



Positividade tecidual dupla para PLA2R e THSD7A em nefropatia membranosa idiopática: raro relato de caso


A rare case of PLA2R- and THSD7A-positive idiopathic membranous nephropathy

Autores

David Campos Wanderley^{1,2} 

Bárbara Dornelas Jones³ 

Fabrizio Augusto Marques
Barbosa⁴ 

Stanley de Almeida Araujo^{1,2} 

¹ Instituto de Nefropatologia, Belo Horizonte, MG, Brasil.

² Universidade Federal de Minas Gerais, Centro de Microscopia Eletrônica, Belo Horizonte, MG, Brasil.

³ Hospital Evangélico, Belo Horizonte, MG, Brasil.

⁴ Hospital UNIMED, Belo Horizonte, MG, Brasil.

RESUMO

A Nefropatia Membranosa Idiopática (NMI) é uma frequente causa de síndrome nefrótica em adultos e sua etiologia pode ser estratificada em primária/idiopática ou secundária. O conhecimento da fisiopatologia da NMI sugeriu a presença de autoanticorpos (PLA2R e a THSD7A) direcionados contra antígenos existentes nos podócitos. A detecção de anticorpos contra um domínio favorece NMI. A presença de autoanticorpos contra um desses domínios autoexcluiria a possibilidade de autoanticorpos contra o outro domínio; no entanto, recentemente foram descritos casos que apresentaram dupla positividade para PLA2R e THSD7A, comprovando que, por mecanismos fisiopatológicos ainda não conhecidos, raramente pode existir produção concomitante de anticorpos contra os dois alvos. O presente estudo tem por objetivo relatar o caso de um paciente de 46 anos de idade, do sexo masculino, que apresentou quadro de proteinúria nefrótica, hematuria, hipoalbuminemia e hipercolesterolemia submetido a biópsia e exame histopatológico (ML, IF, IHQ e ME), confirmando um caso raro de NMI com positividade dupla para os anticorpos anti-PLA2R e anti-THSD7A e associação à nefropatia por IgA, mostrando nossa experiência com a utilização de subclasses de IgG, PLA2R e THSD7A na rotina laboratorial para a investigação da GNM e enfatizando a importância de uma abordagem ampla para adequada elucidação e conhecimento dos mecanismos fisiopatológicos na NMI.

Palavras-chave: Glomerulonefrite Membranosa; Receptores da Fosfolipase A2; Trombospondina 1; Glomerulonefrite por IgA.

ABSTRACT

Idiopathic membranous nephropathy (IMN) is a frequent cause of nephrotic syndrome in adults. In terms of etiology, the condition may be categorized as primary/idiopathic or secondary. Literature on the pathophysiology of IMN has indicated the presence of autoantibodies (PLA2R and THSD7A) directed against podocyte antigens. The detection of antibodies against a domain favors IMN. The presence of autoantibodies against one of the domains would in theory exclude the possibility of there being autoantibodies against the other domain. However, cases of patients with PLA2R- and THSD7A-positive disease have been recently reported, showing that antibodies against two targets may be concomitantly produced via yet unknown pathophysiological mechanisms. This study reports the case of a 46-year-old male patient with nephrotic-range proteinuria, hematuria, hypoalbuminemia, and hypercholesterolemia submitted to biopsy and histopathology examination (LM, IF, IHC, and EM) eventually diagnosed with PLA2R- and THSD7A-positive IMN associated with IgA nephropathy, stressing our experience with the use of IgG subclasses, PLA2R, and THSD7A in the workup for MN and the relevance of adopting a broad and adequate approach to elucidating and acquiring knowledge of the pathophysiology of IMN.

Keywords: Glomerulonephritis, Membranous; Receptors, Phospholipase A2; Trombospondin 1; Glomerulonephritis, IGA.

Data de submissão: 10/05/2019.

Data de aprovação: 07/08/2019.

Correspondência para:

David Campos Wanderley.

E-mail: david_wanderley@hotmail.com

DOI: <https://doi.org/2175-8239-JBN-2019-0077>

INTRODUÇÃO

A nefropatia membranosa (NM) é uma frequente causa de síndrome nefrótica

em adultos e sua etiologia pode ser estratificada em primária/idiopática (NMI) ou secundária (NMs). As características clínicas, bioquímicas, morfológicas e



imunofenotípicas são inespecíficas na maioria dos casos, sendo necessária a pesquisa de uma ampla variedade de condições associadas às formas secundárias da doença, como neoplasias malignas, doenças infecciosas, doenças autoimunes e drogas. Dessa forma, o diagnóstico das formas primárias só pode ser estabelecido após a exclusão de todas as causas secundárias conhecidas.¹

O conhecimento da fisiopatologia da NMi sugeriu a presença de autoanticorpos direcionados contra antígenos existentes nos podócitos, resultando na formação de imunodepósitos no espaço subepitelial, que, por sua vez, alteram a disposição e organização dos podócitos, com consequente perda da polaridade da membrana basal glomerular (MBG), culminando em proteinúria.² O primeiro antígeno reconhecido foi o Receptor de Fosfolipase A2 do Tipo M (PLA2R) e, posteriormente, a Trombospondina Tipo 1 com Domínio Contendo 7A (THSD7A). O PLA2R é considerado o principal antígeno na glomerulopatia membranosa, sendo identificado em mais de 70% dos casos NMi, porém frequentemente ausente nas formas secundárias da doença e em outras formas de glomerulopatias.³⁻⁵ Já a detecção de anticorpos contra o THSD7A foi observada em aproximadamente 10% dos casos de NMi com pesquisa negativa para PLA2R.

Dessa forma, o PLA2R e o THSD7A foram considerados os dois principais alvos de autoanticorpos da NMi, na qual a presença de autoanticorpos contra um domínio autoexcluiria a presença de autoanticorpos contra o outro domínio.⁶⁻⁸ No entanto, recentemente foram descritos casos que apresentaram dupla positividade para PLA2R e THSD7A, comprovando que, por mecanismos fisiopatológicos ainda não conhecidos, raramente pode coexistir produção concomitante de anticorpos contra os dois alvos.⁴

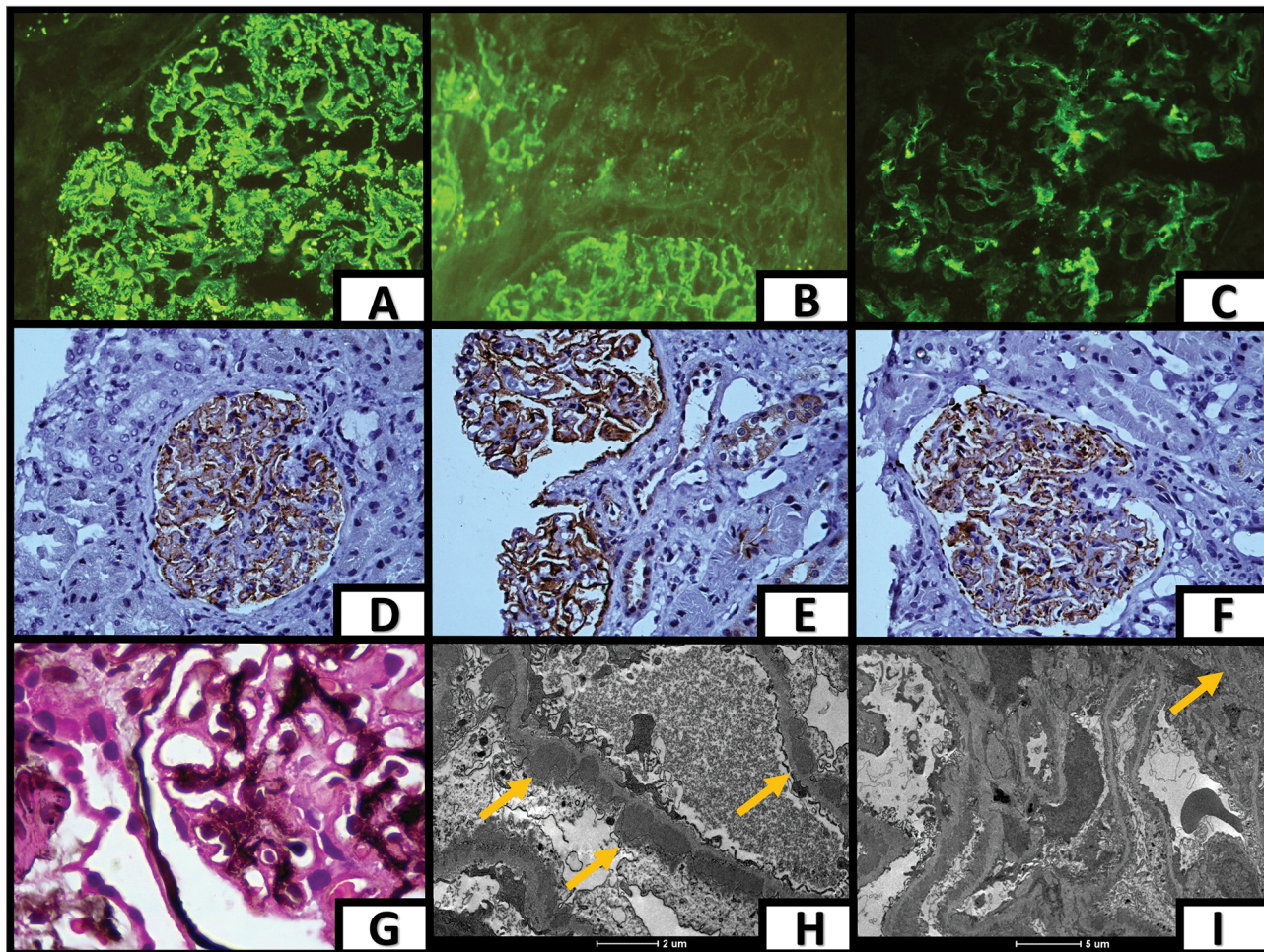
O presente estudo tem por objetivo relatar a história clínica e o exame histopatológico - microscopia de luz (ML), imunofluorescência (IF), imuno-histoquímica (IHQ) e microscopia eletrônica (ME) - de um caso raro de NMi com positividade dupla para os anticorpos anti-PLA2R e anti-THSD7A.

APRESENTAÇÃO DO CASO

Paciente de 46 anos de idade, sexo masculino, internado em hospital da região metropolitana de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, com quadro de edema progressivo de membros inferiores iniciado 6 meses anteriores ao atendimento, associado à urina

espumosa e ganho ponderal de 10 quilos. História patológica progressiva de hipertensão arterial sistêmica, hiperuricemia, dislipidemia e uso recorrente de anti-inflamatório não esteroide. No exame físico, apresentou edema de membros inferiores (2+/4+) e estava normotenso (PA 120x60 mmHg) e eupneico em ar ambiente. Antibioticoterapia com Clavulin oral para pneumonia comunitária. Função renal preservada (creatinina sérica de 0,86 mg/dL), ausência de distúrbios hidroeletrólíticos ou anemia (Hb 12,1 mg/dL). Sumário de urina mostrou proteína (3+/3+) e hematúria com dismorfismo eritrocitário (30%), com proteinúria de 24 horas de 4,0 g, além de hipoalbuminemia (albumina 1.5 mg/dL) e hipercolesterolemia (colesterol total 217 mg/dL). Sorologias para HIV e hepatites B e C, VDRL, FAN, FR e ANCA negativos. Dosagem de C4: 35,5 mg/dL e C3: 126,3 mg/dL. Ecocardiograma transtorácico com fração de ejeção de 65%, sem disfunção ventricular e doppler venoso de membros inferiores sem sinais de trombose venosa profunda. Por causa da alta probabilidade de doença renal glomerular, foi indicada biópsia renal. O estudo anatomopatológico mostrou, na ML, glomérulos com discreto aumento de matriz e celularidade mesangiais, com MBG difusamente espessada, havendo formação de pequenas espículas membranosas (Figura 1-G), com preservação do espaço túbulo-intersticial e vascular. As pesquisas imuno-histoquímicas com marcação por fluoresceína revelaram positivities de padrão granular ao longo da membrana basal para IgG, C3, Kappa e Lambda. Houve ainda expressão mesangial para IgA, C3, Kappa e Lambda (Figura 1-A a 1-C). A investigação imuno-histoquímica, com revelação por reação de peroxidase, mostrou forte marcação granular membranosa para IgG1, IgG4, THSD7A e PLA2R (Figura 1-D a 1-F). Com o auxílio da ME, foram identificados imunodepósitos eletrodensos em face subepitelial e em porção mesangial, associada à difusa alteração dos pedicelos podocitários com achatamento e apagamento difuso desses (Figura 1-H e 1-I). Tais alterações caracterizam a chamada glomerulopatia membranosa em estágio II associada a nefropatia por IgA, com imunomarcação tecidual dupla positiva por PLA2R e THSD7A. O paciente foi investigado com endoscopia digestiva alta, colonoscopia, tomografias computadorizadas de tórax e abdome e dosagem séria de CEA e CA19.9, que não revelaram quaisquer alterações relevantes. O paciente segue estável com lenta diminuição dos níveis de proteinúria (3,5 gramas/24

Figura 1. A, B e C: Coloração por Imunofluorescência - Depósito granular difuso ao longo da MBG para IgG e C3 e granular mesangial para IgA, respectivamente; **D, E e F:** Imuno-histoquímica - Marcação de forte intensidade ao longo da MBG por PLA2R, THSD7A e IgG4, respectivamente; **G:** Microscopia de luz com prata metenamina de Jones em óleo de imersão - Espessamento da MBG com presença de espículas; **H e I:** Microscopia eletrônica - Depósitos subepiteliais ao longo da MBG e mesangiais/paramesangiais - ver setas. * MBG - membrana basal glomerular.



horas, após 2 meses), seguindo duplo bloqueio do sistema renina-angiotensina, mantendo estabilidade hemodinâmica e sem alterações da função renal.

DISCUSSÃO

A NMi apresenta manifestações clínicas variáveis, com cursos clínicos diversos, variando desde remissão espontânea da proteinúria (com excelente prognóstico em longo prazo) até síndrome nefrótica persistente (culminando com doença renal terminal).^{7,8} O paciente estudado apresentou sinais e sintomas clássicos de síndrome nefrótica, com hipercolesterolemia, hipoalbuminemia, edema e proteinúria (4 gramas/24 horas), sendo ainda evidenciada hematuria com dismorfismo eritrocitário, sem alteração da função renal.

Diante da presença de síndrome nefrótica, são recomendadas pesquisas das causas secundárias mais prevalentes, que foram negativas em nossas

investigações. A biópsia renal foi indicada para adequado diagnóstico, revelando MBG difusamente espessada, com formação de espículas membranas, além de marcação por fluoresceína com positividade de padrão granular ao longo da membrana basal para IgG, C3, Kappa e Lambda, confirmando o diagnóstico NMi, como comumente descrito.⁵ Foi ainda observada imunomarcagem de forte intensidade mesangial por IgA, corroborando a possibilidade de nefropatia por IgA associada.⁹ A complementação com ME pode ser útil para adequada visualização dos imunodepósitos subepiteliais e apagamento dos processos podocitários,⁵ na ratificação e estadiamento patológico da doença, como identificado em nosso caso.

No entanto, apesar de toda a propedêutica realizada, a exclusão de causas secundárias de NM continua como um desafio aos médicos assistentes. Por isso, ao longo das últimas quatro décadas, métodos

complementares foram propostos para dicotomização dos casos na tentativa de diferenciar NMi e NMs, como a diferenciação qualitativa das frações de IgG,¹⁰⁻¹² microscopia eletrônica, dosagens sérias e histológicas de PLA2R^{2,3,5} e THSD7A.^{7,8} Desses métodos, os mais recentemente estudados foram os autoanticorpos circulantes anti-PLA2R e anti-THSD7A, que são predominantemente subclasse IgG4, sabidamente presente nas formas primárias da doença. Em nossa abordagem, o paciente foi investigado com dosagens histológicas, por método de imuno-histoquímica, para PLA2R, THSD7A e IgG4, revelando positividade de forte intensidade, de padrão granular ao longo da MBG, favorecendo fortemente a possibilidade de GNMi.

No entanto, acreditava-se que o PLA2R e o THSD7A seriam autoanticorpos com positividade mutuamente excludentes,⁶⁻⁸ não podendo acontecer positividade dupla, como no paciente relatado aqui. Somente em 2016 foram descritos os primeiros casos de positividade dupla simultânea para PLA2R e THSD7A.⁴ Em metanálise recente, apenas 6 casos de dupla positividade para PLA2R e THSD7A foram registrados até o momento,¹³ e, portanto, este é o sétimo caso similar relatado, havendo o diferencial da possível nefropatia por IgA associada.

É importante enfatizar que, apesar da elevada correlação de PLA2R e THSD7A à NMi, existem estudos comprovando a associação destes à MNs, tais como neoplasias malignas, doenças autoimunes, hepatite C e sarcoidose.^{10,14-18} Além disso, a dosagem sérica de autoanticorpos anti-PLA2R está associada à atividade de doença e é preditora de prognóstico e resposta terapêutica.^{8,14} A redução de seus níveis séricos está associada à resposta ao tratamento em pacientes com NMi, geralmente precedendo a remissão de proteinúria em meses.¹⁵ Em comparação, os títulos anti-THSD7A nem sempre se correlacionam com o nível de proteinúria e podem não ser preditores de remissão da doença.^{12,16}

O diagnóstico da NM e a definição das formas primárias e secundárias estão em plena transformação, uma vez que fatores fisiopatogênicos da doença ainda estão sendo esclarecidos. É apresentada neste estudo a experiência com a utilização de subclasses de IgG, PLA2R e THSD7A na rotina laboratorial para a investigação da GNM. Ao contrário de relatos anteriores, é mostrado que, apesar de rara, pode coexistir a positividade dupla

para PLA2R e THSD7A e, tornando o caso único, quando considerada a associação à nefropatia por IgA. Com isso, enfatizamos a importância de uma abordagem ampla com pesquisas de microscopia de luz, imunofluorescência, microscopia eletrônica e pesquisas histológicas por imuno-histoquímicas para adequada elucidação e conhecimento dos mecanismos fisiopatológicos na GNMi.

CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES

David Campos Wanderley, Bárbara Dornelas Jones, Fabricio Augusto Marques Barbosa, Stanley de Almeida Araujo contribuíram substancialmente para a concepção ou o desenho do trabalho; a coleta, análise ou interpretação dos dados e redação ou revisão crítica do trabalho, bem como para a aprovação final da versão a ser publicada.

CONFLITOS DE INTERESSES

Os autores declaram não ter conflitos de interesses relacionados à publicação deste manuscrito.

REFERÊNCIAS

- Gudipati A, Uppin MS, Kalidindi RK, Swarnalatha G, Das U, Taduri G, et al. Immunohistochemical analysis of anti-phospholipase A2 receptor antibody on renal biopsies: a single tertiary care center study. *Indian J Nephrol.* 2017 Sep/Oct;27(5): 353-8.
- Zhu Q. Anti-Phospholipase A2 Receptor Autoantibody: A New Biomarker for Primary Membranous Nephropathy. *Immunol Endocr Metab Agents Med Chem.* 2016 Feb;16(1):4-17.
- Debiec H, Ronco P. PLA2R autoantibodies and PLA2R glomerular deposits in membranous nephropathy. *N Engl J Med.* 2011 Feb 17;364(7):689-90.
- Larsen CP, Cossey LN, Beck LH. THSD7A staining of membranous glomerulopathy in clinical practice reveals cases with dual autoantibody positivity. *Mod Pathol.* 2016 Apr;29(4):421-6.
- Beck Junior LH, Bonegio RG, Lambeau G, Beck DM, Powell DW, Cummins TD, et al. M-type phospholipase A2 receptor as target antigen in idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med.* 2009 Jul 2;361(1):11-21.
- Tomas NM, Beck Junior LH, Meyer-Schwesinger C, Seitz-Polski B, Ma H, Zahner G, et al. Thrombospondin type-1 domain-containing 7A in idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med.* 2014 Dec 11;371(24):2277-87.
- Iwakura T, Ohashi N, Kato A, Baba S, Yasuda H. Prevalence of enhanced granular expression of thrombospondin type-1 domain-containing 7A in the glomeruli of Japanese patients with idiopathic membranous nephropathy. *PLoS One.* 2015 Sep 22;10(9):e0138841.
- Hoxha E, Beck Junior LH, Wiech T, Tomas NM, Probst C, Mindorf S, et al. An indirect immunofluorescence method facilitates detection of thrombospondin type 1 domain-containing 7A-specific antibodies in membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2017 Feb;28(2):520-31.
- Chen P, Shi SF, Qu, Z, Zhao N, Xiw XF, Lv JC, et al. Characteristics of patients with coexisting IgA nephropathy and membranous nephropathy. *Ren Fail.* 2018;40(1):213-18.
- Bannister KM, Howarth GS, Clarkson AR, Woodroffe AJ. Glomerular IgG subclass distribution in human glomerulonephritis. *Clin Nephrol.* 1983 Apr;19(4):161-5.

11. Doi T, Mayumi M, Kanatsu K, Suehiro F, Hamashima Y. Distribution of IgG subclasses in membranous nephropathy. *Clin Exp Immunol*. 1984 Oct;58(1):57-62.
12. von Haxthausen F, Reinhard L, Pinnschmidt HO, Rink M, Soave A, Hoxha E, Stahl RAK. Antigen-specific IgG Subclasses in Primary and Malignancy-Associated Membranous Nephropathy. *Front Immunol*. 2018 Dec 20;9:3035.
13. Ren S, Wu C, Zhang Y, Wang AY, Li G, Wang L, Hong D. An update on clinical significance of use of THSD7A in diagnosing idiopathic membranous nephropathy: a systematic review and meta-analysis of THSD7A in IMN. *Ren Fail*. 2018;40(1):306-13.
14. Sharma SG, Larsen CP. Tissue staining for THSD7A in glomeruli correlates with serum antibodies in primary membranous nephropathy: a clinicopathological study. *Mod Pathol*. 2018 Apr;31(4):616-22.
15. Jianing L. Diagnostic study of serum anti-M type phospholipase A2 receptor (PLA2R) antibody negative idiopathic membranous nephropathy [dissertation]. 2015.
16. Bastani B. Phospholipase A2 receptor (PLA2R) related membranous nephropathy - not specific for idiopathic cases any more. *J Nephropathol*. 2018;7(1):11-14.
17. Hoxha E, Wiech T, Stahl PR, Zahner G, Tomas NM, Meyer-Schwesinger C, Harendza S. A mechanism for cancer-associated membranous nephropathy. *N Engl J Med*. 2016 May 19;374(20):1995-6.
18. Wang T, Zhang Y, Liu M, Kang X, Kang L, Zhang H. THSD7A as a marker for paraneoplastic membranous nephropathy. *Int Urol Nephrol*. 2019 Feb;51(2):371-3.