

mero degli scambi. I costi sociali incidono in modo predominante sul passivo del trattamento. Una revisione della tariffa regionale può portare il bilancio in pareggio.

FISIOLOGIA E FISIOPATOLOGIA RENALE

446 POD

LA DEGRADAZIONE DEL GLUTATIONE (GSH) NEL MUSCOLO SCHELETRICO NEI PAZIENTI CON INSUFFICIENZA RENALE CRONICA (CKD)

Mannucci I., Valli A., Cappuccino L., Sofia A., Russo R., Bonanni A., Verzola D., Garibotto G.

Dipartimento Cardionefrologico, AOU San Martino, Genova

Introduzione. Il muscolo è una delle maggiori riserve di GSH, uno dei principali antiossidanti. I tessuti periferici possono avere un ruolo più importante rispetto a quanto precedentemente supposto nella degradazione del GSH e nell'apporto di GSH ai tessuti. I siti responsabili dell'omeostasi dei livelli plasmatici di GSH nei pazienti con CKD non sono noti.

Metodi. Abbiamo usato la tecnica del bilancio attraverso l'avambraccio per ottenere informazioni sul metabolismo muscolare di GSH e cistein-glicina (Cys-Gly), un peptide derivante dalla degradazione del GSH, in 18 pz con CKD (età 55±6, CrCl 21±5 mL/min, 15M/3F, BMI 25±3), 9 pz emodializzati (età 62±9, BMI 24±6, 6M/3F) e 6 controlli (C) (età 45±4, BMI 23±4, 4M/2F). GSH e Cys-Gly sono stati misurati con HPLC. Il flusso plasmatico è stato misurato con pletismografia. I dati sono espressi in nmol/min/100mL.

Risultati. Nei pz con CKD i livelli arteriosi di Cys-Gly e GSH erano aumentati rispettivamente del 123% e del 67% ($p<0.05-0.01$ vs. C). GSH e Cys-Gly erano più alti nella vena dell'avambraccio che nell'arteria ($p<0.04$), indicando un significativo catabolismo e rilascio di GSH dalle cellule muscolari. Il rilascio di GSH e Cys-Gly dai tessuti periferici (-12±3 e -9±4, rispettivamente) era simile nei pz con CKD e nei C. Il rilascio di GSH era strettamente correlato con il rilascio di Cys-Gly. I livelli arteriosi di GSH e Cys-Gly erano direttamente correlati con il rilascio periferico dello stesso amminoacido ($r^2=0.5$ e $r^2=0.25$, rispettivamente $p<0.02-0.05$), suggerendo come la produzione in periferia abbia un ruolo importante nella determinazione dei livelli plasmatici di GSH e dei suoi metaboliti.

Conclusioni. Questi dati indicano per la prima volta che la degradazione del GSH nel muscolo scheletrico contribuisce in modo importante ai livelli circolanti di antiossidanti nei pazienti con CKD. Cys-Gly e, in misura minore, GSH, prendono parte ad un processo inter-organo finalizzato al mantenimento di antiossidanti ai tessuti. Nonostante la degradazione muscolare di GSH non sia aumentata nell'uremia, l'apporto di GSH al circolo può essere insufficiente in condizioni di aumentato stress ossidativo.

447 POD

LA DIAGNOSTICA DELL'ACIDOSI METABOLICA NEI PAZIENTI PORTATORI DI TRAPIANTO DI RENE: CONFRONTO TRA METODICHE BASATE SUI BICARBONATI E METODICHE BASATE SULLA DIFFERENZA IONICA (SID)

Menesi F., Mannucci I., Verzola D., Villaggio B., Russo R., Sofia A., Fontana I., Garibotto G.

¹Dipartimento Cardionefrologico, Azienda Ospedaliera Universitaria S. Martino, Genova; ²Chirurgia Generale e Trapianti d'Organo, Azienda Ospedaliera Universitaria S. Martino, Genova

Introduzione. Secondo l'approccio tradizionale basato sul calcolo dei bicarbonati (Henderson-Hasselbach), l'acidosi metabolica ha un'alta prevalenza nei pazienti portatori di trapianto renale. Tuttavia, l'approccio tradizionale è stato messo in discussione quando in recenti studi in diverse categorie di pazienti è stato utilizzato il metodo basato sulla differenza ionica (Stewart-Figge).

Metodi. Abbiamo ipotizzato che l'approccio di Stewart possa avere una maggiore validità diagnostica in confronto al metodo tradizionale. Abbiamo confrontato i risultati ottenuti con il metodo basato sulla differenza ionica (SID effettiva=SID corretta per albumina, $SIG=Strong Ion Gap$) con quelli ottenuti con l'approccio tradizionale in una coorte di 83 (M/F 52/31, anni 51±12, eGFR 54±18 mL/min) pazienti trapiantati di rene (età mediana del trapianto 5 anni).

Risultati. Il 55% dei pazienti erano acidotici sulla base dei livelli venosi di bicarbonati (<23 mmol/L), il 49% erano acidotici sulla base della SID^{effettiva} (<37 mmol/L). I livelli di bicarbonati e SID^{effettiva} erano linearmente correlati ($r=0.94$; $p<0.0001$) con una inclinazione della retta molto vicina a 1 (1.007). Una maggiore percentuale di pazienti presentava un incremento di anioni indeterminati sia con il SIG che con l'AG^{corrected} (42 vs. 32%, rispettivamente). AG^{corrected} e SIG erano direttamente correlati ($r=0.919$, $p<0.0001$), ma con modello polinomiale: si osservava un effetto progressivamente maggiore del SIG con l'aumento dell'AG^{corrected}. Ciò suggerisce che, come gli anioni si accumulano progressivamente, il loro rilevamento da parte del SIG aumenta. Simili variabili (cloro, potassio, acido urico e fosfato) predicevano i livelli di bicarbonato e di SID^{effettiva}. L'età era un fattore predittivo dei cambiamenti nell'AG^{corrected} mentre l'età e i livelli di urea plasmatici predicevano il SIG.

Conclusioni. L'uso della SID fornisce risultati simili all'approccio basato sui bicarbonati. Tuttavia, il SIG sembra essere più sensibile dell'AG nel rilevamento dell'accumulo di anioni indeterminati nei pazienti portatori di trapianto renale.

448 PO

ALTERAZIONI DEL RIMANEGGIAMENTO TUBULARE DELL'ACQUA E DEGLI ELETTROLITI NEL TRAPIANTO RENALE

Fabris A., Trubian A., Rugiu C., Abaterusso A., Tomei P., Pertica N., Lupo A. Divisione Clinica di Nefrologia, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata, Verona

Introduzione e Obiettivi. La poliuria è di frequente osservazione nei pazienti trapiantati e si discute se le sue cause siano una volontaria maggiore introduzione di liquidi o difetti tubulari complessi nei vari segmenti del tubulo renale.

Scopo di questo studio è stato quello di valutare il rimaneggiamento tubulare dell'acqua e di alcuni elettroliti plasmatici e urinari in un gruppo di pazienti portatori di trapianto renale ben funzionante.

Metodi. Nella nostra coorte di 163 pazienti stabili a sei mesi dal trapianto renale abbiamo selezionato 58 pazienti di età media 55.5 ± 11 anni che presentavano poliuria (V/min > 1500 mL/die) e funzione renale conservata (creatininemia 0.60 -1.50 mg/dL, ClCr 68 ± 15 mL/min). Nessuno di questi pazienti era in terapia con diuretici e/o ACE-i e tutti erano euolemici, normoalbuminemici e normoglicemici.

Questi pazienti sono stati confrontati con un gruppo di dieci soggetti sani; in entrambi i gruppi sono state determinate le caratteristiche elettrolitiche di plasma e urine e analizzate le capacità funzionali del riassorbimento tubulare: la clearance dell'acqua libera (E-CH₂O), la clearance dell'acqua corporea totale nel liquido extracellulare (WB-EFWC), la clearance osmolale (C-Osm) e il rapporto urinario (Na/K).

Risultati. Non erano significativamente differenti e risultavano nella normalità i seguenti parametri plasmatici: sodio, potassio, cloro e osmolalità. Nei pazienti trapiantati rispetto ai soggetti sani, erano significativamente alterati tutti i seguenti parametri analizzati: E-CH₂O (3.51±0.05 vs 1.58±0.03 mL/min, $p<0.001$), WB-EFWC (0.478±0.05 vs 0.145±0.05 L/die, $p<0.001$), COsm (1.36 ± 0.01 vs 0.99 ± 0.01 mL/min, $p<0.001$) e ENa/K (2.16 ± 0.02 vs 2.85 ± 0.03 mEq/L/mEq/L, $p<0.005$).

Conclusioni. I dati preliminari del nostro studio hanno evidenziato che i pazienti con trapianto renale e buona "graft function" presentano un incremento del volume urinario indipendentemente dall'introito di liquidi consigliato. Le modificazioni di tutti i parametri valutati portano a ritenere che vi sia un'alterata generazione dell'acqua libera nel tratto ascendente dell'ansa di Henle, nella midollare e nel segmento papillare del collettore distale secondario a un alterato effetto dei trasportatori dell'acquaporina 2, o per una inappropriata secrezione di ADH presente dopo trapianto renale.

449 PO

CELLULE STAMINALI MESENCHIMALI RESIDENTI: UN DIVERSO PUNTO DI VISTA SULL'ORIGINE DELLA NEFROCALCINOSI

Mezzabotta F., Ceol M., Del Prete D., Tiralonga E., Cristofaro R., D'Angelo A., Gambaro G., Anglani F.

¹Scienze Mediche e Chirurgiche, Clinica Nefrologica, Padova; ²Nefrologia e Dialisi, Ospedale "Gemelli" di Roma, Roma

Introduzione. Studi sulle calcificazioni vascolari dimostrano che cellule mesenchimali (periciti) possono differenziare in senso osteogenico. Ipotizziamo che cellule della papilla renale possano differenziare in cellule osteoblasto-simili, determinando la mineralizzazione del tessuto renale (nefrocalcinosi e placche di Randall). L'asportazione di un carcinoma renale in paziente con Rene a Spugna (MSK) ed eterozigote per mutazione GDNF ci ha permesso di verificare la nostra ipotesi.

Materiale e Metodi. Da biopsia chirurgica da polo indenne sono state allestite colture primarie di cellule papillari dal paziente MSK (cellule MSK) e, come controllo, da soggetti di sesso ed età comparabili, senza MSK né nefrolitiasi (C1, C2, C3). La presenza di depositi di fosfato di calcio è stata rilevata mediante colorazione Von Kossa e l'analisi ESEM e SEM. Le cellule sono state tipizzate mediante immunocitochimica (ICH). Marker della linea osteoblastica (osteocalcina, osteonectina, osteopontina, Runx2) sono stati studiati mediante ICH, Real Time PCR e RT/PCR. Le cellule di controllo sono state incubate con mezzi di induzione osteogenica.

Risultati. La tendenza spontanea dal p2 a crescere in multistrato organizzandosi in noduli con un comportamento simile a quello dei periciti calcificanti *in vitro* è stata osservata nelle cellule MSK e C2 CD146+, che mostravano comportamento e fenotipo mesenchimale. Ma dal p3 solo le cellule MSK hanno formato depositi di calcio-fosfato, mentre le C2 non sono andate incontro a calcificazione né spontanea né indotta. Le cellule C1 e C3, con comportamento e fenotipo epiteliale, non hanno formato noduli e/o noduli calcifici né spontaneamente né indotte. Le proteine pro-osteogenesi sono risultate upregolate nelle cellule MSK e C2 e quelle inibenti in C1 e C3. L'espressione di GDNF è risultata down-regolata nelle cellule MSK.

Conclusioni. Nella papilla renale umana esistono cellule mesenchimali con fenotipo e comportamento simil-pericitario, suggerendo la presenza di una nicchia perivascolare staminale. La mutazione GDNF potrebbe avere avuto un ruolo nella differenziazione in senso osteogenico nelle cellule MSK.

450 PO
EFFETTO PROTETTIVO DELL'ERITROPOIETINA IN SEGUITO A NEFROTROSSICITÀ GENTAMICINA-INDOTTA NELLA SPIGOLA

Lupica R.¹, Cernaro V.¹, Maricchiolo G.², Donato V.¹, Fazio M.R.¹, Sfacteria A.³, Buemi M.¹

¹Medicina Interna, Terapia Intensiva e Tecniche Dialitiche, Messina; ²Sperimentale Talassografico, Messina (ME); ³Patologia Veterinaria, Patologia, Messina

Introduzione. La terapia con Gentamicina (Gm) induce nefrotossicità nel 30% dei pazienti trattati: tubulonecrosi localizzata al tubulo prossimale come conseguenza dell'alterazione dell'equilibrio ossidoriduttivo intracellulare. L'Eritropoietina (EPO) è una sostanza della superfamiglia delle citochine che, prodotta a livello renale, promuove la eritropoiesi; ad essa è stata attribuita un'azione istoprotettiva nello stroke, nell'infarto miocardico e nel danno renale. Nel nostro studio sono stati analizzati gli effetti protettivi della somministrazione di EPO sulla nefrotossicità Gm-indotta in un modello acquatico, il *Dicentrarchus labrax* o spigola.

Materiali e Metodi. Le spigole sono state mantenute in acqua di mare a 18-22°C e suddivise in tre gruppi:

Gruppo A (n° 5 spigole) di controllo;

Gruppo B (n° 5 spigole) a cui è stata somministrata Gm (15mg/Kg);

Gruppo C (n° 5 spigole) a cui è stata somministrata EPO (1000UI/Kg) e Gm (15 mg/Kg).

La funzione renale è stata valutata con la somministrazione di destrano fluorescente. Al termine dell'esperimento le spigole sono state sezionate e fissate in paraformaldeide al 4%, colorate con ematosilina eosina e analizzate con il metodo TUNEL assay.

Risultati. La clearance del destrano fluorescente nel gruppo B è ridotta in modo statisticamente significativo rispetto al gruppo A. Nel gruppo C i valori della clearance sono sovrapponibili a quelli del gruppo A. Istologicamente nel gruppo B sono stati riscontrati i segni classici dell'IRA; tali lesioni erano meno gravi e a distribuzione focale nel gruppo C (Fig. 1).

Conclusioni. La somministrazione di una singola dose di EPO prima dell'iniezione di Gm produce una significativa riduzione del danno tubulare insieme a un marcato miglioramento della funzione renale. Tale azione protettiva sembrerebbe dovuta ad un effetto antinfiammatorio e antiapoptotico dell'EPO.

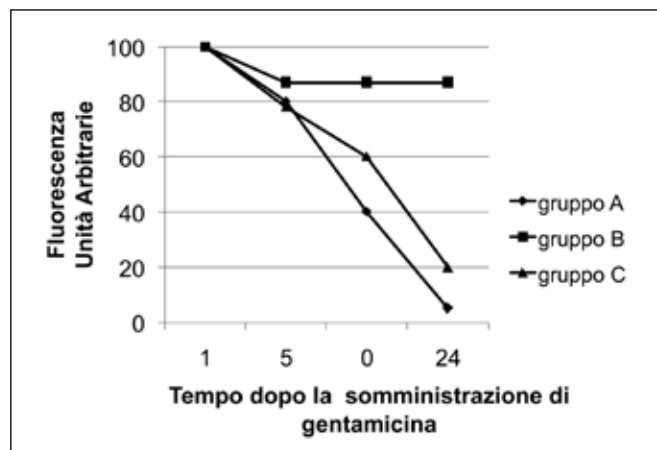


Fig. 1

451 PO
EPO, NGAL, BNP: MARKER DI LONGEVITÀ CARDIO-RENALE

Bono C.¹, Cernaro V.¹, Lupica R.¹, Donato V.¹, Basile G.², Cucinotta D.², Bolignano D.¹, Buemi F.¹, Buemi M.¹

¹Medicina Interna, Terapia Subintensiva e Tecniche Dialitiche, Messina; ²Medicina Interna, Geriatria, Messina

Introduzione. Eritropoietina (EPO), *Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin* (NGAL) e *Brain Natriuretic Peptide* (BNP) sono dei marker utilizzati come predittori prognostici di morbilità e mortalità in ambito cardio-renale. Il BNP è un ormone, definito "di emergenza", secreto da fibrocellule muscolari cardiache del ventricolo sinistro in risposta al sovraccarico volumico e pressorio. Il suo incremento è direttamente proporzionale alla severità della compromissione miocardica e può assumere un ruolo cruciale nell'omeostasi cardiocircolatoria e renale. L'NGAL è una proteina della superfamiglia delle lipocaine. Il suo incremento ha valore predittivo per l'IRA ed è un indicatore *real-time* di danno renale cronico di cui pronostica l'andamento; è considerato marker di rischio cardio-renale. Si è dimostrato che i valori di EPO predicono la mortalità in pazienti con patologia cardio-renale.

Materiali e Metodi. Abbiamo confrontato i valori di NGAL, EPO e BNP in due

popolazioni di anziani divisi, per età, in due gruppi. Nel Gruppo A sono stati inclusi 17 centenari non cardiopatici né anemici e con GFR = 30±7 mL/min. Il Gruppo B era costituito da 46 pazienti di età compresa tra 78±7 aa, cardiopatici e con IRC.

Risultati. Gruppo A: abbiamo osservato valori di BNP (126.3±53.10), di EPO (10.8±3.6) e di NGAL (132.8±74.23).

Gruppo B: i livelli di BNP ed NGAL subivano un incremento significativo in correlazione alla classe NYHA, agli indici di funzionalità renale e alla riduzione dell'EPO sierica (Fig. 1-3).

Conclusioni. Il mantenimento dei valori di questi tre biomarker nel range normale comprova la presenza di un buon compenso cardiovascolare e renale: nell'NGAL, nel BNP e nell'EPO, quindi, potrebbe racchiudersi il segreto della longevità.

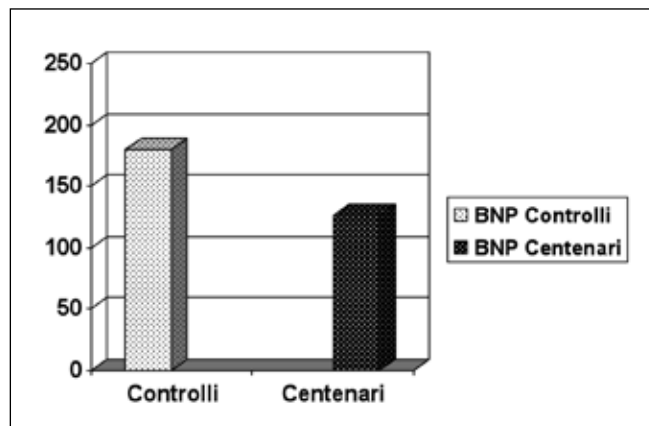


Fig. 1

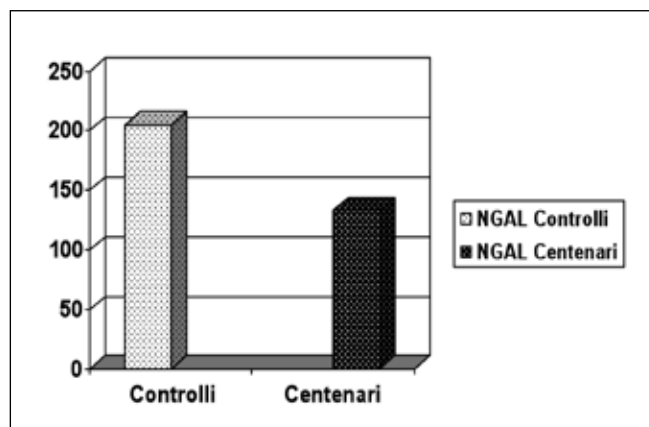


Fig. 2

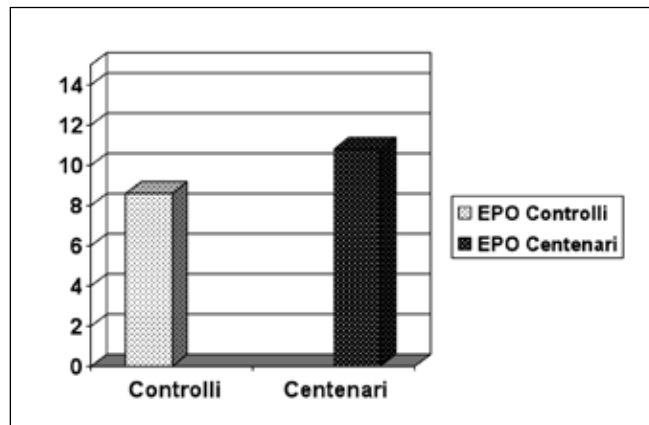


Fig. 3