC Jr. Treatment of ankylosing spondylitis by inhibition of tumor necrosis factor alpha. *N Engl J Med.* 2002; 346(18):1349-56.
82. Alwawi EA, Mehlis SL, Gordon KB. Treating psoriasis with adalimumab. *Ther Clin Risk Manag.* 2008;4(2):345-51.
83. Hochberg MC, Tracy JK, Hawkins-Holt M, et al. Comparison of the efficacy of the tumour necrosis factor alpha blocking agents adalimumab, etanercept, and infliximab when added to methotrexate in patients with active rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2003;62 Suppl 2:ii13-6
84. Sandborn WJ, Hanauer SB, Katz S, et al. Etanercept for active Crohn's disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterology.* 2001;121(5):1088-94
85. Lamprecht P, Voswinkel J, Lilienthal T, et al. Effectiveness of TNF-alpha blockade with infliximab in refractory Wegener's granulomatosis. *Rheumatology (Oxford).* 2002;41(11):1303-7.
86. Booth A, Harper L, Hammad T, Bacon P, et al. Prospective study of TNF alpha blockade with infliximab in anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated systemic vasculitis. *J Am Soc Nephrol.* 2004;15(3):717-21.
87. Wegener's Granulomatosis Etanercept Trial (WGET) Research Group. Etanercept plus standard therapy for Wegener's granulomatosis. *N Engl J Med.* 2005;352(4):351-61.

88. Scallon B, Cai A, Solowski N, et al. Binding and functional comparisons of two types of tumor necrosis factor antagonists. *J Pharmacol Exp Ther.* 2002;301(2):418-26.
89. Mitoma H, Horiuchi T, Hatta N, et al. Infliximab induces potent anti-inflammatory responses by outside-to-inside signals through transmembrane TNF-alpha. *Gastroenterology.* 2005;128(2):376-92
90. Van den Brande JM, Braat H, van den Brink GR et al. Infliximab but not etanercept induces apoptosis in lamina propria T-lymphocytes from patients with Crohn's disease. *Gastroenterology.* 2003;124(7):1774-85.
91. Agnholt J, Dahlerup JF, Kaltoft K. The effect of etanercept and infliximab on the production of tumour necrosis factor alpha, interferon-gamma and GM-CSF in in vivo activated intestinal T lymphocyte cultures. *Cytokine.* 2003;23(3):76-85.
92. Kirchner S, Holler E, Haffner S, et al. Effect of different tumor necrosis factor (TNF) reactive agents on reverse signaling of membrane integrated TNF in monocytes. *Cytokine.* 2004;28(2):67-74.
93. Nestorov I. Clinical pharmacokinetics of TNF antagonists: how do they differ? *Semin Arthritis Rheum.* 2005;34(5 Suppl1):12-8.
94. Munro JM, Pober JS, Cotran RS. Tumor necrosis factor and interferon-gamma induce distinct patterns of endothelial activation and associated leukocyte accumulation in skin of *Papio anubis*. *Am J Pathol.* 1989;135(1):121-33.
95. Neuner P, Klosner G, Pourmojib M, et al. Pentoxifylline in vivo and in vitro down-regulates the expression of the intercellular adhesion molecule-1 in monocytes. *Immunology.* 1997;90(3):435-9.
96. Krakauer T, Stiles BG. Pentoxifylline inhibits superantigen-induced toxic shock and cytokine release. *Clin Diagn Lab Immunol.* 1999;6(4):594-8.
97. Domínguez-Jiménez C, Sancho D, Nieto M et al. Effect of pentoxifylline on polarization and migration of human leukocytes. *J Leukoc Biol.* 2002;71(4):588-96.
98. Abe Y, Gatanaga M, Osuka Y et al., Role of 55- and 75-kDa tumor necrosis factor membrane receptors in the regulation of intercellular adhesion molecules-1 expression by HL-60 human promyelocytic leukemia cells in vitro. *J Immunol.* 1993;150(11):5070-9.
99. Navarro JF, Mora C, Rivero A et al Urinary protein excretion and serum tumor necrosis factor in diabetic patients with advanced renal failure: effects of pentoxifylline administration. *Am J Kidney Dis.* 1999;33(3):458-63.

100. Ambrus JL Jr, Chesky L, Stephany D, et al. Functional studies examining the subpopulation of human B lymphocytes responding to high molecular weight B cell growth factor. *J Immunol.* 1990;145(12):3949-55.
101. McCarthy PL. Down-regulation of cytokine action. *Baillieres Clin Haematol.* 1994;7(1):153-77.
102. Lin SL, Chen YM, Chiang WC, et al. Pentoxifylline: a potential therapy for chronic kidney disease. *Nephrology.* 2004;9(4):198-204.
103. Chen YM, Ng YY, Lin SL, et al. Pentoxifylline suppresses renal tumour necrosis factor-alpha and ameliorates experimental crescentic glomerulonephritis in rats. *Nephrol Dial Transplant.* 2004;19(5):1106-15.
104. Ikuta S, Kirby JA, Shenton BK, et al. Human endothelial cells: effect of TNF-alpha on peripheral blood mononuclear cell adhesion. *Immunology.* 1991;73(1):71-6.
105. Strieter RM, Kunkel SL, Showell HJ, et al. Monokine-induced gene expression of a human endothelial cell-derived neutrophil chemotactic factor. *Biochem Biophys Res Commun.* 1988;156(3):1340-5.
106. Criswell LA, Lum RF, Turner KN et al. The influence of genetic variation in the HLA-DRB1 and LTA-TNF regions on the response to treatment of early rheumatoid arthritis with methotrexate or etanercept. *Arthritis Rheum.* 2004;50(9):2750-6.
107. Drewe E, McDermott EM, Powell RJ. Treatment of the nephrotic syndrome with etanercept in patients with TRAPS. *N Engl J Med* 2000;343:1044-5.
108. Aringer M, Graninger WB, Steiner G, et al. Safety and efficacy of tumor necrosis factor alpha blockade in systemic lupus erythematosus: an open-label study. *Arthritis Rheum.* 2004;50(10):3161-9.
109. Navarro JF, Mora-Fernández C. The role of TNF-alpha in diabetic nephropathy: pathogenic and therapeutic implications. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2006; 17(6):441-50.
110. Kshirsagar AV, Nachman PH, Falk RJ. Alternative therapies and future intervention for treatment of membranous nephropathy. *Semin Nephrol.* 2003;23(4):362-72.
111. Wu TH, Tsai CY, Yang WC. Excessive expression of the tumor necrosis factor-alpha gene in the kidneys of patients with membranous glomerulonephritis. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 1998;61(9):524-30.
112. Ruggenenti P, Chiurciu C, Brusegan V, et al. Rituximab in idiopathic membranous nephropathy: a one-year prospective study. *J Am Soc Nephrol.* 2003;14(7):1851-7.

113. Fervenza FC, Cosio FG, Erickson SB, et al. Rituximab treatment of idiopathic membranous nephropathy. *Kidney Int.* 2008;73(1):117-25.
114. Ruggenenti P, Cravedi P, Sghirlanzoni MC, et al. Effects of rituximab on morphofunctional abnormalities of membranous glomerulopathy. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2008;3(6):1652-9.
115. Ruggenenti P, Chiurciu C, Abbate M, et al. Rituximab for idiopathic membranous nephropathy: who can benefit? *Clin J Am Soc Nephrol.* 2006;1(4):738-48.
116. Troyanov S, Roasio L, Pandes M, et al. Renal pathology in idiopathic membranous nephropathy: a new perspective. *Kidney Int.* 2006; 69(9):1641-8.
117. Troyanov S, Wall CA, Miller JA, et al; Toronto Glomerulonephritis Registry Group. Idiopathic membranous nephropathy: definition and relevance of a partial remission. *Kidney Int.* 2004;66(3):1199-205.
118. Kerjaschki D, Neale TJ. Molecular mechanisms of glomerular injury in rat experimental membranous nephropathy (Heymann nephritis). *J Am Soc Nephrol.* 1996;7(12):2518-26.
119. Cybulsky AV, Quigg RJ, Salant DJ. Experimental membranous nephropathy redux. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2005;289(4):F660-71.
120. Cohen CD, Calvaresi N, Armelloni S, et al. CD20-positive infiltrates in human membranous glomerulonephritis. *J Nephrol.* 2005;18(3):328-33.
121. Ruggenenti P, Cravedi P, Remuzzi G. Latest treatment strategies for membranous nephropathy. *Expert Opin Pharmacother.* 2007;8(18):3159-71
122. Cravedi P, Ruggenenti P, Sghirlanzoni MC, et al. Titrating rituximab to circulating B cells to optimize lymphocytolytic therapy in idiopathic membranous nephropathy. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2007;2(5):932-7.
123. Beimler JH, Andrassy K (2004) Cyclophosphamide treatment in systemic necrotizing vasculitis and lupus nephritis. How long? How much? *Pediatr Nephrol* 19:949-955
124. Farkas SA, Schnitzbauer AA, Kirchner G, et al. Calcineurin inhibitor minimization protocols in liver transplantation. *Transpl Int.* 2009;22(1):49-60
125. Magnasco A, Rossi A, Catarsi P, et al. Cyclosporin and organ specific toxicity: clinical aspects, pharmacogenetics and perspectives. *Curr Clin Pharmacol.* 2008;3(3):166-73.
126. Salama AD, Pusey CD. Drug insight: rituximab in renal disease and transplantation. *Nat Clin Pract Nephrol.* 2006;2(4):221-30.

127. Looney RJ, Anolik JH, Campbell D et al. B cell depletion as a novel treatment for systemic lupus erythematosus: a phase I/II dose-escalation trial of rituximab. *Arthritis Rheum.* 2004;50(8):2580-9.
128. McLaughlin P, Grillo-Lopez AJ, Link BK et al. Rituximab chimeric anti-CD20 monoclonal antibody therapy for relapsed indolent lymphoma: half of patients respond to a four-dose treatment program. *J Clin Oncol* 1998; 16: 2825-33.
129. Maini R St., Clair EW, Breedveld F, et al, and the ATTRACT Study Group. Infliximab (chimeric anti-tumour necrosis factor α monoclonal antibody) versus placebo in rheumatoid arthritis patients receiving concomitant methotrexate: a randomised phase III trial. *Lancet* 1999; 354: 1932-9.
130. D'Arch C, Mannik M. Serum sickness secondary to treatment with the murine human chimeric antibody IDEC-C2B8. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 1717-8.
131. Herishanu Y. Rituximab induced serum sickness. *Am J Hematol* 2002;70: 329.
132. Maeda T, Yamada Y, Tawara M, et al. Successful treatment with a chimeric anti-CD20 monoclonal antibody (IDEC-C2B8 rituximab) for a patient with relapsed mantle cell lymphoma who developed a human anti-chimeric antibody. *Int J Hematol* 2001; 74: 70-5.
133. Cattran DC, Alexopoulos E, Heering P, et al. Cyclosporin in idiopathic glomerular disease associated with the nephrotic syndrome: workshop recommendations. *Kidney Int.* 2007 Dec;72(12):1429-47.
134. Alexopoulos E, Seron D, Cameron JS. Immune mechanisms in idiopathic membranous nephropathy: the role of the interstitial infiltrates. *Am J Kidney Dis.* 1989 May;13(5):404-12.

