

**XII SESSIONE COMUNICAZIONI – METABOLISMO CALCIO FOSFORO
SALA AMARCORD**

Sabato, 11 Ottobre 2008 – ore 11.15-12.25

ASSOCIAZIONE TRA I POLIMORFISMI DELLE METALLOPROTEINASI 1 E 3 E LA MORTALITÀ NEI PAZIENTI IN DIALISI

Cozzolino M, Biondi ML, Galassi A, Turri O, Melzi D'Eril GV, Gallieni M, Brancaccio D
Cattedra di Nefrologia e di Biochimica-Microbiologia, Università di Milano, AO San Paolo, Milano

Introduzione. Le calcificazioni vascolari e l'aterosclerosi accelerata sono tra le cause più frequenti di patologia cardiovascolare e di mortalità nei pazienti in dialisi. Le "matrix metalloproteinases" (MMPs) sono una famiglia di enzimi che hanno un ruolo importante nel riassorbimento della matrice extracellulare e nella patogenesi dell'aterosclerosi e delle calcificazioni vascolari. In particolare, MMP1 e MMP3 sono colocalizzate soprattutto con il calcio e i depositi di fibrina nelle placche aterosclerotiche di arterie coronariche calcificate. Recentemente, è stato dimostrato come i polimorfismi di MMP1 (2G/2G) e di MMP3 (6A/6A) siano associati ad aumentata calcificazione a livello coronarico e a stenosi carotidea.

Scopi. In questo studio abbiamo analizzato la possibile associazione tra i polimorfismi di MMP1 e MMP3, il rischio di sviluppare ESRD (end-stage renal disease) e la mortalità in una popolazione di pazienti in emodialisi.

Pazienti e metodi. 99 pazienti emodializzati e 133 soggetti sani (controlli) sono stati studiati e seguiti per un periodo di 3 anni. I pazienti in trattamento emodialitico standard per tre volte alla settimana, avevano le seguenti caratteristiche: età di 64 ± 13 anni, sesso maschile 64%, diabete mellito 24%, ipertensione arteriosa 62%, fumatori 38%, dislipidemia 28%.

Risultati. L'ESRD non si associava ai singoli polimorfismi di MMP1, 2G/2G ($p=0.09$), e di MMP3, 6A/6A ($p=0.20$), ma era fortemente associata alla combinazione di 2G/2G e 6A/6A: OR 2.46 (0.95-6.6), $p=0.038$. Le analisi dei singoli genotipi di MMP1, 2G/2G: OR 2.60, (1.29-5.23) $p=0.008$, e di MMP3, 6A/6A: OR 2.49 (1.19-5.23) $p=0.016$, erano associati al rischio di mortalità per tutte le cause indipendentemente da età, sesso, diabete, ipertensione, fumo, dislipidemia e storia di eventi cardio-vascolari. Inoltre, la combinazione di 2G/2G e 6A/6A raddoppiava il rischio di mortalità nello stesso modello di analisi multivariata: OR 5.12 (1.34-19.47) $p=0.017$.

Conclusioni. Questo studio evidenzia come i pazienti in emodialisi abbiano una diversa distribuzione dei genotipi per MMP1 e MMP3 rispetto alla popolazione di controllo con funzionalità renale normale. I polimorfismi di MMP1 e di MMP3 potrebbero rappresentare un nuovo fattore prognostico negativo per il processo di aterosclerosi accelerata e per la mortalità dei pazienti in dialisi.

1

patogenesi della malattia. La biopsia presentava nefrocalcinosi e una piccola placca di Randall a livello papillare. Le cellule papillari messe in coltura hanno mostrato un comportamento assolutamente anomalo, dando origine spontaneamente a un fenomeno di transdifferenziamento verso la linea osteogenica con formazioni di noduli di fosfato di calcio.

Conclusioni. Sono stati ottenuti importanti risultati sulle basi genetiche e molecolari di MSK con questo studio: 1) l'aver scoperto in alcuni pazienti varianti di sequenza di GDNF con effetto patogenetico indica che MSK è un disordine dello sviluppo con una forte componente genetica; 2) l'evidenza che casi sporadici sono invero casi familiari per la presenza di fenotipi intermedi clinicamente asintomatici suggerisce che MSK è una malattia a bassa penetranza con espressione variabile; 3) il transdifferenziamento in coltura delle cellule renali papillari in cellule osteogeniche non solo indica la possibile patogenesi di MSK, ma mette in luce un nuovo meccanismo cellulare e molecolare di nefrocalcinosi e formazione della placca di Randall.

2

RENE CON MIDOLLARE A SPUGNA (MSK): MUTAZIONI DEL FATTORE DI CRESCITA GDNF FUNZIONALMENTE RILEVANTI PER L'INSORGENZA DELLA NEFROPATIA

Anglani F¹, Torregrossa R¹, Del Prete D¹, Ceol M¹, Mezzabotta F¹, Tiralongo E¹, Fabris A², Lupo A², Romano P³, Oliosi F³, D'Angelo A³, Gambaro G²

¹Laboratorio di Istomorfologia e Biologia Molecolare del Rene, Clinica Nefrologica, Università di Padova, Padova; ²Divisione di Nefrologia, Dipartimento di Scienze Biomediche e Chirurgiche, Università di Verona, Verona; ³Clinica Nefrologica, Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche, Università di Padova, Padova

Introduzione. Sulla base di nostre recenti osservazioni cliniche (associazione di MSK con malformazioni renali e iperparatiroidismo) abbiamo ipotizzato che MSK sia la conseguenza di un disturbo dell'interfaccia "gemma ureterale-blastema metanefrico" e che il fattore neurotrofico GDNF e il suo recettore principale RET ne possano essere coinvolti.

L'approccio dei geni candidati che abbiamo adottato per studiare le basi genetiche di MSK ci ha permesso di individuare in 7 pazienti non relati mutazioni in eterozigosi di GDNF.

Scopo. Determinare se le mutazioni trovate sono *disease-causing mutations* o alleli di suscettibilità.

Materiali e metodi. Analisi della frequenza degli alleli GDNF nella popolazione generale (125 campioni di sangue da cordone ombelicale), studi di associazione caso-controllo (85 pazienti nefrolitici senza MSK di età, sesso e provenienza geografica comparabili ai casi), analisi di segregazione. Studi istopatologici e di espressione genica nella biopsia renale di un paziente con MSK e mutazione GDNF, studi *in vitro* su cellule papillari provenienti dalla biopsia renale.

Risultati. Nei 7 pazienti 3 sono le varianti nucleotidiche trovate, 2 delle quali nella regione non codificante del gene (-45G>C e IVS2+18G>A) e una nella regione codificante (R93W) e presenti in quattro pazienti come allele complesso (-45G>C e IVS2+18G>A) e in tre come allele semplice (IVS2+18G>A e R93W). La frequenza dell'allele complesso e dell'allele con mutazione intronica sono risultate < 1%. Lo studio di associazione caso-controllo ha evidenziato una frequenza significativa nei pz MSK dell'allele complesso ($p=0.023$). In tre famiglie gli alleli GDNF segregano con la malattia, confermando una eziologia genetica di MSK, deponendo per una eredità di tipo autosomico dominante, evidenziando inoltre che i casi familiari possano essere più frequenti di quanto supposto. La mutazione R93W, la cui patogenicità è nota in quanto presente in pz con malattia di Hirschsprung, con sindrome da ipoventilazione centrale congenita, con feocromocitoma e spesso in associazione a mutazioni o polimorfismi funzionali del gene RET, come nel caso da noi trovato, conferma il ruolo di GDNF in MSK. L'asportazione del carcinoma renale in uno dei membri asintomatici delle famiglie con MSK ci ha permesso di approfondire la

(segue)

LIVELLI DI VITAMINA D E RISCHIO DI MORTALITÀ E DI PROGRESSIONE DELLA MALATTIA RENALE NEI PAZIENTI CON MALATTIA RENALE CRONICA (CKD)

Pecchini P¹, Ravani P¹, Tripepi G², Mallamaci F², Cutropi S², Pizzini P², Zoccali C², Malberti F¹

¹Divisione di Nefrologia e Dialisi, Azienda Istituti Ospitalieri di Cremona, Cremona; ²IBIM-CNR, Epidemiologia Clinica e Fisiopatologia delle Malattie Renali e dell'Ipertensione Arteriosa, Reggio Calabria

Introduzione. Il deficit di Vitamina D (VD) si associa ad aumentato rischio di morte precoce nei pazienti incidenti in emodialisi. Non è noto se tale relazione sia presente anche nei soggetti con CKD in fase pre-dialitica.

Metodi. Tutti i pazienti incidenti riferiti ad un ambulatorio dedicato alla CKD sono stati arruolati tra il 2002 e il 2003, e seguiti fino al 1/1/2008 o alla data di decesso. I partecipanti dovevano avere un GFR stimato (formula MDRD) <90 ml/min/1.73m² ed essere clinicamente stabili. I livelli basali di 25-idrossi-Vit. D3 (25-VitD) sono stati misurati con RIA. La regressione di Cox è stata utilizzata per stimare gli effetti dei livelli di 25-VitD sul rischio di dialisi e morte (modello dei rischi competitivi). Il modello ha tenuto conto di variabili "tempo-indipendenti" (caratteristiche cliniche, GFR basale, fattori di rischio tradizionali), e valori "tempo-dipendenti" di GFR, proteinuria, 1,25-VitD plasmatica, fosfatemia, calcemia, PTH, proteina C reattiva, fibrinogeno, omocisteina, e terapie concomitanti.

Risultati. Sono stati arruolati 168 soggetti (età media 70 ± 12 anni, 63% maschi, 25% dialettici, 57% con pregressa m. cardiovascolare (CV)). Nessun paziente era in trattamento con supplementi di VD. I livelli basali di 25-VitD (21.2 ± 11 ng/ml) correlavano direttamente con il GFR (33.5 ± 16.9 ml/min/1.73m²; $r=0.22$, $P=0.003$). Dopo un follow-up medio di 48 mesi, 48 soggetti hanno iniziato la dialisi e 78 sono deceduti (66% per cause CV). Livelli basali maggiori di 25-VitD si associavano a minor rischio di dialisi e di morte [Hazard Ratio per 1 ng/ml=0.94, IC al 95%, 0.92-0.97]. Nel modello finale livelli basali di 25-VitD superiori alla mediana (18 ng/ml) predicavano un minor rischio di dialisi e di morte anche tenendo conto di altri potenziali confondenti [HR 0.58, 95% CI 0.40, 0.84].

Conclusioni. Nei soggetti con CKD i livelli plasmatici di 25-VitD rappresentano un predittore indipendente di progressione della malattia renale e di mortalità. Sono necessari studi clinici randomizzati per verificare l'impatto clinico del trattamento del deficit di vitamina D.

3

EFFETTI DELLA TERAPIA PROLUNGATA CON CALCITRIOLO (1,25) SU FGF23 E SUL METABOLISMO CALCIO-FOSFORO (Ca-P) NELL'IRC

David S, Alameddine R, Pioli S, Bianco V, Gambaretto C, Modica V

Dipartimento Clinica Medica, Nefrologia e Scienze della Prevenzione, Università di Parma, Parma

Introduzione. FGF23 controlla la fosforemia aumentando la fosfaturia (Pu) e limitando l'assorbimento intestinale di P per riduzione dei livelli di calcitriolo (1,25). P aumenta tardivamente nell'insufficienza renale cronica (IRC) in quanto l'aumento di FGF23 mantiene il bilancio di P in pareggio. La terapia con 1.25 può causare iperfosforemia alterando il nuovo equilibrio metabolico anche per inibizione del PTH. Gli effetti integrati dei fattori di regolazione di P nei pazienti affetti da insufficienza renale cronica in terapia con 1.25 non sono stati tuttavia ancora studiati.

Scopi. Valutare in pazienti con IRC gli effetti sul bilancio di P della somministrazione prolungata di 1,25 a basse dosi, in funzione delle variazioni di PTH e FGF23. I due ormoni si modificano infatti in senso opposto in seguito alla somministrazione di calcitriolo e l'effetto finale non è prevedibile.

Pazienti e metodi. 61 pazienti (età 67 ± 11 aa.) con IRC stadio 3-4 NKF, PTH elevato e/o ipocalcemia sono stati randomizzati in due gruppi, uno trattato con calcitriolo per os (TRATT) a dosi variabili da 0.25 a 0.50 mcg/die, titolati in base ai valori target di Ca, P e PTH, e l'altro non trattato con calcitriolo (PLACE). Sono stati esclusi i pazienti iperfosforemici e quelli in terapia con vitamina D o chelanti del P. La dieta raccomandava 0.8 g/kg di proteine e esclusione di cibi ricchi di P. Il metabolismo Ca-P è stato indagato all'inizio (T0) e dopo 6 mesi (T6).

Risultati. P (a T0= 3.5 ± 0.7 mg/dl) e Pu (a T0= 680 ± 240 mg/die) non variano a T6 nei due gruppi. La frazione escreta (Fe) di P a T6 aumenta in TRATT, ma non nel gruppo PLACE. Ca (9 ± 0.5 mg/dl a T0) aumenta solo in TRATT (9.3 ± 0.4 mg/dl). Il PTH si riduce in TRATT ma non in PLACE. FGF23 (a T0= 102 ± 68 pg/ml) rimane invariato nel gruppo PLACE (99 ± 10 pg/ml) ma aumenta in TRATT a 173 ± 20 pg/ml. L'ANOVA "mixed effect" ha confermato la significatività ($p < 0.001$) della differenza tra i gruppi. In TRATT si è osservato un solo episodio transitorio di ipercalcemia e 2 casi di fosforemia compresa tra 5 e 5.4 mg/dl.

Conclusioni. Lo studio conferma per la prima volta il ruolo di FGF23 nella regolazione del bilancio di P dopo somministrazione prolungata di calcitriolo nell'uomo. L'attivazione dell'ormone ha impedito l'aumento di P per aumento di Fe, pur a fronte di una riduzione del PTH. Nella popolazione considerata non è stato necessario ricorrere a diete severamente ipofosforiche né a chelanti del P se non sporadicamente. Non si può tuttavia escludere il rischio di ipercalcemia né quello di iperfosforemia in caso di aumenti rilevanti dell'apporto dietetico di P.

4