

LA SCLEROSI GLOMERULARE MECCANISMI PATOGENETICI E POSSIBILITÀ DI REGRESSIONE

T. Faraggiana, C. Giannakakis

Dipartimento di Medicina Sperimentale, Università "La Sapienza", Roma

Glomerulosclerosis: pathogenetic mechanisms and possibility of regression

Glomerular sclerosis means an increase in the extracellular matrix of the glomerulus. It is a complex, heterogeneous phenomenon with multiple cellular and biochemical mechanisms and different morphological patterns, depending on a variety of local and systemic factors.

The term as such does not indicate the quantity nor the type of components of the deposited matrix.

The amount of extracellular matrix increases in three types of events:

- *matrix deposition in areas that were destroyed by a necrotizing process (scars following glomerular necrosis);*
- *matrix deposition in glomerular regions where matrix is normally found (mesangium, glomerular basement membranes) as seen in diabetic nephropathy;*
- *matrix deposition inside or around collapsing capillaries involving the entire glomerulus or a segment of it (focal segmental glomerular sclerosis with nephrotic syndrome).*

Knowledge of the diverse morphological patterns producing glomerular sclerosis and the cellular and molecular mechanisms involved is essential for obvious reasons: they represent the rationale for any therapy aimed at preventing or reducing the progression of sclerosis and can provide a starting point to determine which forms are, at least potentially, reversible. (G Ital Nefrol 2008; 25: (Suppl. S44) S27-32)

Conflict of interest: None

KEY WORDS:

Extracellular matrix, Nephroangiosclerosis, Focal segmental sclerosis

PAROLE CHIAVE:

Matrice extracellulare, Nefroangiosclerosi, Sclerosi focale e segmentaria, Sclerosi post-necrotica

✉ Indirizzo degli Autori:

Tullio Faraggiana
Dipartimento di Medicina Sperimentale
Sapienza Università di Roma
Viale Regina Elena, 324
00161 Roma
Tullio.faraggiana@uniroma1.it

INTRODUZIONE

Letteralmente sclerosi glomerulare significa aumento della matrice extracellulare nel glomerulo. Il termine non indica di per sé né il tipo né la quantità di componenti della matrice depositati. Nel corso del tempo si è diffusa la convinzione che tutte le malattie evolutive del glomerulo, anche se tra loro diverse per patogenesi e aspetti morfologici, esitino in un'unica condizione: la sclerosi. Poiché la funzione e la struttura glomerulare sono strettamente connesse a quelle del comparto tubulo interstiziale, la sclerosi glomerulare negli stadi finali di molte nefropatie è spesso sbrigativamente indicata con il termine anglosassone di "end stage".

Già dai primi studi di nefropatologia di inizio '900 era evidente che non tutti i processi di sclerosi sono uguali, ma le osservazioni sono rimaste isolate perché

non rivestivano interesse clinico: uno dei punti fermi degli studi morfofunzionali è infatti che il processo di sclerosi è un fenomeno essenzialmente irreversibile.

Negli ultimi anni però il progressivo affinamento delle metodiche di indagine morfologica, la comprensione di alcune relazioni fondamentali tra cellula e matrice, le prime evidenze della possibile reversibilità di alcuni casi di sclerosi glomerulare, hanno indotto a considerare la sclerosi glomerulare un fenomeno complesso, molto eterogeneo, sotteso da molteplici meccanismi cellulari e biochimici e da differenti quadri morfologici modulabili da svariati fattori locali e sistemici.

Questa breve revisione vuole solo illustrare in maniera del tutto elementare l'esistenza di diversi tipi di sclerosi glomerulare, portare alcuni esempi di meccanismi patogenetici, esaminare la eventualità che la sclerosi sia reversibile e le condizioni che devono essere sod-

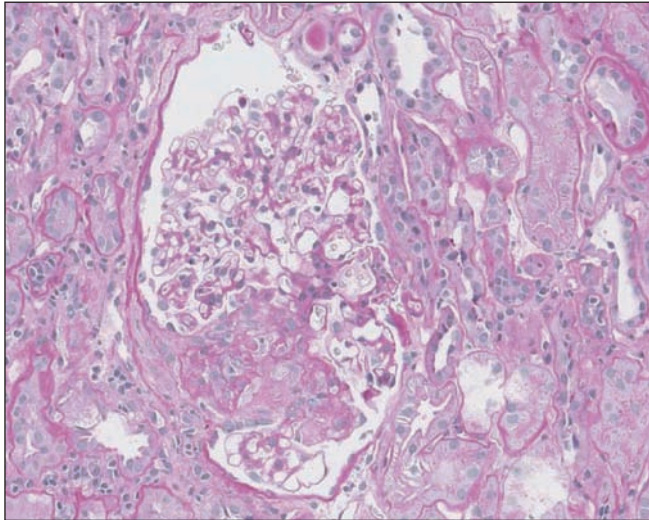


Fig. 1 - Glomerulo con sclerosi segmentale postnecrotica. La lesione ha molte somiglianze con la forma primitiva, ma si osservi l'interruzione della parete glomerulare e del profilo di alcune anse capillari (PAS, x 100).

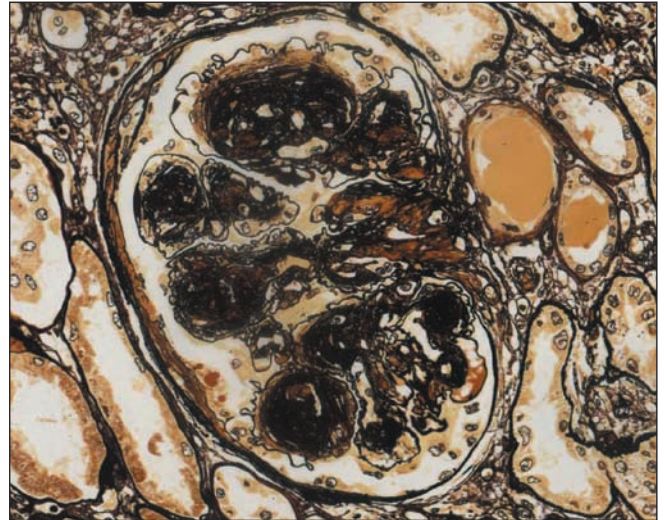


Fig. 2 - Glomerulosclerosi diabetica. Si nota la cospicua deposizione della matrice mesangiale, ma la preservazione della architettura del convoluto capillare (PASM, x 100).

disfatte perché ciò sia, almeno teoricamente, possibile.

Per chiarire schematicamente ciò che accade in un glomerulo quando aumenta la quantità di matrice extracellulare, si possono indicare inizialmente tre tipologie di eventi:

- 1) La matrice cellulare si deposita in sostituzione di aree glomerulari che sono state distrutte da un processo necrotizzante che ha cancellato le connessioni e i reciproci rapporti tra le sue componenti (mesangio, capillari, ecc.). Il fenomeno è analogo a quello della cicatrice postnecrotica riparativa, mediata dalla flogosi, che si verifica in altri organi (cute, miocardio, ecc.). L'esempio più tipico è quello della sclerosi segmentaria, esito cicatriziale di glomerulite necrotizzante, (anch'essa spesso focale e segmentaria), che caratterizza le vasculiti microscopiche (granulomatosi di Wegener, Sindrome di Churg e Strass, ecc.) o le malattie sistemiche (LES) o le forme più gravi di nefropatia da IgA (Fig. 1).
- 2) L'aumento di matrice extracellulare si verifica in regioni del glomerulo dove essa è normalmente presente (mesangio e membrane basali capillari). Si ha cioè una preservazione della struttura di base del glomerulo e delle connessioni tra le sue varie componenti. È un po' come dire che il glomerulo rimane topologicamente invariato. Gli esempi più tipici sono quelli che si osservano nella nefropatia diabetica, nella amiloidosi e in alcune fasi delle nefrectomie subtotali o della oligomeganefronia. Caratteristica di questo tipo di sclerosi è anche la gradualità o meglio la continuità delle trasformazioni morfologiche (Fig. 2).
- 3) La matrice cellulare si deposita all'interno o attorno a gruppi più o meno ampi di capillari collassati:

questo fenomeno coinvolge l'intero glomerulo nell'involuzione ischemica della nefroangiosclerosi benigna o solo alcuni cotiledoni nei casi di sclerosi glomerulare focale e segmentaria primitiva con sindrome nefrosica. Anche in questo caso la sclerosi glomerulare si verifica senza che intervenga una fase flogistica, ma è improvvisa e discontinua.

In molti studi morfofunzionali sulle cause e la progressione della sclerosi glomerulare questi tipi di sclerosi sono stati spesso considerati sovrapponibili e ciò ha causato qualche confusione.

La cognizione dei diversi e non assimilabili percorsi morfologici con cui si produce la sclerosi glomerulare e i meccanismi cellulari e molecolari che ne sono alla base, anch'essi molteplici e complessi, è essenziale per ovvi motivi: rappresentano il razionale per qualunque intervento terapeutico mirante a prevenire o a ridurre la progressione della sclerosi e possono fornire un punto di partenza per stabilire se esistono e quali sono le forme almeno potenzialmente reversibili.

Le tre forme schematiche di sclerosi glomerulare che abbiamo elencato hanno eziologia molto diverse fra loro. Anche gli eventi cellulari e molecolari coinvolti sono in gran parte diversi, ma nelle fasi finali di deposizione di matrice (collagenica e non) vi sono meccanismi comuni. Si tratta di fenomeni complessi estesamente studiati ma in parte ancora da chiarire. Nella vastissima letteratura sono disponibili molte eccellenti review che analizzano vari aspetti delle relazioni cellula matrice nelle malattie croniche renali e nella sclerosi in generale e alle quali si rimanda (1-4). Qui verranno presentati solo alcuni accenni su aspetti meno frequentemente trattati.

Nelle malattie caratterizzate da fase infiammatoria o necrotizzante e o trombotica, la sclerosi che consegue,

come già accennato, ha molte analogie con i processi cicatriziali. La lesione inizia quando le cellule endoteliali danneggiate rilasciano mediatori della flogosi che danno inizio a una cascata anti fibrinolitica, degranulazione piastrinica e trombosi capillare. La produzione di metalloproteinasi della matrice distrugge la membrana basale e si deposita fibrina nello spazio di Bowman. L'infiltrazione di macrofagi (indotta da chemoattrattori quali MIF, MCP-1, osteopontina, ecc.) e di fibroblasti e la stimolazione della attività proliferativa di podociti parietali in risposta a stimolatori quali PDGF e bFGF secreti da macrofagi e fibroblasti, porta alla formazione delle semilune cellulari. La sclerosi che ne consegue è prodotta soprattutto dai fibroblasti migrati dall'interstizio attraverso rotture della capsula esterna glomerulare e da podociti parietali che sono i maggiori produttori di collagene I. È interessante osservare che i podociti nelle fasi precoci vanno incontro a un processo di transdifferenziazione assumendo caratteristiche intermedie tra cellula epiteliale (che esprime citocheratine) e cellula mesenchimale di tipo miofibroblastico (che esprime actina muscolo specifica), un fenomeno ampiamente documentato anche nel comparto tubulo-interstiziale (5).

Mentre è documentato che le semilune cellulari sono carattere morfologico reversibile, particolarmente in corso di malattia da IgA, non esiste a tutt'oggi convincente dimostrazione che sia in qualche modo reversibile la fase di organizzazione fibrosa di questa forma di sclerosi glomerulare.

Questa interpretazione della morfogenesi di sclerosi postnecrotica è sostenuta anche da alcune osservazioni di comune riscontro nell'esame di preparati istologici: nell'ambito di sclerosi glomerulare focale postnecrotica è frequente il reperto di chiare interruzioni della membrana basale dei capillari, in corrispondenza della pregressa necrosi, un reperto che difficilmente si vede nelle forme primitive con sindrome nefrosica. Inoltre l'organizzazione fibrosa della semiluna, segmentaria o circonferenziale che essa sia, si accompagna quasi sempre a punti di rottura della capsula del Bowman, attraverso le quali migrano le cellule che riparano la necrosi. Anzi l'entità della lesione della capsula è stata da alcuni indicata come indice prognostico della lesione extracapillare.

Molto diversa nella morfogenesi delle lesioni è la sclerosi che caratterizza la cosiddetta (impropriamente) senescenza del glomerulo cioè il collasso ischemico del convoluto capillare tipico della nefroangiosclerosi benigna. Si tratta di una forma estremamente comune. Fino al 10% di glomeruli di un adulto normale sono sede di questa lesione: essi sono ridotti a matassa collassata di anse capillari circondate da materiale ialino-fibroso che occupa l'intero spazio di Bowman. L'involuzione ischemica dei glomeruli è di grande interesse. Anzitutto è sorprendente che la sclerosi in questo caso sia estre-

mamente rapida, è molto difficile se non impossibile vedere le fasi intermedie del processo o il glomerulo è normale con anse capillari distese o esso è completamente collassato. La spiegazione di questo fatto non è ben compresa ma è possibile che sia legata al concetto di instabilità della struttura glomerulare.

Il concetto di instabilità dei vasi sanguigni è stato introdotto oltre 50 anni fa (6) e anche se è stato rifinito con un più rigoroso utilizzo dei metodi di analitici di meccanica classica la formulazione originale è in linea generale ancora valida. Quando il glomerulo è nelle condizioni normali la parete della arteriola afferente è sottoposta dal liquido al suo interno a una tensione che cresce linearmente con il diametro del lume restando costante la pressione. D'altra parte la parete presenta una resistenza alla dilatazione che varia secondo il diagramma elastico del vaso (che non è lineare). Al punto di equilibrio le due tensioni devono essere uguali. Se si applica una ulteriore tensione attiva, per esempio con la contrazione delle cellule muscolari lisce, l'equilibrio si ristabilisce ad un diametro minore. Ma se la riduzione del diametro comporta una riduzione della tensione sul diagramma elastico superiore alla riduzione lineare in prevista dal rapporto lineare tensione/raggio, il diametro continua a restringersi e il vaso si chiude completamente e bruscamente. Tanto più che al restringersi del vaso la velocità di flusso aumenta e conseguentemente diminuisce la pressione del sangue in quel tratto (Fig. 3).

Il glomerulo in altre parole diventa una struttura instabile e, una volta collassata, la arteriola non si riapre. La deposizione di matrice aumenta rapidamente attorno alle membrane basali che restano improvvisamente prive dell'epitelio viscerale, molto sensibile al danno ischemico. Anche in questo caso la lesione sclerotica del glomerulo ischemico è sostanzialmente irreversibile. Non è possibile riaprire un vaso arteriolare occluso che è in parallelo con numerosi altri rami collaterali.

Anche nella sclerosi focale e segmentaria primitiva associata a sindrome nefrosica la lesione caratteristica si produce senza una fase flogistica (Fig. 4). Molte evidenze sperimentali suggeriscono che si tratti di una malattia del podocita viscerale. La lesione cellulare porta al distacco del podocita dalla membrana basale e alla esposizione diretta di matrice extracellulare nello spazio di Bowman dove può facilmente avvenire l'aderenza del podocita parietale sull'ansa priva di rivestimento epiteliale. Il contatto del podocita parietale con un doppio ancoraggio (da una parte alla capsula periferica del Bowman dall'altra la membrana basale glomerulare) (Fig. 5) trasforma una cellula relativamente quiescente in cellula attivamente secernente matrice. Dalla precoce sinechia capsulo-flocculare si procede rapidamente alla produzione di collagene e all'inglobamento delle anse interessate in un'unica

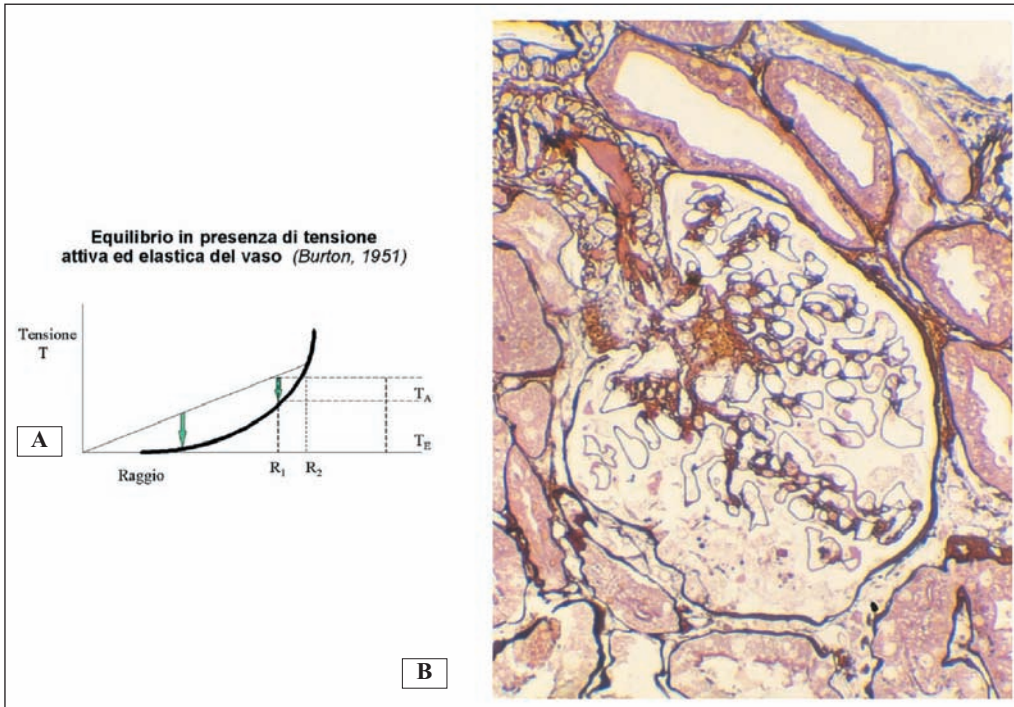


Fig. 3 - A: Diagramma della relazione tra tensione della parete del vaso e raggio. Il punto di equilibrio del vaso è al punto di incontro delle due linee. Una tensione attiva (freccia) ristabilisce l'equilibrio a un raggio minore se la tensione attiva è minore della distanza delle due curve (freccia di destra), ma in caso contrario il vaso collassa (freccia di sinistra). B: La microfotografia mostra un glomerulo con restringimento del lume dell'arteriola afferente dovuto a ipertrofia arteriosclerotica dell'intima (x 200, PASM).

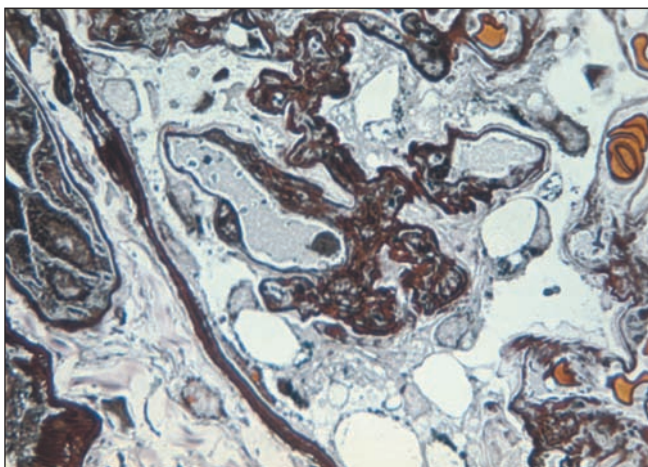


Fig. 4 - Glomerulosclerosi focale e segmentaria primitiva. Il collasso delle anse precede la sclerosi che si ordisce quando il podocita parietale si ancora sulle membrane basali prive di podocita (PASM, z 400).

massa sclerotica. Questa interpretazione della morfogenesi della sclerosi focale è sostenuta da molteplici evidenze: vi è ormai un'ampia documentazione dell'effetto di alterazioni dello stress meccanico, incluso, ma non solo, i punti di ancoraggio sul metabolismo e sul ciclo proliferativo nelle cellule. Del resto si è sempre saputo che le cellule in cultura crescono solo se hanno disposizione una superficie solida cui aderire e non crescono invece in sospensione. È stato dimostrato ad esempio che il campo di sollecitazione meccanica intracellulare (stress) modula intensamente la apoptosi, la migrazione cellulare, la trasduzione del segnale, la

morfologia nucleare e il rimodellamento della matrice extracellulare. La potente azione di eventi meccanici nell'alterare il fenotipo fibroblastico è stato da tempo riconosciuto nella cute, nel sistema cardiovascolare e più recentemente nel polmone, spesso con meccanismi mediati da azione autocrina del TGF- β .

Anche in questo il glomerulo appare come se funzionasse in situazione di oscillazione lontana dall'equilibrio e come se l'alterazione dei rapporti di ancoraggio del podocita lo facesse precipitare in una situazione di collasso irreversibile dapprima segmentario e poi globale.

Nel caso della glomerulopatia diabetica la lesione glomerulare consiste in un progressivo aumento della matrice mesangiale che progredisce verso la sclerosi globale del glomerulo; in questo caso però i rapporti morfologici tra le varie strutture glomerulari sono per molto tempo conservati. Per comprendere lo sviluppo di questo tipo di sclerosi occorre vedere il glomerulo come una complessa struttura rigido-elastica la cui stabilità è associata al delicato bilanciamento tra vari tipi di cellule (podociti, cellule mesangiali ed epiteliali, membrane basali) tutte tra loro strettamente e direttamente collegate da una rete ininterrotta, in parte rigida in parte elastica rappresentata da filamenti intracellulari, microtubuli e matrice, connessi in una struttura meccanicamente continua. Le forze applicate tramite la matrice sulla superficie cellulare sono trasmesse alle integrine dei complessi giunzionali e stimolano "clustering" di integrine dimeriche, inducono il reclutamento di proteine di adesione (vinculina, talina, ecc.) che si connettono a loro volta con microfilamenti e microtu-

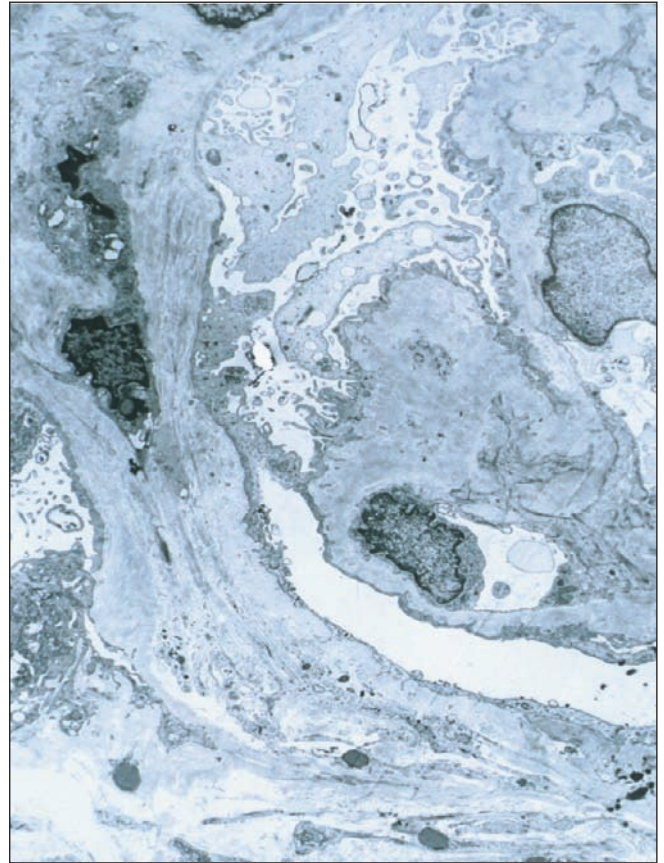
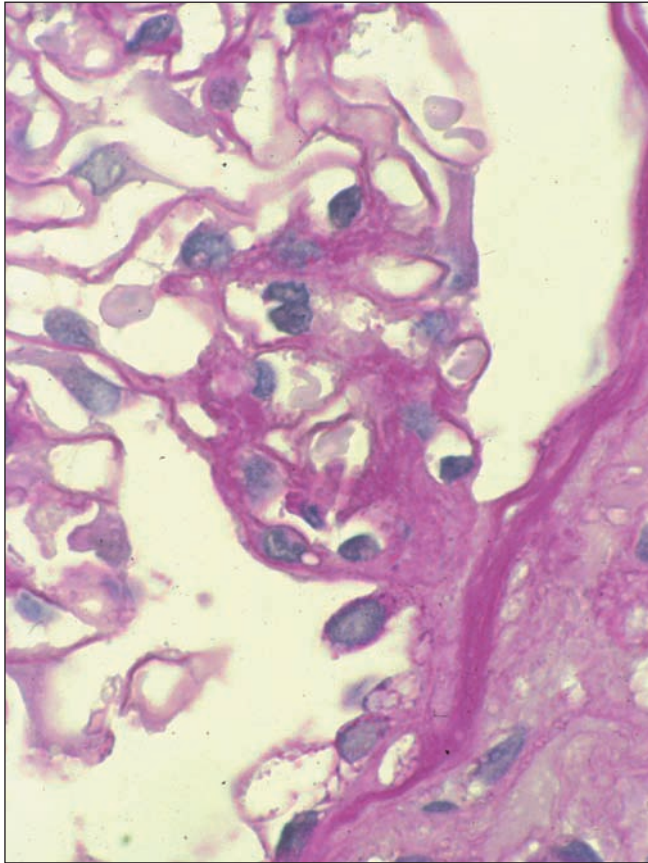


Fig. 5 - Immagini al microscopio ottico ed elettronico di due aree di sclerosi segmentaria primitiva. Si noti l'adesione del convoluto alla capsula mediata da un'unica cellula epiteliale (a destra) e la continuità della parete capillare all'interno della sclerosi che si sta formando (a sinistra) (PAS, x400, Osmio e piombo x 1500).

buli citoplasmatici e attivano una cascata di segnali intracellulari. Non sorprende che stimoli meccanici inducano l'espressione di fenotipo miofibroblastico nelle cellule mesangiali (Fig. 6).

Su questo sistema il flusso sanguigno esercita stimoli continui. Nel glomerulo normale la pressione intraglomerulare è sorprendentemente costante: quando l'autoregolazione è compromessa, ripetuti cicli di stress e rilassamento producono un potente stimolo della produzione di matrice extracellulare e dunque di sclerosi. È stato dimostrato che tale perturbazione emodinamica altera la risposta a stimoli metabolici soprattutto nei confronti del glucosio. Sta quindi rapidamente emergendo la convinzione che questo meccanismo sia in grado di spiegare la complessa morfogenesi della glomerulosclerosi diabetica. L'interesse di questo ambito di studio è sorto circa dieci anni fa dall'osservazione che GLUT-1 (*glucose transporter 1*, un trasportatore di glucosio normalmente espresso dal glomerulo), su cellule mesangiali in cultura produce un aumento dell'assorbimento di glucosio e produzione di matrice anche in presenza di concentrazioni normali di glucosio, come se la modulazione di GLUT-1 portasse all'espressione di un fenotipo diabetico. Successivamente è stato

dimostrato che lo stress meccanico sulle cellule mesangiali aumenta significativamente l'espressione di GLUT-1. È verosimile quindi che l'alterata autoregolazione della pressione intraglomerulare propria del diabete e l'alterato metabolismo glucidico agiscano in modo interattivo nel produrre la glomerulosclerosi. Molte sono le analogie della nefropatia diabetica con stati di ipertensione glomerulare: in questi casi lo stato ipertensivo, quando sovrapposto a perdita di vasoregolazione preglomerulare (arteriole afferenti) (per esempio nella nefrectomia subtotale) è responsabile di ipertensione glomerulare, sovraespressione di TGF- β , aumento di deposizione di matrice e sclerosi glomerulare.

Questo tipo di glomerulosclerosi è, almeno teoricamente, reversibile. Anche se ancora numericamente scarsi vi sono dimostrazioni di indubbia regressione. I meccanismi di regressione possono essere diversi a secondo del tipo del modello sperimentale o di patologia esaminata, ma sicuramente comprendono, tra gli altri, antagonisti del recettore per angiotensina II, metalloproteinasi, riduzione di inibitore del *plasminogen activator* (PAI 1) e di TGF- β , e rigenerazione di capillari, quest'ultima in futuro forse modulabile con uso di cellule staminali.

La regressione delle lesioni sclerotiche, anche se par-

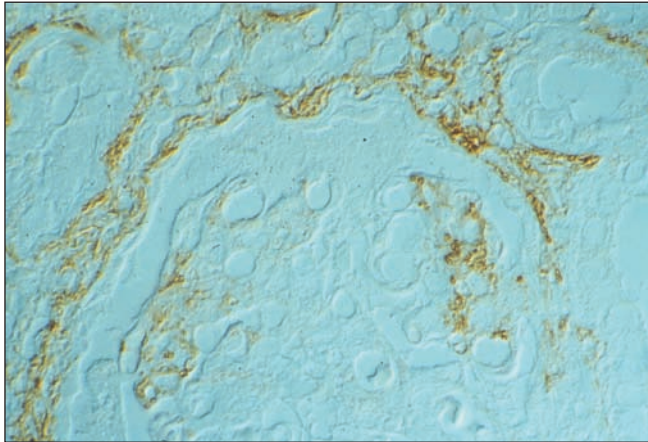


Fig. 6 - Sezione istologica colorata con reazione immunostochimica per actina muscolo-specifica. Si nota la colorazione delle cellule mesangiali che esprimono fenotipo miofibroblastico (microscopia ad interferenza di Nomarski, x 200).

ziali, richiede modificazioni sostanziali dell'architettura dei capillari, oltre che la rimozione di eccesso di matrice depositata. Ciò che ancora non è chiarito è se durante il rimodellamento glomerulare l'aumento volumetrico del glomerulo sia sovrapponibile all'aumento del convoluto capillare, se la densità capillare rimanga invariata o se vi sia effettiva gemmazione di nuovi capillari. La risposta a questo tipo di domande richiede una complessa metodologia di indagine stereologica e sufficienti cognizioni di topologia. In uno studio relativamente recente (7), definendo la formazione di una nuova ansa capillare come una variazione di una unità del numero di Eulero della rete (una elegante e moderna applicazione del classico problema del XVIII secolo dei ponti di Königsberg), cioè sostanzialmente valutando la complessità della rete capillare glomerulare, è stato dimostrato che in un modello di sclerosi ottenuto con nefrectomia subtotale nei ratti, il trattamento con ACE-inibitori provocava regressione parziale della sclerosi, caratterizzata da riduzione dei volumi capillari, volume del convoluto capillare e del numero dei capillari per glomerulo e che il numero della densità numerica capillare (numero di Eulero) era

immutato; a significare un armonico e coordinato rimodellamento di tutto il glomerulo.

È probabile che un approccio di questo tipo allo studio delle nefropatie progressive sia in futuro suscettibile di notevoli sviluppi.

RIASSUNTO

La sclerosi glomerulare è l' aumento della matrice extracellulare nel glomerulo.

È un fenomeno complesso, molto eterogeneo, sotteso da molteplici meccanismi cellulari e biochimici e da differenti quadri morfologici, modulabili da svariati fattori locali e sistemici.

Il termine non indica di per sé né il tipo né la quantità di componenti della matrice depositati. La quantità di matrice extracellulare aumenta in tre tipologie di eventi:

- in aree glomerulari che sono state distrutte da un processo necrotizzante come esito cicatriziale di glomerulite necrotizzante

- in regioni del glomerulo dove essa è normalmente presente (mesangio e membrane basali capillari) come si osserva nella nefropatia diabetica

- all'interno o attorno a gruppi più o meno ampi di capillari collassati coinvolgendo l'intero glomerulo nell' involuzione ischemica della nefroangiosclerosi benigna o solo alcuni cotiledoni nei casi di sclerosi glomerulare focale e segmentaria primitiva con sindrome nefrosica.

La cognizione dei diversi e non assimilabili percorsi morfologici con cui si produce la sclerosi glomerulare e i meccanismi cellulari e molecolari che ne sono alla base, anch'essi molteplici e complessi, è essenziale per ovvi motivi: rappresentano il razionale per qualunque intervento terapeutico mirante a prevenire o a ridurre la progressione della sclerosi e possono fornire un punto di partenza per stabilire se esistono e quali sono le forme almeno potenzialmente reversibili.

DICHIARAZIONE DI CONFLITTO DI INTERESSI

Gli Autori dichiarano di non avere conflitto di interessi.

BIBLIOGRAFIA

1. Remuzzi G, Benigni A, Remuzzi A. Mechanisms of progression and regression of renal lesions of chronic nephropathies and diabetes. *J Clin Invest* 2006; 116: 288-96.
2. Wynn TA. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. *J Pathol* 2008; 214: 199-210.
3. Laurent GJ, Chambers RC, Hill MR, McAnulty RJ. Regulation of matrix turnover: fibroblasts, forces, factors and fibrosis. *Biochem Soc Trans* 2007; 35: 647-51.
4. Wynn TA. Common and unique mechanisms regulate fibrosis in various fibroproliferative diseases. *J Clin Invest* 2007; 117: 524-9.
5. Liu Y. Epithelial to mesenchymal transition in renal fibrogenesis: pathologic significance, molecular mechanisms and therapeutic intervention. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 1-12.
6. Burton AC. On the physical equilibrium of small blood vessels. *Am J Physiol* 1951; 164: 319-29.
7. Adamczak M, Gross ML, Amann K, Ritz E. Reversal glomerular lesions involves coordinated restructuring of glomerular microvasculature. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 3063-72.