

Glomerulonefriti e sclerosi renale: nuove proposte terapeutiche

R. Coppo¹, P. Menè²

¹Indirizzo di Nefrologia Pediatrica, Università degli Studi di Torino, SC Nefrologia, Dialisi e Trapianto Ospedale Regina Margherita, Torino

²Dipartimento di Scienze Cliniche, Università degli Studi di Roma "La Sapienza" UOC Nefrologia Azienda Ospedale Sant'Andrea, Roma

Glomerulonephritis and renal sclerosis: New therapeutic proposals

The treatment of immuno-mediated glomerulonephritides is presently based upon a limited series of drugs. Albeit evidence-based medicine relies solely upon controlled trials, there is a need to follow new perspectives with an open mind, since they may lead to tomorrow's therapy. Several original and innovative approaches to treat inflammatory glomerular diseases have been recently reported, including drugs designed to limit the effect of pro-inflammatory and pro-sclerotic cytokines (recombinant monoclonal antibodies, receptor antagonists, gene therapy providing viral transfection of genes, antisense oligonucleotides, aptamers, inhibition of transcription factors, active immunization). Moreover, newer options are being proposed, as in the case of enhancing natural anti-inflammatory cytokines or intracellular signalling limiting inflammation. Some of these proposals, which are briefly reviewed in this article, are likely to enter soon clinical investigation and to become in the next future standard treatment for glomerular diseases. (G Ital Nefrol 2004; 21: 217-24)

KEY WORDS: Glomerulonephritis, Sclerosis, Cytokine, Gene therapy, Renal failure

PAROLE CHIAVE: Glomerulonefriti, Sclerosi, Citochine anti-infiammatorie, Terapia genica, Insufficienza renale

Commento dell'Editore

Il futuro della terapia delle glomerulopatie potrebbe essere l'impiego di farmaci che riducono o regolano la risposta infiammatoria che è alla base del processo patogenetico delle malattie glomerulari.

Introduzione

Induzione e progressione del danno renale sono state oggetto di intensi studi e importanti progressi nelle ultime decadi. Nonostante questo, la terapia delle glomerulonefriti (GN) immuno-mediate è ancora empirica, con alcuni principi fondamentali, quali ad esempio:

1) Ridurre la pressione arteriosa fino al limite della sopportabilità, soprattutto se il paziente è proteinurico (1, 2).

2) Ridurre la proteinuria con ogni mezzo, tra cui gli inibitori dell'angiotensina (ANG II) sono la via più semplice e priva di effetti collaterali (2-4).

3) Utilizzare steroidi in alcune forme, quali GN membranose (5), glomerulosclerosi focali (6), nefropatie a depositi IgA (7), indipendentemente dagli aspetti infiammatori attivi renali e dai processi patogenetici, ma basandosi sulla sola proteinuria.

4) Immunosoppressori, ciclosporina e micofenolato usati in modo vario e spesso senza linee-guida definite.

Questa semplificazione della terapia, che non è priva di insuccessi e di effetti collaterali severi, è mortificante per la fantasia e l'intelligenza del Nefrologo e rischia di essere tanto banale – indipendente come è dalle specifiche istologiche e da ogni traccia di criterio patogenetico – al punto di scavalcare le competenze del Nefrologo e fare il gioco dell'Internista, che con poche nozioni specifiche può sentirsi in grado di prescrivere una terapia non criticabile. Appare opportuno costituire una "lobby Nefrologica", basata su un gradino di conoscenze più elevate per applicare le terapie del futuro, più sofisticate e selettive. Con l'obiettivo di essere pronto per terapie innovative, il Nefrologo deve superare una certa barriera di ostilità nei confronti dei mec-

TABELLA I - PRINCIPALI CLASSI DI CITOCHINE E CHEMOCINE DI RILEVANZA NELLE NEFROPATIE ACUTE E CRONICHE

- Interleuchine: IL-1, IL-2, IL-3, IL-6
- Interferoni: IFN- α , IFN- γ
- Tumor necrosis factor: TNF- α , TNF- β , Fas-ligand
- Superfamiglia Transforming growth factor: TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3
- Bone morphogenetic protein (BMP)-4, BMP-6, BMP-7
- Fattori di crescita: Platelet-Derived Growth Factor (PDGF), Epidermal Growth Factor (EGF), Fibroblast Growth Factor (FGF), Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), Hepatocyte Growth Factor-Scatter Factor (HGF-SF)
- Chemochine: CCR3, CCR4, CCR5, CXCR3, IL-8, Monocyte Chemotactic Protein-1 (MCP-1), RANTES

canismi molecolari alla base della patogenesi del danno renale e della progressione. Le nuove terapie sono mirate su questi meccanismi, e nonostante le difficoltà ad acquisire dati definitivi, metteranno probabilmente a disposizione del Clinico strumenti terapeutici efficaci ed irrinunciabili. È tuttavia necessaria una certa pazienza, perché la strada è lunga e complessa, e la conoscenza procede a piccoli passi, relegando l'identificazione di terapie avanzate delle GN ad un futuro che può non essere ancora immediato.

Scopo della revisione

È opportuno che i Nefrologi italiani – anche quelli non in continuo contatto con le ultime novità “immunonefrologiche” – vengano a conoscenza degli sviluppi delle possibilità terapeutiche delle GN, al momento spesso solo proposte, non escludendo che fra queste siano comprese alcune che faranno parte del futuro arsenale nefrologico.

Schema sintetico delle principali citochine

Le citochine sono molecole proteiche o glicoproteiche che agiscono come messaggeri fra cellula e cellula (8). Sono coinvolte in processi di crescita, differenziazione e senescenza cellulare, riparazione e rimodellamento tissutale, regolazione delle risposte immunitarie (immunità nativa e acquisita). Le citochine comprendono varie classi di composti, brevemente riassunte in Tabella I, tra cui interleuchine (IL-1-13), interferoni (IFN- α e γ), la superfamiglia del TNF (fattore tumorale di necrosi), la superfamiglia del transforming growth factor- β (TGF- β 1-3); inoltre i numerosi fattori di crescita finora identificati, come platelet-derived growth factor (PDGF), vascular endothelial growth factor (VEGF), hepatocyte growth factor (HGF), fibroblast growth factor (FGF), etc, e le chemochine, divi-

se in 4 sottogruppi (CCR3-5 e CXCR3).

Sotto l'azione delle chemochine della famiglia CCR5 e CXCR3, di IFN- α e IL-2 i linfociti Th0 differenziano in Th1 e secernono le citochine caratteristiche di questa sottopopolazione (IFN- γ , TNF- α , IL-2) (Tab. I).

Per azione delle chemochine della classe CCR3 e CCR4, di IL-4 e IL-10 i Th0 differenziano in Th2 e secernono IL-4, IL-5, IL-10, IL-13.

Le citochine Th1 inibiscono naturalmente i Th2 e viceversa. I macrofagi attivati da Th1 producono IL-1, TNF- α , IL-6, e le chemochine IL-8, RANTES e MCP-1. I Th2 e le citochine da essi prodotte attivano i linfociti B, eosinofili e basofili.

Breve rivisitazione dei meccanismi patogenetici delle glomerulonefriti immuno-mediate e dell'evoluzione in fibrosi renale

Le GN infiammatorie immuno-mediate sono caratterizzate da infiltrazione glomerulare di linfomonociti attivati che localmente liberano citochine e enzimi degradanti la matrice (9-11). Contemporaneamente le cellule mesangiali si attivano, proliferano e/o vanno in necrosi e liberano mediatori pro-infiammatori e sclerogenici. Questa sequenza di eventi può essere innescata da immunocomplessi depositati o da anticorpi che reagiscono con strutture glomerulari o con antigeni esogeni intrappolati nel mesangio. In altri casi l'evento iniziale non è identificabile, e spesso l'eziopatogenesi si ricollega alla presenza di autoanticorpi anti-antigeni citoplasmatici dei neutrofili (ANCA). Altre GN immunomediate non hanno aspetti infiammatori, e sono presumibilmente legate ad anomalie genetiche o acquisite di proteine di struttura dei podociti.

La presenza di depositi immuni di immunoglobuline e complemento nei glomeruli attiva la sintesi di una serie di mediatori che inducono infiammazione e sclerosi. Le cellule mesangiali esprimono recettori per il complemento attivato (CR1), immunoglobuline (FcR), citochine e chemochine. All'attivazione di tali recettori consegue la sintesi di vari mediatori, di cui i più significativi sono IL-1, IL-6, PDGF, TNF- α , TGF- β , oltre a chemochine quali IL-8, RANTES e MCP-1. In parallelo la cellula mesangiale va incontro ad una reazione ossidativa con liberazione di specie reattive dell'O $_2$, di derivati del metabolismo dell'acido arachidonico (prostaglandine, leucotrieni, trombossani) e di altre molecole vasoattive (endotelina, platelet activating factor/PAF, inibitore dell'attivatore del plasminogeno/PAI, ossido nitrico) (11). Molti di questi prodotti hanno l'effetto di aumentare il richiamo di linfomonociti circolanti che, pervenuti in sede glomerulare, amplificano ulteriormente la rete di sintesi delle citochine.

Simultaneamente vengono messi in atto meccanismi di limitazione dell'infiammazione e della produzione di matrice con sintesi di citochine antinfiammatorie (IL-4,

IL-10, IL-13), eicosanoidi anti-infiammatori, antiossidanti e metalloproteinasi.

La progressione del danno renale è determinata dalla persistenza dell'evento iniziante, con attivazione delle cellule glomerulari, danno ossidativo ed apoptosi, sbilanciamento dei processi di sintesi/ degradazione della matrice extracellulare, e sclerosi glomerulare. Accanto a questi eventi, altri operanti a livello tubulare determinano infiammazione tubulo-interstiziale, transdifferenziazione mio-fibroblastica e fibrosi interstiziale. Fra questi la proteinuria, di per sé capace di attivare le cellule tubulari con liberazione di mediatori pro-infiammatori e pro-sclerotici (12). L'ANG II è certamente protagonista nella progressione del danno renale, non solo perché favorisce l'ipertensione e l'iperfiltrazione glomerulare, ma anche perché induce la trascrizione di chemochine, quali IL-8, RANTES e MCP-1 (13).

Nel determinismo dell'esito finale un ruolo chiave hanno i meccanismi di riparazione del danno, evidenti nelle nefriti acute ed insufficienti in quelle croniche (14).

Test di verifica

1) I linfociti Th1 secernono:

- IFN γ , TNF α , IL-2
- IL-4, IL-5, IL-10, IL-13
- Il transforming growth factor (TGF β 1-3)
- Le chemochine (IL-8, MCP-1)
- Non secernono citochine.

2) I metaboliti vasoattivi dell'acido arachidonico comprendono:

- Endotelina
- Platelet activating factor
- Prostaglandine
- Ossido nitrico / NO
- PAI.

3) Le cellule mesangiali esprimono recettori per:

- Chemochine
- Citochine
- Complemento
- Immunoglobuline
- Tutti i precedenti.

La risposta corretta alle domande sarà disponibile sul sito internet www.sin-italia.org/gin e sul prossimo numero del Giornale cartaceo

Terapia anti-citochinica

Il network di citochine prodotte da cellule residenti renali ed infiltranti rappresenta certo uno dei meccanismi di induzione e perpetuazione del danno renale. È evidente quindi l'interesse nefrologico per nuovi farmaci quali

quelli diretti a regolare le citochine che sono maggiormente coinvolte nella nefritogenesi. I risultati eccezionali che si sono registrati nel trapianto di rene dopo l'introduzione di anticorpi monoclonali (MAb) diretti contro i recettori dell'IL-2 (basiliximab e daclizumab) hanno esteso la speranza di possibile applicazione di questi farmaci anche alle GN immuno-mediate.

La terapia anti-citochinica si basa sull'uso di farmaci diretti contro le citochine pro-infiammatorie o l'utilizzo di citochine ad azione anti-infiammatoria.

Inibizione di citochine pro-infiammatorie

Questo effetto può essere raggiunto attraverso vari approcci:

1) Anticorpi neutralizzanti. Facili da ottenere, hanno il difetto di essere immunogeni se ottenuti in animali, problema che si è sensibilmente ridotto con i monoclonali ricombinanti umani, come dimostrato dagli ottimi risultati nel trapianto.

2) Antagonisti naturali o costruiti (es. antagonisti di recettori). Si tratta di una modalità elegante ma che necessita di grandi quantità di proteina ricombinante. È infatti stata affrontata con l'aiuto della terapia genica.

3) Interferenza con le vie intracellulari di trasmissione dello stimolo. È una via che ha aperto molte prospettive, perché i bloccanti sono piccoli composti chimici facilmente sintetizzabili. Problematica resta al momento la selezione degli eventi inibiti, spesso troppo poco mirata.

4) Terapia genica. Indica l'induzione di transitoria o permanente (iper)espressione di un gene a livello sistemico od organo-specifico, finalizzata a compensare una deficienza o a fornire un antagonista di una molecola coinvolta nel processo patogenetico (15). La terapia è ancora spesso problematica per difficoltà ad ottenere un'espressione regolata e persistente del trascritto desiderato. Trasferimento mediante vettori virali, elettroporazione delle cellule, microiniezione diretta, introduzione di oligodesossinucleotidi (ODN) antisense sono tecnologie valide in cellule isolate, molto limitate *in vivo* nell'animale o nell'uomo, anche per la scarsa persistenza della transfezione, l'immunogenicità dei vettori virali e l'incidenza di effetti collaterali (16).

5) Aptameri. Non si legano a DNA o RNA attraverso il codice genetico, ma in un modo sterico (17). Si tratta di piccole molecole che si collocano all'interno di una struttura tridimensionale di DNA o RNA con un legame stabile e la inibiscono. Hanno il problema della piccola taglia e facile eliminabilità, per cui sono utilizzati spesso legati a larghe molecole quali il polietilenglicole (PEG). Hanno il vantaggio di non essere immunogeni.

6) Immunizzazione attiva. Inducendo anticorpi specifici attraverso la somministrazione di derivati immunogenici delle citochine, è considerata da alcuni la possibile via del futuro (18).

Alcuni di questi possibili approcci sono stati provati nell'animale in modelli di GN immuno-mediata, pochi sono già in fase di applicazione nell'uomo, tutti sono ad altissimo interesse per la potenziale prossima attuabilità.

Sono di seguito passati in rassegna i più promettenti risultati sperimentali ottenuti, che hanno acceso forti aspettative per terapie innovative delle GN a breve termine.

Anti-PDGF

In GN sperimentali con proliferazione mesangiale indotta da anticorpi diretti contro un antigene delle cellule mesangiali (anti-Thy 1.1) sono stati ottenuti risultati interessanti utilizzando un aptamero di DNA legato a PEG disegnato per inibire l'azione del PDGF (19, 20). Due somministrazioni al giorno di tale aptamero inducevano una riduzione del 95% della proliferazione delle cellule mesangiali tipica del modello di GN da anti-Thy 1.1. Recentemente i risultati sono stati confermati con uso di anticorpi monoclonali ricombinanti umani diretti contro le due isoforme del PDGF (B e D) (21). Negli USA sono in fase di allestimento trial di terapia della IgAN con farmaci inibenti il PDGF, che si presentano come una verosimile reale arma del futuro.

Anti-MCP-1

Un'altra molecola che gioca un ruolo chiave nelle GN sia nella fase acuta di essudazione glomerulare che nella fase cronica di infiltrazione linfomonocitaria interstiziale con fibrosi interstiziale è MCP-1. Notevole interesse è rivolto all'approccio terapeutico diretto contro questa chemochina. I risultati però finora sono stati ancora troppo poco sensibili: in modelli sperimentali da anticorpi anti-membrana basale glomerulare (anti-GBM) nel ratto l'uso di anticorpi anti MCP-1 determinava una riduzione del 30% dei monociti infiltranti e del 60% della proteinuria al 4° giorno, ma l'effetto scompariva nei giorni successivi, evidentemente per un fenomeno di attivazione di vie alternative (22).

Anti-TGF-β1

Il TGF-β1 è certamente il più noto mediatore profibrotico glomerulare e tubulo-interstiziale. Sono state tentate diverse vie di blocco della sintesi o dell'attività del TGF-β1 nelle nefropatie sia primitive che secondarie (Tab. II).

a. Terapia genica con molecole bloccanti il TGF-β1 (decorina o recettori del TGF-β1)

Una interessante possibilità di blocco dell'attività del TGF-β1 è quella che sfrutta l'inattivazione naturale di que-

TABELLA II - STRATEGIE CORRENTI DI ANTAGONISMO DEL TGF-β1

- Iperespressione decorina, biglicano (terapia genica nel muscolo scheletrico)
- Iperespressione del dominio extracellulare del recettore II per il TGF-β1
- Competizione PAI-1 endogeno mediante PAI-1R (analogo ricombinante non inibente l'attivatore del plasminogeno)
- Anticorpi monoclonali anti-TGF-β1
- Blocco transizione epitelio-mesenchimale con BMP-7
- Oligonucleotidi antisense anti-trombospondina 1 (attivatore del TGF-β1)
- Antagonismo con HGF-SF (fattore di differenziamento epiteliale tubulare)
- Antagonisti recettoriali angiotensina II (stimolo per il TGF-β1)

sta citochina da parte di molecole leganti il TGF-β1 quali decorina e biglicano. Poiché queste molecole sono rapidamente eliminate, è stata disegnata una terapia genica che ne permette una iperespressione continua. L'idea originale di aumentare nel muscolo scheletrico l'espressione di decorina per adsorbire l'eccesso di TGF-β1 circolante (23), ha aperto la strada a numerosi studi sperimentali anche in campo nefrologico. Fra questi, il trasferimento genico mediato da adenovirus del tratto extracellulare del recettore del TGF-β1 (tipo II) nel muscolo scheletrico ha mostrato capacità di bloccare la proteinuria e il danno renale progressivo nel modello di nefrite anti-GBM (24). Il tentativo di trasferire direttamente nel rene, tramite vettori adenovirali, il recettore II del TGF-β1 ha però avuto un effetto solo transitorio di inibizione della proteinuria in un modello murino di LES, poiché l'attività di malattia renale alla fine prende il sopravvento sull'effetto antifibrotico (25).

b. Blocco degli effetti del TGF-β1 attraverso l'inibizione di intermediari del processo di fibrogenesi

Poiché il TGF-β1 necessita di attivazione da parte di proteasi come la trombospondina-1 (TSP-1), un'interessante strategia è rappresentata da oligonucleotidi antisense contro il TSP-1 (26). Quando trasferiti efficacemente nella maggior parte dei glomeruli di reni perfusi *in vivo*, determinano inibizione dei segnali distali al TGF-β1 e blocco della trascrizione di geni di matrice extracellulare.

Un altro approccio interessante è quello di blocco dell'inibitore dell'attivatore del plasminogeno (PAI), che fisiologicamente impedisce l'azione di generazione di plasmina dal plasminogeno e quindi la degradazione della matrice extracellulare, la cui sintesi è aumentata sotto l'azione del TGF-β1. L'inibizione funzionale del PAI attraverso una sua forma mutata (PAI-1R) facilita la generazione di plasmina e, aumentando il turnover della matrice, riduce proteinuria e progressione verso la sclerosi in modelli di GN sperimentali. Il PAI-1 è un importante intermedio della risposta al TGF-β1, e le strategie interferenti a questo livello sembrano poter bloccare funzionalmente la fibrogenesi nel rene (27).

Anche gli antagonisti dell'angiotensina II (ANG II-RA) agiscono a livello del bilancio sintesi/degradazione di matrice su cui agisce il TGF- β 1. Studi sperimentali indicano la possibilità di bloccare la fibrosi anche successivamente alla sua comparsa, aprendo interessanti prospettive sul fenomeno della regressione della sclerosi renale (28).

c. Anticorpi monoclonali contro il TGF- β 1 e oligodesossinucleotidi antisense

È stato recentemente osservato che ANG II-RA combinati con Ab monoclonali bloccanti il TGF- β 1 nel modello sperimentale del ratto uninefrectomizzato reso diabetico con streptozotocina contrastavano proteinuria e progressione del danno renale (29).

Ab monoclonali anti TGF- β 1 attenuavano la nefrotossicità da ciclosporina indotta in ratti (30) ed oligodesossinucleotidi antisense per il TGF- β e si sono dimostrati validi nel prevenire la fibrosi interstiziale in modelli sperimentali di ostruzione ureterale monolaterale (31).

Anti-TNF

In molte malattie reumatologiche, e particolarmente nell'artrite reumatoide, sta entrando in uso il trattamento diretto contro il TNF, sia in forma di anticorpi monoclonali anti-TNF (infliximab) (32) che in forma di proteina di fusione (etanercept) (33), costruita dalla porzione extracellulare del recettore del TNF legata ad una IgG.

Questi farmaci si sono dimostrati utili in GN sperimentali rapidamente progressive, dove hanno inibito la formazione di semilune (34), e in ceppi murini sviluppati spontaneamente lupus eritematoso sistemico (35). Appare particolarmente interessante la recente segnalazione di riduzione dei livelli di proteina C reattiva e della creatinina dopo somministrazione di infliximab in GN rapidamente progressive umane (Simposio ASN 2003, San Diego). Gli inibitori del TNF stanno suscitando molto interesse, soprattutto dopo la preliminare segnalazione di successo nel trattamento della granulomatosi di Wegener (36). In pazienti con malattia attiva che avevano ricevuto l'etanercept in aggiunta a varie combinazioni di terapie standard, gli indici di attività hanno mostrato una riduzione significativa, permettendo una riduzione della dose giornaliera di prednisone. È in corso un trial controllato dell'NIH sull'uso di etanercept (enbrel) nella granulomatosi di Wegener, ed è ipotizzabile che questa terapia diventi presto di uso corrente.

Anti-IL-1

Analogamente agli inibitori del TNF, anche gli inibitori dell'IL-1 sono stati utilizzati con successo in reumatologia (37). La forma ricombinante umana del recettore solubile

dell'IL-1 che inibisce la trasmissione del messaggio della citochina alla cellula, ha consentito anche interessanti risultati preliminari nel trattamento di pazienti con sepsi (38). Molto interessante si profila la possibilità di inibire contemporaneamente TNF ed IL-1, poiché si tratta delle due citochine maggiormente prodotte da monociti-macrofagi e cellule mesangiali durante l'attivazione da GN immunomediata (34). Al momento attuale l'uso combinato dei due farmaci è risultato troppo gravato da effetti collaterali per essere trasferito alla terapia corrente: la possibilità futura di limitare al solo rene come organo-bersaglio gli effetti di questi farmaci permetterà forse di sfruttarne i notevoli vantaggi teorici.

Anti IL-6

Un trial NIH attualmente in corso è stato disegnato per valutare l'utilità del Mab MRA che blocca l'azione dell'IL-6, citochina che aumenta la sintesi di anticorpi ed è coinvolta nella proliferazione mesangiale e nell'infiammazione del LES.

Test di verifica

1) La terapia anti-PDGF è teoricamente utile per:

- GN a lesioni minime
- GN proliferativa mesangiale ad IgA
- GN rapidamente progressiva
- Nefrite lupica
- Nefropatia diabetica.

2) In quale delle seguenti condizioni potrebbero avere impiego clinico gli inibitori del TNF?

- GN mesangiale proliferativa
- Glomerulopatia membranosa
- Glomerulosclerosi focale
- Granulomatosi di Wegener
- Tutte le precedenti.

3) Anticorpi monoclonali anti-TNF sono correntemente utilizzati in:

- Epatite virale da HCV
- Lupus eritematoso sistemico
- Sindrome di Goodpasture
- Artrite reumatoide
- Connettivite mista.

La risposta corretta alle domande sarà disponibile sul sito internet www.sin-italia.org/gin e sul prossimo numero del Giornale cartaceo

Uso di citochine ad effetto anti-infiammatorio

Un altro approccio teoricamente molto interessante è l'impiego di citochine che agiscono naturalmente contro il processo infiammatorio, quali l'IL-4, IL-10, IL-13 o modeste dosi di TG- β 1.

IL-4 e IL-10

In modelli sperimentali di GN da anticorpi anti GBM la somministrazione precoce di IL-4 e IL-10 riduce la proteinuria, l'infiltrazione macrofagica e la formazione di semilune (39). Buoni risultati sono stati ottenuti nell'animale da esperimento con approcci di terapia genica con iniezione intraparenchimale renale di adenovirus veicolante IL-10 (40).

Nel modello di GN proliferativa mesangiale da anticorpi anti-Thy 1.1 la somministrazione di IL-10 ha prodotto una significativa riduzione della proliferazione mesangiale (41).

HGF-SF

L'hepatocyte growth factor-scatter factor (HGF-SF) ha attirato l'attenzione di molti studiosi a causa della proprietà di stimolare la proliferazione ordinata delle cellule in forma di tubuli o strutture ramificate (42), che potrebbe essere rilevante nella rigenerazione di tubuli renali o strutture vascolari. Attuando un trasferimento genico dell'HGF-SF nel muscolo scheletrico con tecnica di elettroporazione (43, 44), è stata trattata con successo la fibrosi renale conseguente a nefrectomia 5/6 nel ratto. I risultati sono stati amplificati in modelli sperimentali animali di nefropatia ostruttiva co-trattati con ANG II-RA (45), o attraverso contemporanea inibizione del TGF- β 1.

Nel modello di diabete indotto da streptozotocina la somministrazione di HGF-SF deprime la sintesi di TGF- β 1, la proteinuria e la sclerosi renale, anche in presenza di livelli di glucosio persistentemente elevati (46).

Attivatori di meccanismi anti-infiammatori endogeni

I recettori dei perossisomi attivati (PPARs) rappresentano potenti mezzi endogeni di limitazione della cascata infiammatoria, poiché inducono la sintesi di fattore di inibizione dell'NF- κ B, I κ B ed inibiscono il sistema Fos/Jun del fattore trascrizionale AP-1. Molto interessanti sono i farmaci rivolti a stimolare i PPARs, derivati di acidi grassi e agenti farmacologici del gruppo dei fibrati e del glitazone. L'effetto antiinfiammatorio del troglita-

zone è stato dimostrato nella nefropatia diabetica, dove si è ottenuta una rilevante riduzione della proliferazione mesangiale (47). Interessante l'effetto ottenuto nella glomerulosclerosi non diabetica (48) e in GN rapidamente progressive sperimentali (49). Poiché i fattori trascrizionali inibiti dai PPARs giocano un ruolo fondamentale nell'attivazione di una larga serie di citochine pro-infiammatorie e pro-sclerotiche implicate nelle GN, i PPARs sono stati considerati nuovi target nel trattamento delle malattie renali.

Test di verifica

1) La somministrazione di interleuchina-10 può:

- Inibire una GN proliferativa mesangiale
- Accelerare una GN proliferativa mesangiale
- Ridurre la sclerosi mesangiale
- Ridurre la fibrosi interstiziale
- Nessuna delle precedenti.

2) Hepatocyte growth factor (HGF) stimola:

- Glomerulosclerosi e fibrosi interstiziale
- Glomerulonefrite mesangiale
- Tubulogenesi
- Proliferazione mesangiale
- Proliferazione endoteliale.

3) I recettori dei perossisomi attivati (PPARs) hanno effetti:

- Antiinfiammatori
- Antitrascrizionali
- Antisclerotici
- Tutti i precedenti
- Nessuno dei precedenti.

La risposta corretta alle domande sarà disponibile sul sito internet www.sin-italia.org/gin e sul prossimo numero del Giornale cartaceo

Conclusioni

Una notevole mole di dati sperimentali promette novità nella gestione clinica delle GN nella fase attiva e nella progressione verso la fibrosi. Naturalmente esistono anche posizioni critiche, che ricordano come nonostante si parli regolarmente di nuove terapie per le GN, nulla di sostanziale sia stato presentato dopo l'introduzione del cortisone e degli ACE-inibitori. Lo scetticismo è facile, ma è tuttavia difficile contestare il fatto che 30 anni fa la sopravvivenza di un trapianto renale era di pochi mesi, e che la prospettiva è cambiata drammaticamente in pochi anni. È quindi legittimo ritenere che anche quello che può sembrare non realistico al momento si tradurrà verosimilmente in realtà entro pochi anni. Se si considera poi

come la ricerca nefrologica impieghi solo una frazione modesta del budget riservato alla ricerca sul cancro o su malattie più "visibili", si dovrebbe prestare maggiore attenzione quando i ricercatori prospettano nuove e migliori terapie, un piccolo prezzo da pagare per un futuro sicuramente migliore.

Riassunto

La terapia delle glomerulopatie su base immunologica è attualmente basata su un ristretto numero di farmaci. Se è vero che l'"evidence-based medicine" impone scelte cliniche e terapeutiche sulla base esclusiva di trial controllati e risultati consolidati, è anche vero che è indispensabile tenersi aggiornati sulle nuove prospettive da cui potrebbe nascere la terapia nefrologica di domani. Sono stati recentemente proposti approcci originali ed innovativi, quali terapie dirette contro citochine particolarmente attive nel processo di nefritogenesi e di progressione sclerotica del danno renale (con anticorpi ricombinanti, inibitori recettoriali, terapia genica con trasfezione virale o con oligodeossinucleotidi antisense, aptameri, inibitori dei meccanismi trascrizionali e immunizzazione attiva), e sono all'orizzonte possibilità alternative di attivare meccanismi endogeni antinfiammatori o aumentare la disponibilità di citochine anti-infiammatorie. È possibile che in un tempo

più o meno vicino alcune di queste proposte, che sono qui passate in rapida rassegna, superino lo stadio di sperimentazione negli animali ed entrino nella pratica nefrologica corrente.

Ringraziamenti

Questo lavoro è stato sostenuto in parte da finanziamenti MIUR-Ricerche di Facoltà e Ateneo (2000-2002).

Indirizzo degli Autori:
Prof.ssa Rosanna Coppo
Nefrologia, Dialisi e Trapianto
Ospedale Regina Margherita
Piazza Polonia, 94
10127 Torino
e-mail: nefrologia@oirmsantanna.piemonte.it

Prof. Paolo Menè
Dipartimento di Scienze Cliniche
Università degli Studi di Roma "La Sapienza"
Viale del Policlinico, 155
00161 Roma
e-mail: Paolo.Mene@uniroma1.it

Bibliografia

1. Bakris GL, Weir MR, Shanifar S, et al. RENAAL Study Group. Effects of blood pressure level on progression of diabetic nephropathy: results from the RENAAL study. *Arch Intern Med* 2003; 163: 1555-65.
2. Jafar TH, Stark PC, Schmid CH, et al. AIPRD Study Group. Progression of chronic kidney disease: the role of blood pressure control, proteinuria, and angiotensin-converting enzyme inhibition: a patient-level meta-analysis. *Ann Intern Med* 2003; 139: 244-52.
3. Nakao N, Yoshimura A, Morita H, et al. Combination treatment of angiotensin-II receptor blocker and angiotensin-converting-enzyme inhibitor in non-diabetic renal disease (COOPERATE): a randomised controlled trial. *Lancet* 2003; 361: 117-24.
4. Ruggenti P, Perna A, Remuzzi G. GISEN Group Investigators. Retarding progression of chronic renal disease: the neglected issue of residual proteinuria. *Kidney Int* 2003; 63: 2254-61.
5. 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: 444-50.
6. Hiraoka M, Tsukahara H, Matsubara K, et al. West Japan Cooperative Study Group of Kidney Disease in Children. A randomized study of two long-course prednisolone regimens for nephrotic syndrome in children. *Am J Kidney Dis* 2003; 41: 1155-62.
7. Pozzi C, Andrulli S, Del Vecchio L, et al. Corticosteroid effectiveness in IgA nephropathy: long-term results of a randomized, controlled trial. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 157-63.
8. Thomson A. *The Cytokine Handbook* (4th ed). New York Academic Press, pp. 1-18.
9. Anderson S, Tank JE, Brenner BM. Renal and systemic manifestations of glomerular disease. In: Brenner and Rector's. *The Kidney*. 6th Edition, Philadelphia: WB Saunders, 2000; pp. 1871-00.
10. Cattel V, Jennette JC. Mechanisms of acute inflammatory and immunologic renal injury. In: JC Jennette, JL Olson, MM Schwartz, FG Silva (eds.); *Heptinstall's Pathology of the Kidney*. 5th Edition, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1998; pp. 85-136.
11. Ardaillou R, Ronco P, Rondeau E, Friedlander G. Biology of renal cells in culture. In: Brenner and Rector's *The Kidney*. 6th Edition, Philadelphia: WB Saunders, 2000; pp. 93-191.
12. Abbate M, Zoja C, Corna D, et al. In progressive nephropathies, overload of tubular cells with filtered proteins translates glomerular permeability dysfunction into cellular signals of interstitial inflammation. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9: 1213-24.
13. Wolf G. Molecular mechanisms of angiotensin II in the kidney: emerging role in the progression of renal disease: beyond haemodynamics. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 1131-42.
14. Menè P, Polci R, Festuccia F. Mechanisms of repair after kidney injury. *J Nephrol* 2003; 16: 186-95.
15. Prockop DJ, Gregory CA, Spees JL. One strategy for cell and gene therapy: harnessing the power of adult stem cells to repair

- tissues. Proc Natl Acad Sci (USA) 2003; 100 (Suppl 1): 11917-23.
16. Eikmans M, Baelde JJ, de Heer E, Bruijn JA. ECM homeostasis in renal diseases: a genomic approach. J Pathol 2003; 200: 526-36.
 17. Famulok M. Molecular recognition of amino acids by RNA-aptamers: an L-citrulline binding RNA motif and its evolution into an L-arginine binder. J Am Chem Soc 1994; 116: 1698-706.
 18. Zagury D, Le Buanec H, Bizzini B, et al. Active versus passive anti-cytokine antibody therapy against cytokine-associated chronic diseases. Cytokine Growth Factor Rev 2003; 14: 123-37.
 19. Floege J, Ostendorf T, Janssen U, et al. Novel approach to specific growth factor inhibition *in vivo*: antagonism of platelet-derived growth factor in glomerulonephritis by aptamers. Am J Pathol 1999; 154: 169-79.
 20. Floege J, Ostendorf T, Janjic N. Aptamers: novel tools for specific intervention studies. Nephrol Dial Transplant 1999; 14: 1354-7.
 21. Ostendorf T, van Roeyen CR, Peterson JD, et al. A fully human monoclonal antibody (CR002) identifies PDGF-D as a novel mediator of mesangioproliferative glomerulonephritis. J Am Soc Nephrol 2003; 14: 2237-47.
 22. Fujinaka H, Yamamoto T, Takeya M, et al. Suppression of anti-glomerular basement membrane nephritis by administration of anti-monocyte chemoattractant protein-1 antibody in WKY rats. J Am Soc Nephrol 1997; 8: 1174-8.
 23. Isaka Y, Brees DK, Ikegaya K, et al. Gene therapy by skeletal muscle expression of decorin prevents fibrotic disease in rat kidney. Nat Med 1996; 2: 418-23.
 24. Zhou A, Ueno H, Shimomura M, et al. Blockade of TGF-beta action ameliorates renal dysfunction and histologic progression in anti-GBM nephritis. Kidney Int 2003; 64: 92-101.
 25. Haviv YS, Takayama K, Nagi PA, et al. Modulation of renal glomerular disease using remote delivery of adenoviral encoded soluble type II TGF-beta receptor fusion molecule. J Gene Med 2003; 5: 839-51.
 26. Daniel C, Takabatake Y, Mizui M, et al. Antisense oligonucleotides against thrombospondin-1 inhibit activation of TGF-beta in fibrotic renal disease in the rat *in vivo*. Am J Pathol 2003; 163: 1185-92.
 27. Huang Y, Haraguchi M, Lawrence DA, et al. A mutant, non inhibitory plasminogen activator inhibitor type 1 decreases matrix accumulation in experimental glomerulonephritis. J Clin Invest 2003; 112: 326-28.
 28. Boffa JJ, Lu Y, Placier S, et al. Regression of renal vascular and glomerular fibrosis: role of angiotensin II receptor antagonism and matrix metalloproteinases. J Am Soc Nephrol 2003; 14: 1132-44.
 29. Benigni A, Zoja C, Corna D, et al. Add-on anti-TGF-beta antibody to ACE inhibitor arrests progressive diabetic nephropathy in the rat. J Am Soc Nephrol 2003; 14: 1816-24.
 30. Islam M, Burke JF Jr, McGowan TA, et al. Effect of anti-transforming growth factor-beta antibodies in cyclosporine-induced renal dysfunction. Kidney Int 2001; 59: 498-506.
 31. Isaka Y, Tsujie M, Ando Y, et al. Transforming growth factor-beta 1 antisense oligodeoxynucleotides block interstitial fibrosis in unilateral ureteral obstruction. Kidney Int. 2000; 58: 1885-92.
 32. EMEA Public statement on infliximab (remicade). February 2002 (<http://www.eudra.org/humandocs/humans/EPAR/remicade/remicade.htm>)
 33. Weinblatt ME, Kremer JM, Bankhurst AD, et al. A trial of etanercept, a recombinant tumor necrosis factor receptor: Fc fusion protein, in patients with rheumatoid arthritis receiving methotrexate. N Engl J Med 1999; 340: 253-9.
 34. Karkar AM, Koshino Y, Cashman SJ, et al. Passive immunization against tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha) and IL-1 beta protects from LPS enhancing glomerular injury in nephrotoxic nephritis in rats. Clin Exp Immunol 1992; 90: 312-8.
 35. Edwards CK 3rd, Zhou T, Zhang J, et al. Inhibition of superantigen-induced proinflammatory cytokine production and inflammatory arthritis in MRL-lpr/lpr mice by a transcriptional inhibitor of TNF-alpha. J Immunol 1996; 157: 1758-72.
 36. Stokes DG, Kremer JM. Potential of tumor necrosis factor neutralization strategies in rheumatologic disorders other than rheumatoid arthritis. Semin Arthritis Rheum 2003; 33: 1-18.
 37. Taylor PC. Antibody therapy for rheumatoid arthritis. Curr Opin Pharmacol 2003; 3: 323-8.
 38. Dinarello CA. Anti-cytokine therapies in response to systemic infection. J Investig Dermatol Symp Proc 2001; 6: 244-50.
 39. Tipping PG, Kitching AR, Huang XR, et al. Immune modulation with interleukin-4 and interleukin-10 prevents crescent formation and glomerular injury in experimental glomerulonephritis. Eur J Immunol 1997; 27: 530-7.
 40. Higuchi N, Maruyama H, Kuroda T, et al. Hydrodynamics-based delivery of the viral interleukin-10 gene suppresses experimental crescentic glomerulonephritis in Wistar-Kyoto rats. Gene Ther 2003; 10: 1297-310.
 41. Kitching PG, Katerelos M, Mudge SJ, et al. Interleukin-10 inhibits experimental mesangial proliferative glomerulonephritis. Clin Exp Immunol 2002; 128: 36-43.
 42. Matsumoto K, Nakamura T. Hepatocyte growth factor: renotropic role and potential therapeutics for renal diseases. Kidney Int 2001; 59: 2023-38.
 43. Tanaka T, Ichimaru N, Takahara S, et al. *In vivo* gene transfer of hepatocyte growth factor to skeletal muscle prevents changes in rat kidneys after 5/6 nephrectomy. Am J Transplant 2002; 2: 828-36.
 44. Matsuno Y, Iwata H, Umeda Y, et al. Hepatocyte growth factor gene transfer into the liver via the portal vein using electroporation attenuates rat liver cirrhosis. Gene Ther 2003; 10: 1559-66.
 45. Yang J, Dai C, Liu Y. Hepatocyte growth factor gene therapy and angiotensin II blockade synergistically attenuate renal interstitial fibrosis in mice. J Am Soc Nephrol 2002; 13: 2464-77.
 46. Mizuno S, Nakamura T. Suppressions of chronic glomerular injuries and TGF-beta 1 production by HGF in attenuation of murine diabetic nephropathy. Am J Physiol Renal 2004; 286: F134-43.
 47. Fujii M, Takemura R, Yamaguchi M, et al. Troglitazone (CS-045) ameliorates albuminuria in streptozotocin-induced diabetic rats. Metabolism 1997; 46: 981-3.
 48. Ma LJ, Marcantoni C, Linton MF, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonist troglitazone protects against nondiabetic glomerulosclerosis in rats. Kidney Int 2001; 59: 1899-910.
 49. Haraguchi K, Shimura H, Onaya T. Suppression of experimental crescentic glomerulonephritis by peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)gamma activators. Clin Exp Nephrol 2003; 7: 27-32.