

Valutazione dell'integrità funzionale del rene trapiantato mediante spettroscopia a risonanza magnetica nucleare protonica (^1H RMN): studio in 49 pazienti con rene da cadavere

R. Bonofiglio¹, M. Nicoletta², N. De Napoli¹, G. Chidichimo²

¹ UO Nefrologia, Dialisi, Trapianto, Azienda Osp Annunziata, Cosenza

² Dipartimento Chimica, Università Calabria (UNICAL), Rende (CS)

Riassunto

Premesse. La spettroscopia a risonanza magnetica nucleare protonica (^1H RMN) è stata usata per definire il profilo metabolico urinario di pazienti portatori di rene trapiantato, non solo in corso di rigetto acuto, ma anche nel corso del normale follow-up ambulatoriale di pazienti con "buon trapianto" renale clinicamente definito e di quelli con rigetto cronico. Come gruppo di controllo sono stati utilizzati i campioni urinari provenienti da 20 volontari sani.

Metodi. I campioni di urina raccolti dal Febbraio 97 all'Aprile 2000 sono stati ottenuti da 49 pazienti a) n. 15 con buon trapianto; b) n. 21 con rigetto acuto confermato dalla biopsia renale; c) n. 13 con rigetto cronico (6 biopsicamente documentato e 7 con sola diagnosi clinica) sottoposti a trapianto con rene da cadavere. Inoltre, sono stati analizzati i campioni urinari ottenuti da 20 volontari sani. I campioni di urina sono stati raccolti una volta al mese durante il normale follow-up a lungo termine dei pazienti, mentre durante la crisi di rigetto acuto, i campioni sono stati raccolti a giorni alterni e fino alla completa risoluzione clinica (ritorno della creatinina plasmatica a valori pre rigetto). I campioni sono stati analizzati da una apparecchiatura Bruker MSL 300. Tutti i pazienti, anurici prima del trapianto, ricevevano terapia immunosoppressiva con Prednisone (5-10 mg/die), Ciclosporina A (microemulsione) per via orale (4-5 mg/die) e Azatioprina (50-75 mg/die).

Risultati. In tutti i 21 pazienti durante la crisi di rigetto acuto solo il Trimetilamino-N- Ossido (TMAO) era significativamente più alto nelle urine dopo 3 giorni dall'inizio della crisi (41.1 ± 18.9 mM) sia rispetto ai pazienti con buon trapianto (4.59 ± 18.9 mM) ($p = 0.000000$) che rispetto ai controlli (5.33 ± 3.7 mM) ($p = 0.000000$). Inoltre il Citrato era significativamente basso dopo 3 giorni ($p = 0.00001$) sia rispetto ai controlli che ai pazienti con buon trapianto. Dopo 15 giorni dall'inizio della crisi di rigetto il TMAO ricompariva a concentrazioni simili a quelle dei controlli e del buon trapianto, mentre il Citrato rimaneva significativamente basso solo rispetto ai controlli ($p = 0.00003$) e non rispetto ai pazienti con buon trapianto. Nel gruppo dei pazienti con rigetto cronico il TMAO era significativamente più elevato sia rispetto ai controlli ($p = 0.01$) che rispetto al buon trapianto (0.007). Il Citrato era significativamente più basso rispetto ai controlli ($p = 0.0005$) mentre era simile alla concentrazione di citrato riscontrata nel gruppo di pazienti con buon trapianto ($p = 0.53$). Questi dati suggeriscono che il rigetto acuto è associabile ad un danno midollare che causa il rilascio di TMAO nelle urine. Inoltre, la significativa riduzione del Citrato urinario in pazienti con trapianto renale ben funzionante suggerisce di ridefinire, non solo il significato del termine buon trapianto, quanto di verificare se la riduzione cronica del Citrato urinario nel buon trapianto, nel rigetto cronico e durante la crisi di rigetto acuto possa trovare qualche spiegazione nell'ipossia indotta dalla ischemia cronica dovuta alla Ciclosporina.

Conclusioni. Questo studio mostra che la spettroscopia ^1H RMN è un potente mezzo non invasivo per lo studio dell'integrità funzionale dell'organo in corso di trapianto renale.

PAROLE CHIAVE: Spettroscopia a risonanza magnetica nucleare protonica (^1H RMN), Trapianto

Graft function monitoring through Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (^1H NMR). Study of 49 cadaveric transplant patients

Background. Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (^1H NMR) was employed to define the metabolic urinary profile in kidney transplant patients. The study involved not only patients with acute rejection, but also those with clinically good graft function and normal follow-up and those with chronic rejection. Urinary samples from 20 healthy volunteers were employed as controls.

Patients and Methods. Urine samples, collected from February 97 to April 2000, were obtained from 49 patients with cadaveric renal transplantation: a) 15 with good graft function; b) 21 with acute rejection confirmed by renal biopsy; c) 13 with chronic rejection (6 documented by biopsy and 7 by clinical diagnosis only). Urinary samples from 20 healthy volunteers were also considered. Samples were collected once in a month at normal long-term follow-up, while during acute rejection, they were taken every other day until clinical resolution (plasma creatinine values as before rejection). Samples were analysed through Bruker MSL 300. All the patients were anuric before transplantation and received Prednisone (5-10 mg/die), oral Cyclosporin A (microemulsion) (4-5 mg/die) and Azathioprine (50-75 mg/die) as immunosuppressive therapy.

Results. In the 21 patients with acute rejection, only urine Trimethylamine-N- Oxide (TMAO) was significantly higher 3 days after the rejection episode ($41,1 \pm 18,9$ mM) as compared to both patients with good graft function ($4,59 \pm 18,9$ mM) ($p = 0,000000$) and controls ($5,33 \pm 3,7$ mM) ($p = 0,000000$). Moreover citrate was significantly lower after 3 days ($p = 0,00001$) as compared to both controls and patients with good graft function. Fifteen days after rejection TMAO concentrations were again similar to those of controls and patients with good graft function, while citrate was still significantly lower as compared to controls only ($p = 0,00003$) and not to patients with good graft function. In patients with chronic rejection TMAO was significantly higher as compared both to controls ($p = 0,01$) and patients with good graft function ($0,007$). Citrate was significantly lower than controls ($p = 0,0005$) while it was similar to the concentration found in patients with good graft function ($p = 0,53$). These data suggest that acute rejection may be associated to a medullary damage causing the release of TMAO in the urine. The remarkable reduction of urinary citrate in patients with good graft function suggests that the term good graft function should be redefined. Moreover, it should be assessed if the chronic reduction of urinary Citrate in patients with good graft function, chronic rejection and acute rejection may be explained through hypoxia induced by Cyclosporin chronic ischemia.

Conclusions. This study shows that ^1H NMR Spectrometry is a powerful non invasive technique allowing the assessment of good graft function in renal transplantation. (*Giorn It Nefrol* 2001; 18: 343-50)

KEY WORDS: Proton Nuclear Magnetic Resonance (^1H NMR), Renal transplant
