

**IX SESSIONE COMUNICAZIONI – TRAPIANTO 1  
SALA GIULIETTA  
Venerdì, 10 Ottobre 2008 – ore 15.20-16.30**

**IL TRAPIANTO RENALE NEI PAZIENTI UREMICI SOTTOPOSTI A RIVASCOLARIZZAZIONE MIOCARDICA RIDUCE LA MORTALITÀ CARDIOVASCOLARE RISPETTO ALLA PERMANENZA IN DIALISI**

Vigotti F.N<sup>1</sup>, Lavacca A<sup>1</sup>, Messina M<sup>1</sup>, Giraudi R<sup>1</sup>, Mezza E<sup>1</sup>, Ferrario A<sup>1</sup>, Quercia A<sup>1</sup>, Fop F<sup>1</sup>, Ferro M<sup>2</sup>, Segoloni G<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Cattedra di Nefrologia, Dialisi e Trapianto renale, Centro Trapianti Renali, Ospedale San Giovanni Battista, Università degli Studi di Torino, Torino; <sup>2</sup>SCDO Cardiologia, Ospedale San Giovanni Battista, Torino

**Introduzione.** La sicurezza del trapianto renale nei pazienti sottoposti a rivascularizzazione miocardica è stata a lungo discussa, soprattutto negli ultimi decenni che han visto crescere la prevalenza delle malattie cardiovascolari e l'allargamento delle indicazioni al trapianto renale.

Le poche esperienze in letteratura mostrano una sopravvivenza migliore nel paziente trapiantato rispetto al dializzato, ma il dibattito è tuttora aperto.

**Scopi.** Valutazione della mortalità nei pazienti rivascularizzati e successivamente trapiantati rispetto a quelli rimasti in lista.

**Materiali e metodi.** Analisi retrospettiva di 87 pazienti, precedentemente sottoposti a rivascularizzazione miocardica, entrati in Lista Attiva Trapianto (LAT) presso il nostro Centro dal 1994 al 2006 e candidati per un primo trapianto singolo, esclusi i ritrapianti, i doppi e i multiorgano.

I pazienti sono stati suddivisi in due gruppi, A (trapiantati, n=47) e B (rimasti in dialisi, n=40); essi sono stati confrontati, con test T per le variabili continue e test del X<sup>2</sup> per quelle discrete, per un panel di fattori di rischio cardiovascolare (età, sesso, BMI, colesterolo, fumo, età dialitica, ipertensione...) e sono risultati sovrapponibili.

Per alcune variabili (PTH, FE, vasculopatia, antiaggreganti e diabete) si è registrata una differenza, che all'analisi multivariata secondo regressione di Cox non influisce sulla sopravvivenza.

Le curve attuariali di sopravvivenza sono calcolate secondo Kaplan-Meier.

**Risultati.** La mortalità globale e cardiovascolare risulta superiore nel gruppo B (rispettivamente 18% vs 2% p=0.02 e 13% vs 2% p=0.05). Per eliminare un possibile effetto di selezione determinato dall'insorgenza di eventi cardiovascolari subito dopo l'inserimento in LAT (che quindi escluderebbe i pazienti più critici dal trapianto, avvantaggiando il gruppo A rispetto al B), la curva è stata corretta eliminando i pazienti in lista da meno di 26 mesi, mediana di attesa prima del trapianto per il gruppo A. Anche con tale correzione la mortalità per causa cardiovascolare nei due gruppi mostra una differenza significativa (1 decesso nel gruppo A vs 4 nel B, p=0.023).

È stata inoltre valutata la "sopravvivenza per la LAT" (deceduti+esclusi in maniera definitiva per causa cardiovascolare) per pazienti del gruppo B: essa mostra una caduta al 50% a 48 mesi.

(segue)

**LE CELLULE STAMINALI MESENCHIMALI ATTENUANO IL RIGETTO ACUTO NEL TRAPIANTO DI RENE SPERIMENTALE DI RATTO**

Rampino T<sup>1</sup>, Gregorini M<sup>1</sup>, Zonta S<sup>2</sup>, Piotti G<sup>1</sup>, Bedino G<sup>1</sup>, De Martino M<sup>2</sup>, Gabanti E<sup>1</sup>, Piacenza C<sup>1</sup>, Bosio F<sup>1</sup>, Alessiani M<sup>2</sup>, Ibatiti A<sup>3</sup>, Sessarego N<sup>3</sup>, Balzano C.T<sup>1</sup>, Roscini E<sup>1</sup>, Dionigi P<sup>2</sup>, Frassonni F<sup>3</sup>. Dal Canton A<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unità di Nefrologia, Dialisi e Trapianto, Università e Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia; <sup>2</sup>Unità di Chirurgia, Università e Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia; <sup>3</sup>Dipartimento di Ematologia, Ospedale San Martino, Genova

**Introduzione.** Le cellule staminali mesenchimali (MSC) sono cellule multipotenti che si differenziano in diversi tipi di cellule mature. Le MSC migrano nei tessuti danneggiati dove possono contribuire alla riparazione cellulare; inoltre hanno importanti effetti immunomodulatori. *In vitro*, le MSC inibiscono la proliferazione di cellule T indotta da alloantigeni e mitogeni, inducono la proliferazione di linfociti T reg ed il rilascio di IL10; *in vivo*, prolungano la sopravvivenza di trapianti sperimentali cutanei e cardiaci.

**Scopi.** Valutare gli effetti della infusione di MSC nel trapianto di rene sperimentale di ratto.

**Pazienti e metodi.** Ratti Sprague-Dawley (SD) transgenici per EGFP (enhanced green fluorescence protein) erano usati come donatori di MSC. Trapianti di rene ortotopici singenici (Lewis RT1 verso Lewis RT1) ed allogenici (Fisher F344 verso Lewis RT1) erano eseguiti dopo la nefrectomia bilaterale. 3 gruppi di ratti erano studiati:

Gruppo A: ratti singenici ricevevano soluzione salina nell'arteria renale subito dopo il trapianto.

Gruppo B: ratti allogenici ricevevano soluzione salina nell'arteria renale subito dopo il trapianto.

Gruppo C: ratti allogenici ricevevano nell'arteria renale MSC 3X10<sup>6</sup> subito dopo il trapianto.

Nessuna terapia immunosoppressiva era somministrata.

Gli animali erano sacrificati al giorno 7 e i reni rimossi per lo studio morfologico. La clearance della creatinina e la proteinuria erano misurate ai giorni 0, 3 e 7. Il grado di tubulite e vasculite era valutato secondo la classificazione di Banff su sezioni renali colorate con Movat pentacromica, analizzando rispettivamente 150 tubuli in sezioni consecutive e 10 di arterie/sezione. Le cellule positive per ED1, CD8, CD4 erano contate con tecnica immunostochimica.

**Risultati.** Le MSC miglioravano la funzione renale e riducevano la proteinuria nel gruppo C rispetto al gruppo B. Il grado di tubulite era inferiore nei ratti trattati con MSC (C) rispetto ai non trattati (B) (score % tubuli, T0: C=64.5%, B=36%, p<0.005; T3: C=2.6%, B=12.8%, p<0.0001). Il grado di vasculite era meno grave nel gruppo C rispetto al gruppo B (V0: C=50%, B=16%, p<0.0001; V3: C=33%, B=70% p<0.0001). Il gruppo A non mostrava tubulite e vasculite

(segue)

**Conclusioni.** Nei pazienti sottoposti a rivascularizzazione miocardica idonei all'immissione in LAT il trapianto renale costituisce un'opzione valida e consente una sopravvivenza superiore alla permanenza in dialisi. L'elevata percentuale di essi che perde la possibilità del trapianto a causa di decesso o revoca dell'idoneità per causa cardiovascolare (il 50% dopo 4 aa di attesa in LAT) conferma l'utilità di un dibattito relativo alla determinazione di una priorità nel processo di allocazione, in modo che tali pazienti non siano esposti all'uremia troppo a lungo dopo la rivascularizzazione e possano così giovarsi di una migliore sopravvivenza.

Le MSC riducevano l'infiltrato infiammatorio; nel gruppo C il numero di cellule ED1 positive era minore rispetto al gruppo B (numero di cellule per campo microscopico C=42.8±8.6, B=78.1±2.1, p<0.005) e le cellule positive per CD8 era significativamente ridotto in C rispetto ad B (C=14.8±8.4, B=29.4±0.5, p<0.05) e le cellule positive per CD4 era significativamente ridotto in C rispetto a B (C= 8.23±5.2, B=15.95±6.6, p<0.001).

**Conclusioni.** Il nostro studio dimostra che l'infusione di MSC attenua significativamente il danno renale acuto nel trapianto, suggerendo che la terapia con MSC potrebbe rappresentare una strategia efficace nel ridurre le dosi di induzione dei tradizionali farmaci immunosoppressivi.

**RUOLO DELLA RAPAMICINA NELL'INDUZIONE DELLA TOLLERANZA MEDIANTE UP-REGOLAZIONE DI ILT3 E ILT4 IN PAZIENTI PORTATORI DI TRAPIANTO RENALE**De Fabritiis M<sup>1</sup>, Pontrelli P<sup>2</sup>, Infante B<sup>1</sup>, Stallone G<sup>1</sup>, Gigante M<sup>2</sup>, Ranieri E<sup>2</sup>, Schena F.P<sup>3</sup>, Grandaliano G<sup>3</sup>, Gesualdo L<sup>1</sup><sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Biomediche, Sezione di Nefrologia, Dialisi e Trapianto, Università degli Studi di Foggia, Foggia; <sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Biomediche, Cattedra di Patologia Clinica, Università degli Studi di Foggia, Foggia; <sup>3</sup>Dipartimento dell'Emergenza e dei Trapianti d'Organo, Sezione di Nefrologia, Università degli Studi di Bari, Bari

**Introduzione.** Le cellule dendritiche (DC) giocano un ruolo importante nella regolazione della risposta immune. Le cellule CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> (Treg) sono modulatori chiave della risposta immune sia precoce che tardiva. Le cellule Ts CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup> alloantigene-specifiche inducono la up-regolazione di inibitori recettoriali, (Ig-like transcript) ILT-3 e ILT-4, sulle DC rendendole tollerogeniche. Le CD tollerogeniche ILT3<sup>high</sup>ILT4<sup>high</sup> inducono anergia nelle T-celle alloreattive CD4<sup>+</sup>CD45RO<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> convertendole in Treg. I vasi linfatici neoformati e gli infiltrati peri-ovascolari rappresentano foci di attività immunologica nei reni umani trapiantati.

Sulla base di queste evidenze, abbiamo valutato il possibile ruolo della rapamicina (RAPA) nell'induzione dello stato di tolleranza attraverso la modulazione funzionale delle Treg, ILT-3 e ILT-4 mediata. E' stato inoltre valutato l'effetto della RAPA sui fattori neoangiogenetici (VEGF/VEGF-receptor) e sul trafficking di cellule immuni all'interno del rene trapiantato.

**Pazienti e metodi.** 30 pazienti portatori di trapianto renale sono stati arruolati nello studio ed assegnati in maniera random (1:1) a riduzione della dose di inibitori della calcineurina (CNI) (gruppo I, n° 15) o a sospensione CNI/introduzione RAPA (gruppo II, n° 15). Alla randomizzazione e dopo 2 anni, abbiamo valutato gli effetti di CNI/RAPA sul fenotipo delle DC circolanti (BDCA1 e BDCA2), sulle Treg CD4/CD25 Foxp3, sulle CD8CD28<sup>-</sup> (Ts), e sull'espressione di ILT-3 e ILT-4. Inoltre, abbiamo valutato agli stessi intervalli di tempo, sulle biopsie eseguite sui reni trapiantati l'espressione di VEGF/VEGF-receptor.

**Risultati.** Nel gruppo II, la percentuale di BDCA1 era significativamente ridotta (p<0.0001), mentre la percentuale di BDCA2 risultava aumentata (p<0.0001). Le CD4/CD25 Foxp3 e le CD8CD28<sup>-</sup> erano aumentate nel gruppo II (p<0.0001; p=0.005). Infine, ILT3 e ILT4 risultavano notevolmente aumentati nel gruppo II rispetto al gruppo I (p=0.00001 e p=0.0001, rispettivamente). Nelle biopsie del gruppo II, l'espressione di VEGF/VEGF-receptor risultava significativamente ridotta (p=0.001).

**Conclusioni.** I nostri risultati suggeriscono che la RAPA promuove uno stato di anergia-tolleranza funzionale DC ILT3<sup>high</sup>ILT4<sup>high</sup> mediato.

3

**ATTIVITÀ DELLA INOSINA-MONOFOSFATO DEIDROGENASI (IMPDH) IN PAZIENTI TRAPIANTATI DI RENE TRATTATI CON MICOFENOLATO MOFETIL (MMF) ASSOCIATO A DIFFERENTI REGIMI IMMUNOSOPPRESSORI**Libetta C<sup>1</sup>, Chiarelli L<sup>2</sup>, Malinaro M<sup>3</sup>, Cosmai L<sup>1</sup>, Tinelli C<sup>4</sup>, Valentini G<sup>3</sup>, Margiotta E<sup>1</sup>, Ragazzi M<sup>3</sup>, Dal Canton A<sup>1</sup><sup>1</sup>U.O. di Nefrologia, Dialisi e Trapianto; <sup>2</sup>Dipartimento di Biochimica, <sup>3</sup>Unità di Farmacocinetica; <sup>4</sup>Unità di Epidemiologia Clinica e Biometria, Università e IRCCS-Fondazione Policlinico San Matteo, Pavia

**Introduzione.** La dose di MMF da somministrare nei pazienti trapiantati di rene rimane una pratica empirica, infatti i livelli plasmatici del farmaco non correlano con il rigetto. MMF è un potente inibitore, selettivo, non competitivo dell'enzima IMPDH, pertanto maggiore è la sintesi cellulare dell'enzima minore è l'efficacia immunosoppressiva del farmaco. La terapia a lungo termine con MMF può indurre modificazioni dell'espressione della IMPDH nelle cellule mononucleari del sangue periferico (PBMC).

**Scopi.** Lo scopo dello studio è stato di monitorare l'attività biologica del IMPDH e valutarne l'eventuale correlazione con gli episodi di rigetto e l'influenza dei differenti regimi terapeutici immunosoppressivi.

**Pazienti e metodi.** 73 pazienti trapiantati di rene da cadavere clinicamente stabili (tempo di trattamento medio: 34 mesi, range 3-75) sono stati arruolati nello studio. A tutti i pazienti è stato eseguito prelievo di sangue intero, prima (t0) e dopo due ore (t2) dalla somministrazione di MMF ed i prelievi erano ripetuti ogni 3 mesi per tutta la durata del follow-up (12 mesi). L'attività della IMPDH è stata misurata sui PBMC isolati per gradiente di densità ottenuto mediante centrifugazione con ficoll-hypaque. I pazienti sono stati divisi in 3 gruppi in base al regime immunosoppressivo: gruppo CsA formato da 24 pazienti in terapia con ciclosporina+MMF+Prednisolone (P), gruppo TAC formato da 33 pazienti (tacrolimus+MMF+P) e gruppo SRL formato da 16 pazienti (sirolimus+MMF+P). 95 soggetti sani sono stati usati come controllo.

**Risultati.** L'attività dell'IMPDH nei soggetti sani è piuttosto variabile, in media 8.33 ± 6.93 nmol/h/mg, senza una associazione rilevante con età o sesso. Nei pazienti trapiantati durante i 12 mesi di follow-up, l'attività di IMPDH al t0 è aumentata da 5.5 ± 3.93 a 11.66 ± 6.45 nmol/h/mg e senza un decremento nei livelli di inibizione (73.3 %, range: 54.0-96.6). L'attività enzimatica non era influenzata dai differenti regimi terapeutici. Le concentrazioni medie di CsA, TAC, SRL e MMF erano 142.4, 9.4, 12.9 ng/ml e 3.38 mg/ml rispettivamente. Quattro pazienti hanno sviluppato un rigetto acuto durante i 12 mesi di follow-up. L'attività della IMPDH al t0 era aumentata significativamente nella fase di rigetto confrontata ai controlli effettuati nel restante periodo di follow-up in tre dei quattro pazienti. Non è stata osservata, invece, nessuna differenza nei livelli di inibizione enzimatica.

**Conclusioni.** Il nostro studio suggerisce che misurare l'attività enzimatica dell'IMPDH potrebbe avere un ruolo importante per la modulazione del dosaggio di MMF nei pazienti trapiantati di rene. Certamente altri studi prospettici sono necessari per confermare il ruolo dell'attività di IMPDH come biomarker degli effetti di MMF nella pratica clinica.

4