

Katarzyna Jakuszko, Magdalena Krajewska, Marian Klinger

Klinika Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

# Diagnostyka toczniowego zapalenia nerek — aktualny stan wiedzy

## Diagnosis of lupus nephritis — the current status of knowledge

### ABSTRACT

The search for the novel biomarkers, enabling the diagnosis and monitoring of lupus nephritis activity is currently the subject of many studies. However, kidney biopsy is still the gold standard and the diagnosis of specific type of lupus nephritis affects the choice of treatment regimen. This article introduces classical, as well as recently discovered, indicators related to systemic lupus and lupus nephritis activity, including the most sought biomarkers — associated with histopatho-

logical type of nephropathy. Determination of features, which are able to provide non-invasively monitoring of the disease activity, will allow early and more efficient optimization of the therapeutic treatment. It is possible that measuring a number of biomarkers, both classical and novel, will be the best solution and the best prognostic indicator of renal involvement, evaluation of the activity and type of lupus nephritis.

Forum Nefrologiczne 2014, vol 7, no 2, 65–74

**Key words:** lupus nephritis, autoantibodies, cytokines, kidney biopsy

### WSTĘP

Toczeń rumieniowaty układowy jest przewlekłą chorobą o charakterze autoimmunologicznym i różnej manifestacji klinicznej [1]. Wiele czynników genetycznych, środowiskowych i hormonalnych, poprzez wywoływanie złożonych zaburzeń procesów immunologicznych, uczestniczy w patogenezie i progresji tej choroby. Upośledzenie czynności limfocytów T i B oraz makrofagów, biorących udział w procesach usuwania nieprawidłowych komórek, prowadzi do zaburzeń przebiegu apoptozy, kumulacji niezdegradowanego, silnie immunogenego materiału, utraty tolerancji immunologicznej na antygeny i powstawania patogennych auto-przeciwciał [2].

### KRYTERIA DIAGNOSTYCZNE TOCZNIA RUMIENIOWATEGO UKŁADOWEGO

Ostatnie lata przyniosły istotne zmiany w diagnostyce tocznia rumieniowatego układowego oraz toczniowego zapalenia nerek. Według uaktualnionej w 2012 roku klasyfikacji Amerykańskiego Towarzystwa Reumatologicznego (ACR, *American College of Rheumatology*) do rozpoznania tocznia rumieniowatego układowego wymagana jest obecność 4 spośród 17 kryteriów, w tym co najmniej jednego klinicznego i jednego immunologicznego (tab. 1). Do rozpoznania tocznia układowego upoważnia także stwierdzenie nefropatii toczniowej w badaniu biopsyjnym, przy obecności dodatnich przeciwciał przeciwjądrowych (ANA, *anti-nuclear antibodies*) lub przeciwciał

**Adres do korespondencji:**  
dr n. med. Katarzyna Jakuszko  
Klinika Nefrologii i Medycyny  
Transplantacyjnej UM  
ul. Borowska 213, 52–311 Wrocław  
tel.: 71 733 25 15  
faks: 71 733 25 09  
e-mail: kasia.jakuszko@wp.pl

**Tabela 1.** Uaktualniona klasyfikacja Amerykańskiego Towarzystwa Reumatologicznego [1]

KRYTERIA KLINICZNE	
1.	Zmiany skórne o charakterze ostrym: <ul style="list-style-type: none"> <li>— zmiany skórne rumieniowe o układzie motyla na twarzy (<i>lupus malar rash</i>)</li> <li>— odmiana pęcherzowa (<i>bullous lupus</i>)</li> <li>— wariant z toksyczną nekrolizą naskórka (<i>toxic epidermal necrolysis variant of systemic lupus</i>)</li> <li>— postać plamkowo-grudkowa (<i>maculopapular lupus rash</i>)</li> <li>— nadwrażliwość na światło</li> </ul> LUB podostry toczeń skórny — pierścieniowe zmiany policykliczne ( <i>subacute cutaneous lupus</i> )
2.	Zmiany skórne o charakterze przewlekłym: <ul style="list-style-type: none"> <li>— zmiany skórne rumieniowo-błiznowaciejące — rumień krążkowy (<i>discoid rash</i>)</li> <li>— postać hiperkeratotyczna, brodawkowata (<i>hypertrophic, verrucous lupus</i>)</li> <li>— odmiana podskórna, głęboka (<i>lupus panniculitis, profundus</i>)</li> <li>— zmiany w obrębie błon śluzowych (<i>mucosal lupus</i>)</li> <li>— zmiany skórne rumieniowo-obrzękowe (<i>lupus erythematosus tumidus</i>)</li> <li>— odmiana odmrozinowa — zmiany rumieniowe związane z zaburzeniami naczyniowymi (<i>chillblain lupus erythematosus</i>)</li> <li>— zespół nakładania: rumień krążkowy i liszaj płaski (<i>discoid lupus/lichen planus overlap</i>)</li> </ul>
3.	Owrzodzenia jamy ustnej (zlokalizowane w obrębie błony śluzowej podniebienia, policzków, języka) lub owrzodzenia jamy nosowej <i>po wykluczeniu: układowego zapalenia naczyń, choroby Behçeta, infekcji wirusem Herpes, zapalnych chorób jelit, reaktywnego zapalenia stawów</i>
4.	Niebliznowaciejące tysienie <i>po wykluczeniu tysienia plackowatego, polekowego, androgennego oraz niedoboru żelaza</i>
5.	Zapalenie stawów obejmujące 2 lub więcej stawów, charakteryzujące się obrzękiem i/lub wysiękiem LUB tkliwość 2 lub więcej stawów oraz sztywność poranna przez co najmniej 30 minut
6.	Zapalenie błon surowiczych <i>po wykluczeniu infekcji, mocznicy, zespołu Dresslera:</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>— zapalenie opłucnej LUB wysięk opłucnowy/objawy osłuchowe (tarcie opłucnowe)</li> <li>— zapalenie osierdzia LUB wysięk osierdziowy/objawy osłuchowe (tarcie osierdziowe)/elektrokardiograficzne cechy zapalenia osierdzia</li> </ul>
7.	Zajęcie nerek: <ul style="list-style-type: none"> <li>— białkomocz powyżej 0,5 g/24 godz. (współczynnik białko/kreatynina lub dobowy zbiórka moczu)</li> <li>— obecność walczków erytrocytarnych</li> </ul>
8.	Zaburzenia neurologiczne: <ul style="list-style-type: none"> <li>— drgawki</li> <li>— psychoza</li> <li>— uszkodzenie nerwów obwodowych <i>po wykluczeniu innych przyczyn, m.in. układowego zapalenia naczyń</i></li> <li>— zapalenie rdzenia kręgowego</li> <li>— obwodowa lub ośrodkowa neuropatia <i>po wykluczeniu układowego zapalenia naczyń, infekcji, cukrzycy</i></li> <li>— splątanie <i>po wykluczeniu innych przyczyn (toksycznych, metabolicznych, polekowych, mocznicy)</i></li> </ul>
9.	Anemia hemolityczna
10.	Leukopenia (leukocyty < 4 tys./mm <sup>3</sup> ) <i>po wykluczeniu zespołu Felty'ego, zaburzeń polekowych, nadciśnienia wrotnego</i> LUB limfopenia (limfocyty < 1 tys./mm <sup>3</sup> ) <i>po wykluczeniu zaburzeń polekowych, infekcji</i>
11.	Trombocytopenia (płytki krwi < 100 tys./mm <sup>3</sup> ) <i>po wykluczeniu zaburzeń polekowych, nadciśnienia wrotnego, plamicy małopłytkowej</i>
KRYTERIA IMMUNOLOGICZNE	
1.	Przeciwciała przeciwjądrowe (ANA)
2.	Przeciwciała przeciw dwuniciowemu DNA (anty-dsDNA)
3.	Przeciwciała przeciw antygenowi jądrowemu Smith (anty-Sm)
4.	Przeciwciała antyfosfolipidowe (przeciwkardiolipinowe, przeciw β2-glikoproteinie, antykoagulant toczniowy, fałszywie dodatni test na reaginy)
5.	Obniżona aktywność hemolityczna dopełniacza (obniżone stężenie C3 i/lub C4, obniżenie CH50)
6.	Dodatni bezpośredni odczyn Coombsa w przypadku braku niedokrwistości hemolitycznej

skierowanych przeciw dwuniciowemu DNA (anty-dsDNA) [1].

Do kryteriów klinicznych należą zmiany skórne o charakterze ostrym, podoстрыm i przewlekłym, zmiany w obrębie błon śluzowych i surowicznych, zapalenie stawów, zajęcie nerek, zaburzenia neuropsychiatryczne oraz hematologiczne, uwzględniające obecność anemii hemolitycznej, leukopenii oraz trombocytopenii jako odrębnych objawów. Kryteria immunologiczne uwzględniają poza obecnością dodatniego miana przeciwciał ANA również obniżenie aktywności hemolitycznej dopełniacza (CH50) i stężeń składowych dopełniacza 3 i 4 (C3 i C4), obecność dodatniego odczynu Coombsa oraz szersze zastosowanie testów immunoenzymatycznych, wykrywających przeciwciała anty-dsDNA, antyfosfolipidowe oraz przeciwciała skierowane przeciw antygenowi jądrowemu Smith (anty-Sm) [1].

### **SWOISTOŚĆ I CZUŁOŚĆ OBECNIE STOSOWANYCH WSKAŹNIKÓW**

Dodatnie miana przeciwciał przeciwjądrowych stwierdza się u ponad 95% pacjentów z toczniem układowym, dlatego oznaczanie ANA za pomocą metody immunofluorescencyjnej jest najbardziej czułym testem rozpoznawania tocznia rumieniowatego układowego. Jest to jednak test mało specyficzny, a przeciwciała przeciwjądrowe są obecne stosunkowo często u pacjentów z innymi chorobami autoimmunologicznymi, m.in. reumatoidalnym zapaleniem stawów, zespołem Sjögrena, cukrzycą typu 1, zapaleniami tarczycy w przebiegu choroby Gravesa i Basedowa oraz Hashimoto, chorobami skóry, takimi jak łuszczyca, pęcherzyca, liszaj płaski, a także u osób zdrowych [3]. Test immunoenzymatyczny do ilościowego oznaczania przeciwciał skierowanych przeciw dwuniciowemu DNA wykazuje większą swoistość dla tocznia układowego. Dodatkowo stężenia przeciwciał anty-dsDNA występują przede wszystkim u pacjentów z toczniem rumieniowatym układowym, a znacznie rzadziej u chorych z reumatoidalnym zapaleniem stawów i przewlekłym aktywnym zapaleniem wątroby. Test ten cechuje jednak mniejsza czułość — przeciwciała anty-dsDNA wykazano u 57–70% pacjentów w różnych stadiach aktywności tocznia rumieniowatego układowego [4].

Przyspieszony odczyn opadania krwinek czerwonych (OB), wzrost miana przeciwciał ANA i stężeń anty-dsDNA, obniżenie CH50 i stężeń C3 i C4 należą do tzw. klasycz-

nych wskaźników aktywności tocznia rumieniowatego układowego. Odczyn OB jest oczywiście markerem mało specyficznym, a wzrost miana przeciwciał oraz obniżenie CH50 i stężeń C3 i C4 charakteryzuje mała czułość predykcyjna. Zmiany tych wskaźników najczęściej pojawiają się późno, zwykle już po wystąpieniu objawów klinicznych nawrotu choroby.

Dodatkowym ograniczeniem przydatności diagnostycznej oznaczania stężeń składowych dopełniacza jest fakt, że C3 i C4 nie są produktami aktywacji dopełniacza, ale substratami obecnymi w surowicy. Podjęto próbę określenia przydatności pomiaru stężeń produktów aktywacji składowych dopełniacza C3 i C4 związanych z erytrocytami (E-C3d i E-C4d), płytkami krwi (P-C3d, P-C4d), limfocytami T (T-C3d, T-C4d) i B (B-C3d, B-C4d) oraz oznaczano ekspresję receptora typu 1 dla układu dopełniacza (CR1, *complement receptor type 1*) obecnego na krwinkach czerwonych (E-CR1) i płytkach krwi (P-CR1). Poziomy składowych dopełniacza związanych z erytrocytami, płytkami krwi i limfocytami, oznaczone za pomocą cytometrii przepływowej były istotnie wyższe, a ekspresja CR1 istotnie niższa u pacjentów z toczniem rumieniowatym układowym w porównaniu z wartościami stwierdzanymi u chorych na inne choroby o podłożu autoimmunologicznym oraz u osób zdrowych [5]. Poziomy składowych dopełniacza związanych z komórkami krwi obwodowej były istotnie statystycznie związane z aktywnością choroby, ocenioną za pomocą wskaźnika aktywności tocznia rumieniowatego układowego (SLEDAI, *Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index*) oraz innych klasycznych biomarkerów immunologicznych (anty-dsDNA, C3 i C4) [5]. W porównaniu z anty-dsDNA oraz stężeniami C3 i C4 oznaczenie T-C4d i B-C4d charakteryzowało się większą czułością w rozpoznaniu tocznia układowego [6]. Oznaczenie produktów aktywacji składowych dopełniacza związanych z komórkami krwi obwodowej oraz ekspresji receptorów dla dopełniacza na erytrocytach i płytkach krwi nie zastąpiło do tej pory standardowych testów diagnostycznych, ale wstępne, obiecujące wyniki sugerują, że badania te mogą być wykorzystywane w szerszym zakresie w przyszłości [7].

Wskaźnik SLEDAI jest jedną z powszechnie stosowanych skal oceniających aktywność tocznia układowego. W skali SLEDAI przyznaje się od 1 do 8 punktów za objawy ze strony poszczególnych układów, w tym neurologiczne, naczyniowe, mięśniowo-stawowe,

skórne, hematologiczne w postaci małopłytkowości i/lub leukopenii oraz nerkowe oceniane na podstawie obecności białkomoczu dobowego przekraczającego 0,5 g i aktywnego osadu moczu. Maksymalna liczba punktów wynosi 105, ale przy ponad 20 punktach aktywność tocznia rumieniowatego układu oceniana jest jako bardzo duża [8]. U chorych z zajęciem nerek często ocenia się dodatkowo liczbę punktów przyznanych wyłącznie za objawy nerkowe, w tym obecność dobowej utraty białka przekraczającej 0,5 g, erytrocyturii (po wykluczeniu kamicy i infekcji), leukocyturii (po wykluczeniu zakażenia układu moczowego) i wałeczkomoczu czerwonekrwinkowego lub ziarnistego (wskaźnik rSLEDAI).

### **TOCZNIOWE ZAPALENIE NEREK — CO NOWEGO W DIAGNOSTYCE**

Toczniove zapalenie nerek pozostaje, obok zajęcia układu nerwowego i zapalenia błon surowiczych, jedną z najcięższych manifestacji tocznia rumieniowatego układu i stanowi główną przyczynę śmiertelności w tej grupie pacjentów. Znalezienie wskaźników, których stężenia korelują z aktywnością nefropatii toczniowej oraz z typem zmian morfologicznych i immunohistologicznych, umożliwi w przyszłości przewidywanie rozwoju nefropatii i jej zaostrzeń oraz ryzyka progresji do schyłkowej niewydolności nerek. Opisano dotychczas kilkanaście nowych wskaźników, ale wnioski z dostępnych doniesień są sprzeczne. Dodatkowo ich przydatność nie została potwierdzona w prospektywnych badaniach przeprowadzonych w dużych grupach pacjentów [7].

Biopsja nerki nadal pozostaje „złotym standardem”, a rozpoznanie określonego typu nefropatii toczniowej ma wpływ na wybór schematu leczenia. Rozpoznanie biopsyjne nie zawsze odzwierciedla przebieg kliniczny — białkomocz nercycowy, chociaż najczęściej obserwowany w postaciach rozplemowych, stwierdza się również w nefropatii błoniastej i w zaawansowanym stadium toczniowego zapalenia nerek z globalną sklerotyzacją, bez wykładników aktywności choroby. Aktualnie obowiązująca klasyfikacja opracowana w 2003 roku, a opublikowana w 2004 roku przez grupę nefrologów i nefropatologów [International Society of Nephrology/Renal Pathology Society (ISN/RPS) 2004] uwzględnia nie tylko typ toczniowego zapalenia nerek, ale również rozległość, aktywność i zaawansowa-

nie zmian przewlekłych [9]. Biopsja nerki to badanie inwazyjne, które jest powtarzane jedynie w razie niepowodzenia leczenia, a nie w celu monitorowania przebiegu choroby, dlatego trwają poszukiwania wskaźników, których obecność mogłaby sugerować typ histopatologiczny nefropatii, a także przewidywać zaostrzenia i określać rokowanie.

Ukazały się doniesienia, w których wykazano, że wyższe stężenia białka chemotaktycznego dla monocytów typu 1 (MCP-1, *monocyte chemoattractant protein 1*) i lipokaliny neutrofilowej połączonej z żelatyną (NGAL, *neutrophil gelatinase-associated lipocalin*) w moczu [10], jak również zwiększona ekspresja MCP-1 w kłębuszkach nerkowych [11] oraz wyższe osoczkowe stężenia przeciwciał przeciw monomerycznemu białku C-reaktywnemu (anty-mCRP *anti-monomeric C-reactive protein*) [12] są charakterystyczne dla rozplemowego toczniowego zapalenia nerek, odpowiadającego klasie III i IV nefropatii toczniowej według klasyfikacji ISN/RPS 2004. Obecność przeciwciał przeciw rybosomalnemu białku P (anty-P) w osoczu miałyby natomiast wskazywać na rozpoznanie nefropatii toczniowej klasy V [13].

Rosnące zainteresowanie MCP-1 i NGAL wynika m.in. z możliwości wykorzystania pomiaru stężenia tych cytokin w moczu jako nieinwazyjnych wskaźników odzwierciedlających takie zmiany histopatologiczne, jak aktywność, klasa nefropatii toczniowej, obecność zmian cewkowo-śródmiąższowych oraz zaawansowanie zmian przewlekłych [10].

Białko chemotaktyczne dla monocytów typu 1 należy do prozapalnych cytokin i jest wydzielane przez aktywowane monocyty, komórki śródbłonna oraz fibroblasty. Po przez pobudzenie receptora chemokin typu 2 (CCR2) bierze udział w przyciąganiu monocytów do miejsca uszkodzenia i zapalenia [14]. Stwierdzono nasiloną ekspresję MCP-1 w kłębuszkach nerkowych u pacjentów z rozplemowym toczniowym zapaleniem nerek, a także zmniejszanie tej ekspresji w wyniku stosowania glikokortykosteroidów [11]. W badaniach doświadczalnych na hodowlach ludzkich komórek mezangialnych potwierdzono, że po zastosowaniu selektywnego inhibitora dehydrogenazy inozyny (mizorybiny) ekspresja MCP-1 ulegała zmniejszeniu, mimo stymulacji kwasem poliinozyno-policytydylowym, która zwiększa ekspresję MCP-1 [15]. Potwierdzono także znaczenie pomiarów MCP-1 w moczu jako wskaźnika określającego ciężkość nefropatii oraz umożliwiającego przewidywanie za-

►► Biopsja nerki nadal pozostaje „złotym standardem”, a rozpoznanie określonego typu nefropatii toczniowej ma wpływ na wybór schematu leczenia ◀◀

►► Rosnące zainteresowanie MCP-1 i NGAL wynika m.in. z możliwości wykorzystania pomiaru stężenia tych cytokin w moczu jako nieinwazyjnych wskaźników odzwierciedlających takie zmiany histopatologiczne, jak aktywność, klasa nefropatii toczniowej, obecność zmian cewkowo-śródmiąższowych oraz zaawansowanie zmian przewlekłych ◀◀

ostrzenia toczniowego zapalenia nerek [10]. Wyższe wartości MCP-1 stwierdzano w moczu pacjentów z aktywną nefropatią w przebiegu tocznia układowego w porównaniu z pacjentami, u których występowała remisja choroby lub zaostrzenie choroby dotyczące innych układów. Wzrost stężeń MCP-1 występował 2–4 miesiące przed zaostrzeniem oraz miał związek z wielkością białkomoczu dobowego. Wykazano również, że stężenia MCP-1 w moczu były wyższe pacjentów z rozplemowym toczniowym zapaleniem nerek oraz u tych, u których stwierdzano upośledzenie funkcji filtracyjnej. Stężenia MCP-1 istotnie się obniżały w wyniku stosowanego leczenia, a brak redukcji stężeń tej cytokiny wiązał się z istotnie gorszym rokowaniem [16].

W doświadczalnych mysich modelach toczniowego zapalenia nerek wykazano, że pod wpływem patogennych przeciwciał skierowanych przeciw DNA w obrębie kłębuszków nerkowych dochodzi do zwiększonej ekspresji NGAL. Zdaniem autorów bierze ona udział w patogenezie uszkodzenia nerek poprzez pobudzenie zapalenia oraz apoptozy [17].

Stężenia NGAL w moczu pacjentów z aktywną nefropatią były wyższe niż pacjentów bez zajęcia nerek. Stwierdzano również korelację z aktywnością choroby ocenioną za pomocą wskaźnika rSLEDAI. Wzrost stężeń NGAL w moczu obserwowano już około 3 miesiące przed zaostrzeniem choroby. Stężenia NGAL były wyższe w moczu dzieci z postacią rozplemową toczniowego zapalenia nerek w porównaniu z chorującymi na nefropatię błoniastą [18]. Udało się również wykazać, że utrzymujące się wysokie stężenia NGAL stanowią niekorzystny czynnik rokowniczy progresji do schyłkowej niewydolności nerek [10].

Stosunkowo niedawno, w ostatnich latach, ukazały się informacje na temat znaczenia przeciwciał skierowanych przeciw monomerycznemu CRP oraz rybosomalnemu białku P w patogenezie toczniowego zapalenia nerek.

Kompleksy zawierające przeciwciała anty-mCRP, znajdujące się w mezangium i w ścianach włócniczek, jednocześnie z przeciwciałami anty-dsDNA, przeciwciałami skierowanymi przeciw składowej dopełniacza C1q (anty-C1q) oraz przeciw  $\alpha$ -aktyninie inicjują i/lub nasilają stan zapalny [12]. Istnieją dowody doświadczalne, że przeciwciała anty-mCRP uszkodzają również bezpośrednio struktury kłębuszków, łącząc się z endogennymi antygenami kłębuszkowymi, np. mCRP,  $\alpha$ -aktyniną oraz składową C1q. W ostatnio opublikowa-

nych badaniach za pomocą mikroskopii elektronowej potwierdzono obecność tych antygenów w obrębie błony podstawnej kłębuszków nerkowych oraz w przestrzeni podśródbłonkowej [19]. Monomeryczna forma CRP ulega w środowisku kwaśnym wyeksponowaniu na powierzchni komórek i przez wiązanie z immunoglobulinami może tworzyć kompleksy immunologiczne *in situ* [12].

Na rolę przeciwciał anty-P w patogenezie rozwoju i progresji nefropatii toczniowej wskazuje zwiększona ekspresja rybosomalnego białka P na powierzchni komórek mezangialnych kłębuszków nerkowych w mysich modelach tocznia.

Badania oceniające zależność klasy nefropatii toczniowej od obecności i stężeń przeciwciał anty-mCRP i anty-P są nieliczne, a ich wyniki niejednoznaczne. W jednym z badań nie potwierdzono istnienia związku pomiędzy klasą toczniowego zapalenia nerek a obecnością przeciwciał anty-mCRP [20]. W innym stwierdzono, że wyjściowe stężenia przeciwciał anty-mCRP były wyższe u pacjentów z rozplemowym toczniowym zapaleniem nerek w porównaniu z pacjentami z nefropatią błoniastą [12].

W większości dotychczas przeprowadzonych badań wykazano natomiast obecność przeciwciał anty-mCRP u chorych z aktywną postacią toczniowego zapalenia nerek. Potwierdzono również istnienie statystycznie istotnych korelacji stężeń przeciwciał anty-mCRP z klinicznymi i immunologicznymi wskaźnikami aktywności toczniowego zapalenia nerek. Wskazuje to na możliwość ich wykorzystania jako wskaźnika określającego aktywność i ciężkość choroby, a także jako dodatkowego czynnika przewidującego zarówno zaostrzenia toczniowego zapalenia nerek, jak i potencjalną odpowiedź na leczenie [12].

Przeciwciała przeciw rybosomalnemu białku P, charakterystyczne zwłaszcza dla tocznia układowego z zajęciem układu nerwowego, są obecne również u 15–25% pacjentów bez objawów neurologicznych [7]. Przeciwciała te stwierdzano istotnie statystycznie częściej u pacjentów z błoniastym toczniowym zapaleniem nerek oraz z większym białkomoczem dobowym. Równoczesna obecność przeciwciał anty-P oraz anty-dsDNA charakteryzowała natomiast pacjentów z rozpoznaniem biopsyjnie nakładaniem się zmian rozplemowych na nefropatię klasy V [13]. Mimo potwierdzenia znaczenia przeciwciał anty-P w diagnostyce i monitorowaniu aktywności tocznia układo-

►► Kompleksy zawierające przeciwciała anty-mCRP, znajdujące się w mezangium i w ścianach włócniczek, jednocześnie z przeciwciałami anty-dsDNA, przeciwciałami skierowanymi przeciw składowej dopełniacza C1q (anty-C1q) oraz przeciw  $\alpha$ -aktyninie inicjują i/lub nasilają stan zapalny ◀◀

►► Najnowsze doniesienia wskazują na istotną rolę cytokin wydzielanych przez limfocyty pomocnicze 1 i 2 (Th1, Th2) na powstanie określonych zmian histopatologicznych ◀◀

wego, zwłaszcza u chorych z zajęciem nerek oraz u chorych z ujemnymi przeciwciałami anty-dsDNA i anty-Sm [21], ukazały się też prace, w których nie określono związku przeciwciał z klasą nefropatii. W innych natomiast obserwowano związek występowania przeciwciał anty-P z rozplemowymi postaciami toczniowego zapalenia nerek [22].

Najnowsze doniesienia wskazują na istotną rolę cytokin wydzielanych przez limfocyty pomocnicze 1 i 2 (Th1, Th2) na powstanie określonych zmian histopatologicznych. Limfocyty Th1 oraz subpopulacja limfocytów Th17 pobudzają wydzielanie cytokin prozapalnych, m.in. interleukin Il-1 $\beta$ , Il-2, Il-6, Il-12, Il-17 oraz czynnika martwicy guza alfa (TNF- $\alpha$ , *tumor necrosis factor  $\alpha$* ), wspierają odpowiedź komórkową, są uważane za aktywny mediator uszkodzenia kłębuszków nerkowych i powstanie postaci rozplemowych toczniowego zapalenia nerek. Limfocyty Th2, odpowiedzialne za sekrecję takich cytokin, jak Il-4, Il-5, Il-10, Il-13, Il-35 oraz transformującego czynnika wzrostu beta (TGF- $\beta$ , *transforming growth factor  $\beta$* ), są związane z odpowiedzią humoralną i wydzielaniem autoprzeciwciał, a także obecnością nefropatii błoniastej [23].

### MONITOROWANIE AKTYWNOŚCI TOCZNIOWEGO ZAPALENIA NEREK

Klasyczne wskaźniki określające aktywność tocznia układowego, m.in. przyśpieszone OB, wzrost miana przeciwciał ANA i anty-dsDNA, obniżenie CH50 i stężeń C3 i C4, są powszechnie używane do monitorowania przebiegu choroby u pacjentów z nefropatią toczniową, a związek pomiędzy aktywnością nefropatii toczniowej a stężeniami tych biomarkerów jest dobrze udokumentowany. Żaden z nich nie jest jednak swoisty dla toczniowego zapalenia nerek. W praktyce klinicznej przy ocenie aktywności nefropatii opieramy się na oznaczaniu stężeń kreatyniny, białka całkowitego i albumin w surowicy oraz na ocenie wielkości białkomoczu dobowego i aktywności osadu moczu. Zmiany w zakresie tych wskaźników pojawiają się jednak późno, często po wystąpieniu wyraźnych cech klinicznych nawrotu choroby. Prowadzone są intensywne badania nowych, potencjalnych biomarkerów oceny aktywności toczniowego zapalenia nerek. Należą do nich, jak wynika z przeglądu piśmiennictwa, m.in. autoprzeciwciała, cytokiny, rozpuszczalne receptory dla cytokin, rozpuszczalne receptory kinaz tyrozynowych oraz ich ligandy.

### AUTOPRZECIWCIAŁA

Przeciwciała przeciw nukleosomom, jednemu z głównych autoantygenów w toczniu rumieniowatym układowym, występują u 70–100% pacjentów. Ich wykrycie umożliwia wczesne rozpoznanie zajęcia nerek oraz ocenę aktywności nefropatii [4].

Przeciwciała przeciw składowej dopełniacza C1q stwierdza się u 30–40% pacjentów z tocznie rumieniowatym układowym, a ich obecność pozwala na przewidywanie zajęcia nerek z czułością 44–100% i swoistością 70–92%. Wnioski z metaanalizy 25 badań dotyczących zależności pomiędzy aktywnością toczniowego zapalenia nerek a przeciwciałami anty-C1q potwierdzają znaczenie tych przeciwciał jako wskaźnika aktywności nefropatii [24].

Przeciwciała przeciw nukleosomom oraz anty-C1q pojawiają się zwykle dość wcześnie w przebiegu odpowiedzi immunologicznej w toczniu rumieniowatym układowym, a ich stężenia mają związek z aktywnością i ciężkością nefropatii. Ich ocena w połączeniu z innymi wskaźnikami ułatwia przewidywanie wystąpienia i/lub zaostrzeń toczniowego zapalenia nerek. Miano przeciwciał anty-C1q ulega istotnemu obniżeniu podczas skutecznego klinicznie leczenia immunosupresyjnego, a to umożliwia ich wykorzystanie jako wskaźnika oceniającego odpowiedź na zastosowaną terapię. Stwierdzenie obecności przeciwciał anty-C1q i anty-dsDNA w przewidywaniu zaostrzeń toczniowego zapalenia nerek ma podobną czułość, jednak u 25% pacjentów przeciwciała anty-C1q pojawiają się jako jedyne lub wcześniej niż anty-dsDNA. Jednoczesne oznaczenie obu typów przeciwciał pozwala ocenić ryzyko rozwoju toczniowego zapalenia nerek — nieobecność obu typów przeciwciał wiąże się z małym ryzykiem choroby nerek, podczas gdy ich obecność znacznie zwiększa prawdopodobieństwo wystąpienia nefropatii [4].

### CYTOKINY

Na podstawie dotychczas przeprowadzonych badań stwierdzono, że u pacjentów z toczniem rumieniowatym układowym ekspresja genów indukowanych przez interferon  $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ) jest silniej wyrażona. Zwiększona ekspresja genów zależnych od IFN- $\alpha$  w komórkach krwi obwodowej (monocytach i limfocytach), mierzona za pomocą reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR, *polymerase chain reaction*), jest jedną z najbardziej przydatnych metod oceny stężenia tej cytokiny w surowicy pacjentów.

Ekspresja genów indukowanych przez IFN- $\alpha$  jest osobniczo stabilna i odzwierciedla charakterystyczny dla danego chorego stan aktywacji złożonych szlaków sygnałowych [7]. Silna ekspresja genów indukowanych przez IFN- $\alpha$  występuje zwłaszcza podczas początkowych faz tocznia rumieniowatego układu. Jest także charakterystyczna dla ciężkich manifestacji choroby — wystąpienia nefropatii, zaburzeń hematologicznych oraz zajęcia ośrodkowego układu nerwowego [25]. W większości przeprowadzonych badań nie odnotowywano istotnych różnic pomiędzy wyjściową ekspresją tych genów a ekspresją podczas zaostrzeń choroby. Oznacza to, że silnie wyrażona ekspresja genów indukowanych przez IFN- $\alpha$  nie odzwierciedla aktualnych zmian klinicznych, ale stanowi czynnik rokowniczy ciężkości przebiegu tocznia rumieniowatego układu oraz pojawienia się określonych objawów, w tym zajęcia nerek [26].

W grupie chorych z toczniem rumieniowatym układowym stwierdza się wysokie stężenia cytokin, których wydzielanie jest stymulowane przez IFN- $\alpha$ , m.in. IL-6, IL-10, IL-15, IL-18 i TNF- $\alpha$  [27]. Predysponuje to do pojawiania się zaostrzeń choroby oraz występowania aktywnych zmian w nerkach [25]. Podwyższone stężenia cytokin wydają się lepszym niż IFN- $\alpha$  biomarkerem aktualnej aktywności choroby i wiążą się zarówno z większą aktywnością, jak i ciężkością przebiegu choroby, m.in. z zajęciem nerek, zapaleniem błon surowiczych, objawami hematologicznymi i neurologicznymi [27]. U pacjentów, u których stwierdzano wyższe stężenia cytokin, obserwowano obecność większej liczby kryteriów rozpoznania tocznia rumieniowatego układu (ACR) oraz istotne korelacje z klinicznymi i laboratoryjnymi wskaźnikami aktywności choroby, co potwierdza potencjalne możliwości wykorzystania tych wskaźników. Dowodzą tego również istotne statystycznie dodatnie korelacje pomiędzy stężeniami cytokin a wskaźnikiem SLEDAI, mianem przeciwciał anti-dsDNA i anty-Sm oraz ujemne ze stężeniami składowych dopełniacza i liczbą leukocytów. Jak wynika z większości publikacji, stężenia cytokin w surowicy i moczu to uznane wskaźniki aktywności tocznia układu, a w niektórych przypadkach toczniowego zapalenia nerek [27]. Jednak nie wszystkie doniesienia potwierdzają związek pomiędzy podwyższonym stężeniem określonych cytokin a obecnością i aktywnością nefropatii, a także ciężkością jej przebiegu [28].

Cytokiny, wydzielane przez aktywowane monocyty oraz limfocyty T, stymulują proliferację limfocytów T oraz wytwarzanie auto-przeciwciał. Wysokie stężenia IL-6, IL-10 oraz TNF- $\alpha$  obserwowano zarówno w mysich modelach tocznia, jak i u pacjentów z toczniowym zapaleniem nerek, stwierdzając silną korelację z aktywnością choroby [7]. Wydzielana przez monocyty i makrofagi IL-6 jest cytokiną pro-zapalną bezpośrednio uszkodzającą tkanki, wpływającą na proliferację komórek mezangium i rozwój nefropatii toczniowej. Ekspresję IL-6 i TNF- $\alpha$  w obrębie kłębuszków nerkowych potwierdzono badaniami immunofluorescencyjnymi przy użyciu monoklonalnych przeciwciał.

Za obiecujące wskaźniki aktywności tocznia układu oraz toczniowego zapalenia nerek uważa się również stężenia rozpuszczalnych receptorów dla interleukiny 2 (sIL-2R) oraz dla TNF (sTNFR). Potwierdzono silną korelację pomiędzy stężeniami sIL-2R a wskaźnikami aktywności tocznia rumieniowatego układu (m.in. SLEDAI) oraz wzrost stężeń sIL-2R podczas zaostrzeń choroby. Wykazano również związek pomiędzy stężeniami krążącego sTNFR a obecnością i aktywnością nefropatii oraz zajęciem układu nerwowego [7].

### RECEPTORY KINAZ TYROZYNOWYCH I ICH LIGANDY

W patogenezie tocznia rumieniowatego układu zasadniczą rolę odgrywają zaburzenia usuwania komórek apoptotycznych. Receptory kinaz tyrozynowych TAM (receptor 3 kinazy tyrozynowej — Tyro3, receptor 7 kinazy tyrozynowej — Tyro7/Axl oraz receptor 12 kinazy tyrozynowej występujący na monocytach Tyro12/Mer) regulują, jak się uważa, aktywność komórek dendrytycznych i makrofagów oraz procesy fagocytozy i apoptozy. Ligandy tych receptorów — specyficzne białko zatrzymania wzrostu (Gas6) i przeciwzakrzepowe białko S — poprzez aktywację receptorów TAM i wczesne wyeksponowanie na powierzchni komórek apoptotycznych, biorą udział w procesach apoptozy [7].

W opublikowanych dotychczas badaniach potwierdzono znaczenie receptorów kinaz tyrozynowych oraz ich ligandów jako wskaźników aktywności tocznia układu oraz toczniowego zapalenia nerek. Stężenia rozpuszczalnych receptorów kinaz tyrozynowych TAM (sTyro3, sAxl, sMer) były podwyższone u pacjentów z toczniem rumieniowatym układowym, a stężenia sMer najwyższe u pacjentów

►► Podwyższone stężenia cytokin wydają się lepszym niż IFN- $\alpha$  biomarkerem aktualnej aktywności choroby i wiążą się zarówno z większą aktywnością, jak i ciężkością przebiegu choroby, m.in. z zajęciem nerek, zapaleniem błon surowiczych, objawami hematologicznymi i neurologicznymi ◀◀

►► Stężenia cytokin w surowicy i moczu to uznane wskaźniki aktywności tocznia układu, a w niektórych przypadkach toczniowego zapalenia nerek ◀◀

z objawami zajęcia nerek. Stężenia tych wskaźników ulegały istotnemu obniżeniu podczas stosowanego leczenia [29].

Najwyższe stężenia białka Gas6 stwierdzano u chorych z ciężkim klinicznym przebiegiem tocznia — z zajęciem nerek, z obecnością zapalenia błon surowiczych, z zaburzeniami hematologicznymi i neurologicznymi. Wykazano dodatnie korelacje pomiędzy stężeniami białka Gas6 a wartościami wskaźnika SLE-DAI i stężeniami przeciwciał anti-dsDNA oraz ujemne z liczbą limfocytów i stężeniami składowych dopełniacza C3 i C4. Obniżone stężenia przeciwwązkowego białka S były natomiast charakterystyczne dla zapalenia błon surowiczych, objawów neurologicznych, hematologicznych i immunologicznych [30].

### **INNE WSKAŹNIKI, OZNACZANE W MOCZU: uTWEAK, uRANTES, uVCAM-1**

Białkiem posiadającym znaczenie w diagnostyce toczniowego zapalenia nerek jest stosunkowo niedawno opisany TNF — podobny induktor apoptozy (TWEAK, *tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis*), należący do rodziny TNF i odgrywający istotną rolę aktywatora apoptozy. Poprzez pobudzenie receptorów Fn14 i CD163 cytokina TWEAK indukuje reakcję zapalną w obrębie kłębuszków nerkowych i śródmiąższu, prowadzi do proliferacji komórek mezangium oraz przewlekłego włóknienia, a w konsekwencji rozwoju i progresji toczniowego zapalenia nerek [14]. W dotychczas przeprowadzonych badaniach wykazano wyższe stężenia TWEAK w moczu pacjentów z toczniowym zapaleniem nerek w porównaniu z chorującymi na toczeń bez zajęcia nerek, a także inne choroby autoimmunologiczne. Potwierdzono związek stężeń tej cytokiny z aktywnością nefropatii, mierzoną za pomocą rSLEDAI podczas długotrwałej obserwacji. Nie wykazano jednak różnic w stężeniach cytokiny TWEAK w zależności od rodzaju toczniowego zapalenia nerek. Nie stwierdzono również zależności pomiędzy stężeniami TWEAK a wielkością białkomoczu dobowego, co pozwala przypuszczać, że obecność TWEAK w moczu nie jest wynikiem

uszkodzenia błony filtracyjnej kłębuszka nerkowego, ale zależy przede wszystkim od lokalnej aktywności zapalnej komórek. Wyższe stężenia TWEAK stwierdzano podczas zaostrzeń choroby, a poziomy tej cytokiny pomagały różnicować tzw. zaostrzenia nerkowe od zaostrzeń dotyczących innych układów [7].

Cytokina TWEAK, poza wywoływaniem bezpośredniej reakcji zapalnej, pobudza również komórki mezangialne, śródłonka i podocyty do wydzielania prozapalnych cytokin, takich jak Il-6, MCP-1, chemokina RANTES (*regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted* — chemokina  $\beta$  syntetyzowana przez limfocyty T, wykazująca działanie prozapalne poprzez aktywację, chemotaksję i adhezję limfocytów) oraz cząsteczka adhezyjna komórek śródłonka 1 (VCAM-1, *vascular cell adhesion molecule 1*). W moczu pacjentów z aktywną nefropatią toczniową stężenia tych cytokin są podwyższone, podobnie jak stężenia TWEAK [14].

### **PODSUMOWANIE**

Pomimo wstępnych obiecujących wyników intensywnie prowadzonych badań nie potwierdzono przydatności żadnego z badanych wskaźników w prospektywnych badaniach przeprowadzonych w dużych grupach chorych, a do standardowej diagnostyki laboratoryjnej nie wprowadzono żadnej nowej metody. Możliwe, że rozwiązaniem będzie jednoczesne oznaczenie kilku biomarkerów, zarówno klasycznych, jak i nowych, i to właśnie okaże się w przyszłości najlepszym wskaźnikiem rokowniczym zajęcia nerek, oceny aktywności nefropatii i postaci toczniowego zapalenia nerek. Wymaga to jednak prowadzenia dalszych badań i coraz powszechniejszego oznaczania nowych wskaźników u pacjentów z toczniem rumieniowatym układowym, a szczególnie z potwierdzonym biopsyjnie toczniowym zapaleniem nerek. Określenie cech, na podstawie których będzie można w sposób nieinwazyjny przewidywać i monitorować aktywność choroby, umożliwi wczesną, a przez to skuteczniejszą optymalizację postępowania terapeutycznego.



## STRESZCZENIE

Poszukiwanie nowych wskaźników diagnostycznych, umożliwiających rozpoznanie i monitorowanie aktywności toczniowego zapalenia nerek jest aktualnie przedmiotem wielu badań. Biopsja nerki wciąż stanowi „złoty standard” diagnostyki, a rozpoznanie określonego typu nefropatii toczniowej ma wpływ na wybór schematu leczenia. W artykule przedstawiono wybrane klasyczne i nowe wskaźniki aktywności tocznia układowego i toczniowego zapalenia nerek, z uwzględnieniem biomarkerów najbardziej poszukiwanych — mających związek z rodzajem histopatologicznym nefropatii. Okre-

ślenie cech, na podstawie których będzie można w sposób nieinwazyjny przewidywać i monitorować aktywność choroby, mogłoby umożliwić wczesną, a przez to skuteczniejszą optymalizację postępowania terapeutycznego. Możliwe, że rozwiązaniem będzie jednoczasowe oznaczenie kilku wskaźników, zarówno klasycznych, jak i nowych, i to właśnie okaże się w przyszłości najlepszym wskaźnikiem rokowniczym zajęcia nerek, oceny aktywności nefropatii i postaci toczniowego zapalenia nerek.

**Forum Nefrologiczne 2014, tom 7, nr 2, 65–74**

**Słowa kluczowe: toczniowe zapalenie nerek, autoprzeciwciała, cytokiny, biopsja nerki**

- Petri M., Orbai A.M., Alarcón G.S. i wsp. Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2012; 64: 2677–2686.
- Perl A. Pathogenic mechanisms in systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity* 2010; 43: 1–6.
- Li Q.Z., Karp D.R., Quan J. i wsp. Risk factors for ANA positivity in healthy persons. *Arthritis Res. Ther.* 2011; 13: R38.
- Sherer Y., Gorstein A., Fritzler M.J., Shoenfeld Y. Autoantibody explosion in systemic lupus erythematosus: more than 100 different antibodies found in SLE patients. *Semin. Arthritis Rheum.* 2004; 34: 501–537.
- Liu C.C., Manzi S., Kao A.H. i wsp. Cell-bound complement biomarkers for systemic lupus erythematosus: from benchtop to bedside. *Rheum. Dis. Clin. North. Am.* 2010; 36: 161–172.
- Kalunian K.C., Chatham W.W., Massarotti E.M. i wsp. Measurement of cell-bound complement activation products enhances diagnostic performance in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2012; 64: 4040–4047.
- Jung J.Y., Bae C.B., Suh C.H. Promising biomarkers for systemic lupus erythematosus. *Expert Opin. Med. Diagn.* 2013; 7: 601–613.
- Griffiths B., Mosca M., Gordon C. Assessment of patients with systemic lupus erythematosus and the use of lupus disease activity indices. *Best Pract. Res. Clin. Rheumatol.* 2005; 19: 662–708.
- Hałoń A. Zmiany w nerkach w toczniu rumieniowatym układowym i innych chorobach autoimmunologicznych. *Pol. J. Pathol.* 2011; 1: S57–S71.
- Brunner H.I., Bennett M.R., Mina R. i wsp. Non-invasive renal protein biomarkers are associated with histological features of lupus nephritis. *Arthritis Rheum.* 2012; 64: 2687–2697.
- Marks S.D., Williams S.J., Tullus K. i wsp. Glomerular expression of monocyte chemoattractant protein-1 is predictive of poor renal prognosis in paediatric lupus nephritis. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2008; 23: 3521–3526.
- Sjőwall C., Zickert A., Skogh T. i wsp. Serum levels of autoantibodies against C-reactive protein correlate with renal disease activity and response to therapy in lupus nephritis. *Arthritis Research & Therapy* 2009; 11: 188.
- do Nascimento A.P., Viana Vdos S., Testagrossa Lde A. i wsp. Antibodies to ribosomal P proteins: a potential serologic marker for lupus membranous glomerulonephritis. *Arthritis Rheum.* 2006; 54: 1568–1572.
- Michaelson J.S., Wisniacki N., Burky L.C. i wsp. Role of TWEAK in lupus nephritis: A bench-to-bedside review. *Journal of Autoimmunity* 2012; 39: 130–142.
- Aizawa T., Imaizumi T., Tsuruga K. i wsp. Mizoribine selectively attenuates monocyte chemoattractant protein-1 production in cultured human glomerular mesangial cell: A possible benefit of its use in the treatment of lupus nephritis. *Nephrology* 2014; 19: 47–52.
- Abujam B., Cheekatla S.S., Aggarwal A. Urinary CXCL-10/IP-10 and MCP-1 as markers to assess activity of lupus nephritis. *Lupus* 2013; 22: 614–623.
- Pawar R.D., Pitashny M., Gindea S. i wsp. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin is instrumental in the pathogenesis of antibody-mediated nephritis in mice. *Arthritis Rheum.* 2012; 64: 1620–1631.
- Hammad A., Mosaad Y., Elhanbly S. i wsp. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a marker of severe lupus nephritis in children. *Lupus* 2013; 22: 486–491.
- Sjőwall C., Olin A.I., Skogh T. i wsp. C-reactive protein, immunoglobulin G and complement co-localize in renal immune deposits of proliferative lupus nephritis. *Autoimmunity* 2013; 46: 205–214.
- Tan Y., Yu F., Yang H. i wsp. Autoantibodies against monomeric C-reactive protein in sera from patients with lupus nephritis are associated with disease activity and renal tubulointerstitial lesions. *Human Immunology* 2008; 69: 840–844.
- Carmona-Fernandes D., Santos M.J., Canhã H. i wsp. Anti-ribosomal P protein IgG autoantibodies in patients with systemic lupus erythematosus: diagnostic performance and clinical profile. *BMC Med.* 2013; 11: 98.
- Yoshio T., Okamoto H., Onishi S. i wsp. Antiribosomal-P protein antibodies are associated with proliferative glomerulonephritis more strongly than with membranous glomerulonephritis in Japanese patients with systemic lupus erythematosus. *Mod. Rheumatol.* 2012; 22: 488–490.
- Miyake K., Akahoshi M., Nakashima H. i wsp. The subset balance in lupus nephritis. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 2011; 980286.

## Piśmiennictwo

24. Yin Y., Wu X., Shan G. i wsp. Diagnostic value of serum anti-C1q antibodies in patients with lupus nephritis: a meta-analysis. *Lupus* 2012; 21: 1088–1097.
25. Bronson P.G., Chaivorapol C., Ortmann W. i wsp. The genetics of type I interferon in systemic lupus erythematosus. *Current Opinion in Immunology* 2012; 24: 530–537.
26. Herbst R., Liu Z., Jallal B. i wsp. Biomarkers for systemic lupus erythematosus. *Int. J. Rheum. Dis.* 2012; 15: 433–444.
27. Bauer J.W., Petri M., Batliwalla F.M. i wsp. Interferon-regulated chemokines as biomarkers of systemic lupus erythematosus disease activity: a validation study. *Arthritis Rheum.* 2009; 60: 3098–3107.
28. Koenig K.F., Groeschl I., Pesickova S.S. i wsp. Serum cytokine profile in patients with active lupus nephritis. *Cytokine* 2012; 60: 410–416.
29. Recarte-Pelz P., Tassies D., Espinosa G. i wsp. Vitamin K-dependent proteins GAS6 and Protein S and TAM receptors in patients of systemic lupus erythematosus: correlation with common genetic variants and disease activity. *Arthritis Res. Ther.* 2013; 15: R41.
30. Wu C.S., Hu C.Y., Tsai H.F. i wsp. Elevated serum level of growth arrest-specific protein 6 (Gas6) in systemic lupus erythematosus patients is associated with nephritis and cutaneous vasculitis. *Rheumatol. Int.* 2013; Nov 1 [Epub ahead of print].