

IMMUNOPATOLOGIA RENALE

77 PO

NF- κ B E APOPTOSI SONO ATTIVATI PRECOCEMENTE NEI GLOMERULI DEI PAZIENTI CON NEFROPATIA DEL DIABETE TIPO 2 (DN)

Cappuccino L., Verzola D., Salvidio G., Tosetti F., Gandolfo M.T., Gianiorio F., Bonanni A., Mannucci L., Deferrari G., Garibotto G.

Clinica Nefrologica, Dialisi, Trapianto, Dimi, Università di Genova e AOU San Martino, Genova

Introduzione. Nonostante la DN sia tradizionalmente considerata a patogenesi non immuno-mediata, studi recenti suggeriscono che l'infiammazione possa avere un ruolo nella comparsa e/o nella progressione della DN. Il fattore di trascrizione NF- κ B controlla l'espressione di numerosi geni attivati in corso d'infiammazione, apoptosi e sopravvivenza. L'apoptosi può causare precoce perdita dei podociti e albuminuria. Tuttavia non è noto se, in quale momento e in quale tipo cellulare il segnale di NF- κ B sia attivato.

Materiali e Metodi. 24 pazienti (Pz) con DN sottoposti ad agobiopsia renale in fasi diverse di malattia: A) microalbuminuria (N=12; 58 \pm 14 aa; 6M/6F; albu 142 \pm 15 μ g/min; eGFR=97 \pm 4 mL/min); B) DN avanzata (N=12; 63 \pm 3 aa; 6M/6F; prot^a 4.7 \pm 1.0 g/die; eGFR=32 \pm 3 mL/min). Come controlli (C) utilizzate porzioni di rene normale (N=9; 60 \pm 4 aa; 5M/4F) provenienti da nefrectomie. Apoptosi valutata mediante Ab anti-ssDNA e attivazione di NF- κ B mediante espressione di p65 fosforilata (Immunoistochimica) e analisi di immagine.

Risultati. Nei Pz microalbuminurici la p65 era aumentata (+4 volte, p<0.05) nei glomeruli (podociti), ma non nei tubuli (+30%, p=NS). Inoltre l'apoptosi era aumentata nei glomeruli (podociti ed endotelio) (3.6 \pm 0.7 vs 0.7 \pm 0.6% nei C, p<0.05), ma non nei tubuli. Nella DN avanzata, l'espressione di p65 era ridotta nei glomeruli (2.7 \pm 0.5 vs 5.4 \pm 0.7% vs Pz microalbuminurici, p<0.05), ma aumentava nel tubulo/interstizio (+50-72%, p<0.05). In tutti i Pz la p65 non si correlava con l'apoptosi glomerulare.

Conclusioni. Nella DN l'accelerazione dell'apoptosi dell'endotelio e dei podociti è già presente in fase microalbuminurica e può contribuire ad una diminuzione del rimodellamento glomerulare e alla comparsa di albuminuria. In questa fase, i podociti presentano un precoce aumento del segnale di NF- κ B, mentre il comparto tubulo-interstiziale è coinvolto solo in fase più avanzata, quando sono presenti infiltrati. Questi dati suggeriscono che l'infiammazione abbia un ruolo, in fase precoce, nella genesi della nefropatia e possa contribuire ai processi di glomerulosclerosi. Infiammazione ed apoptosi non sembrano tuttavia correlate.

78 PO

MODELLO SPERIMENTALE DI NEFROPATIA LUPICA: RUOLO DELLA PENTRAXINA 3

Cristofaro R.¹, Del Prete D.¹, Bassi N.², Ghirardello A.², Valente M.³, Ceol M.¹, Anglani F.¹, Mantovani A.², Familiari A.¹, Doria A.¹

¹Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche, Clinica Nefrologica, Padova;

²Dipartimento di Scienze Mediche, Cliniche e Sper., Clinica Reumatologica, Padova;

³Dip. Sc. Med. Diagn. Ter. Spec., Anatomia Patologica, Padova

Introduzione. Nella patogenesi della nefrite lupica un ruolo importante è svolto dallo stato infiammatorio e dall'attivazione linfocitaria. La Pentraxina lunga (Ptx3) è una proteina coinvolta nell'amplificazione della risposta infiammatoria e nella regolazione dell'immunità innata. Scopo dello studio è stato quello di indagare se la formazione di anticorpi anti Ptx3 possa avere un ruolo protettivo nei confronti della glomerulonefrite lupica.

Metodi. Topi NZB/NZWFI (con malattia autoimmune spontanea simile alla nefrite lupica) immunizzati con 100 mcg/ml di Ptx3 (gruppo 1), o con il peptide della parte comune Ptx3-2 (gruppo 2), o iniettati con PBS (gruppo 3) sono stati valutati per proteinuria, anticorpi anti Ptx3 e anti Ptx3-2 (ELISA) nel siero. È stata condotta l'immunofluorescenza indiretta per Hep-2 (INOVA) e anti ds-DNA, l'analisi istologica e l'immunoistochimica indiretta per Ptx3. È stata inoltre valutata l'espressione genica di Ptx3 a livello intrarenale mediante q-RT PCR.

Risultati. Tutti i topi sono risultati positivi per ANA e anti ds-DNA. I livelli di Ab anti Ptx3 erano più alti nel gruppo 1 rispetto al gruppo 2 e 3 (media OD \pm SD: 2.35 \pm 0.11 vs 0.10 \pm 0.04 e vs 0.05 \pm 0.01, p<0.001); i livelli di Ab anti Ptx3-2 erano più alti nel gruppo 2 rispetto al gruppo 1 e 3 (media OD \pm SD: 1.38 \pm 0.35 vs 0.94 \pm 0.07 p=ns e 1.38 \pm 0.35 vs 0.02 \pm 0.01, p=0.005). La proteinuria è stata rilevata solo in tracce nel gruppo 1 e 2 mentre nel gruppo 3 il livello medio era di 30 \pm 0.3 mg/dL. Nel gruppo 1 è stata messa in evidenza una maggior espressione di mRNA per Ptx3 rispetto ai gruppi 2 e 3 (Ptx3 vs Ptx3-2 p<0.000; Ptx3 vs PBS p<0.000) suggerendo un meccanismo a feed-back. Morfologicamente i topi del gruppo 1 avevano meno lesioni glomerulari rispetto al gruppo 2 e al gruppo 3 che aveva una manifestazione di lesioni proliferative ancora maggiore. L'espressione proteica di Ptx3 era evidente solo a livello di alcune tonache muscolari dei vasi e piccole zone di interstizio in particolare nel gruppo 3.

Conclusioni. Si ipotizza che la produzione di Ab anti Ptx3 e anti Ptx3-2 possa rallentare l'evoluzione della glomerulonefrite lupica.

79 PO

RITIRATO

80 PO

MISURAZIONE URINARIA DELLE CELLULE T, MCP-1 E IL17 IN PAZIENTI AFFETTI DA LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO E GRANULOMATOSI DI WEGENER

Giuliani A.¹, Abdulahad W.H.², Tadema H.², Dolff S.³, Stoppacciaro A.⁴, Pirozzi N.¹, Punzo G.¹, Kallenberg C.G.², Mene' P.¹

¹Nefrologia, Medicina Clinica e Molecolare, Università "Sapienza" Roma, Ospedale Sant'Andrea, Roma, Italy; ²Rheumatology and Clinical Immunology, University Medical Center Groningen, Groningen, The Netherlands; ³Nephrology, University Duisburg-Essen, Essen, Germany; ⁴Medicina Clinica e Molecolare, Università "Sapienza" Roma, Ospedale Sant'Andrea, Roma, Italy

Introduzione. Il Lupus Eritematoso Sistemico (LES) e la Granulomatosi di Wegener (GW) sono malattie autoimmuni spesso caratterizzate dal coinvolgimento renale. Negli ultimi anni sono stati studiati molti biomarkers urinari, soprattutto allo scopo di predire la riattivazione di malattia. In particolare, l'interleuchina 17, prodotta, è stata messa in relazione con la patogenesi del danno in diverse malattie autoimmuni.

In questo studio abbiamo misurato l'IL17 nelle urine (uIL17) dei pazienti affetti da LES e WG. Gli stessi campioni sono stati analizzati per MCP-1 (uMCP-1) e per le cellule T CD4+ e T effector memory (Tem: CD4RO/CCR7-) allo scopo di verificare se uIL17 correla con altri biomarker urinari precedentemente dimostrati aumentati nella GW e nel LES.

Materiali e Metodi. uIL17, uMCP-1, T CD4+ e Tem sono stati misurati in 20 campioni di urine e di siero raccolti in condizioni basali e durante il follow-up di 12 pazienti (8 LES e 4 WG) e 3 controlli sani.

IL17 e MCP-1 sono stati misurati con tecnica ELISA, mentre la citofluorimetria è stata utilizzata per quantificare le cell T CD4+ e Tem.

Risultati. Le cellule CD4+ e le Tem mostravano una relazione lineare (Spearman R= 0.9, p<0.05). Entrambe correlavano con uMCP-1 (R= 0.6, p<0.05). Inoltre tutti i campioni in cui l'IL17 risultava dosabile erano positivi anche per uMCP-1 (R= 0.6, p<0.05).

Conclusioni. Questi dati suggeriscono che le cellule urinarie CD4+ sono soprattutto costituite da Tem. La correlazione con uMCP-1 potrebbe indicare che questa citochina abbia effetto chemiotattico anche sui linfociti. Infine la relazione tra IL17 e MCP-1 potrebbe riflettere un meccanismo di feedback reciproco per cui IL17 stimola la produzione di MCP-1 e viceversa MCP-1 induce l'espressione di IL17.