

XI SESSIONE COMUNICAZIONI – INSUFFICIENZA RENALE ACUTA SALA FELLINI

Sabato, 11 Ottobre 2008 – ore 11.15-12.25

SOPRAVVIVENZA DEL PAZIENTE E DELLA FUNZIONE RENALE NELLA MALATTIA RENALE ATEROEMBOLICA (MRA): IMPATTO DEL TIPO DI DIALISI

Viola B¹, Gaggi R², Rollino C³, Santostefano M⁴, Colla L³, Ravani P⁵, Scolari F⁶
¹Divisione di Nefrologia Ospedale Civile di Brescia; ²Divisione di Nefrologia, Ospedale di Bologna; ³Divisione di Nefrologia, Ospedale di Torino; ⁴Divisione di Nefrologia, Ospedale di Ravenna; ⁵Divisione di Nefrologia, Ospedale di Cremona; ⁶Divisione di Nefrologia, Ospedale di Montichiari, Brescia

Introduzione. La MRA è una causa sottodiagnosticata di insufficienza renale nei pazienti anziani. La terapia anticoagulante è attualmente considerata uno tra i più importanti fattori precipitanti. In un minoranza di pazienti, la MRA causa una grave insufficienza renale con necessità di dialisi. In questo studio, abbiamo cercato di valutare se la dialisi extracorporea, che richiede l'anticoagulazione, fosse associata a peggiore sopravvivenza del paziente e della funzione renale rispetto alla dialisi peritoneale.

Pazienti e metodi. I casi di MRA che hanno richiesto la dialisi sono stati estrapolati dallo studio multicentrico italiano (Scolari F ed altri, *Circulation* 2007) che ha arruolato 354 pazienti. La regressione logistica è stata usata per modellare la probabilità di recupero della funzione renale in relazione al tipo di dialisi (emodialisi -HD- vs dialisi peritoneale -PD-). La regressione del Cox è stata usata per studiare l'impatto del tipo di dialisi sugli outcome considerati. Nell'analisi, sono state considerate le caratteristiche cliniche, inclusi i livelli basali pre-evento di GFR.

Risultati. Globalmente, 111 casi di insufficienza renale acuta/subacuta che hanno richiesto dialisi sono stati seguiti per un periodo medio di 2.9 anni. La probabilità di recupero della funzione renale (che si è presentata in 32 pazienti) era simile nelle due modalità di dialisi (29.4% di 85 soggetti trattati con HD; 26.9% di 26 soggetti trattati con PD; $p = 0.806$). Durante il follow-up abbiamo osservato 60 decessi, 15 dei quali trattati con PD e 45 trattati con HD. Il rischio relativo di morte era più basso in quelli trattati con PD; tuttavia, non si raggiungeva significatività statistica (HR 0.83, 95% CI 0.53, 1.3, $P = 0.428$). L'aggiustamento con i potenziali fattori confondenti non modificava i risultati.

Conclusioni. I nostri dati suggeriscono che nei pazienti con MRA ed insufficienza renale richiedente dialisi la probabilità di recupero del GFR non viene influenzata dal tipo di dialisi. Durante il follow-up, è stato osservato un alto tasso di mortalità, correlato con l'elevato burden di malattia cardiovascolare. Il più basso rischio di morte osservato nei pazienti trattati con PD richiede conferma in ulteriori studi.

1

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 $C=42.8 \pm 8.6$, $B=78.1 \pm 2.1$, $p < 0.005$); il numero di cellule positive per CD8 era significativamente ridotto in C rispetto ad B ($C=14.8 \pm 8.4$, $B=29.4 \pm 0.5$, $p < 0.05$) e le cellule positive per CD4 era significativamente ridotte in C rispetto ad B ($C=8.23 \pm 5.2$, $B=15.95 \pm 6.6$, $p < 0.001$).

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.

2

UN CASO DI NEFRITE TUBULO INTERSTIZIALE ACUTA ASSOCIATA AD INFEZIONE DA PARVOVIRUS B19

Roscini E¹, Rampino T¹, Gregorini M¹, Piotti G¹, Bedino G¹, Balenzano C.T¹, Di Matteo A², Bosio F¹, Gabanti E¹, Piacenza C¹, Esposito P¹, Soccio G¹, Corradetti V¹, Gulisano C², Dal Canton A¹

¹Unità di Nefrologia, Dialisi e Trapianto, Università e Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia; ²Clinica di Malattie Infettive, Università e Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia

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.

Scopo. 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 sigenici (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 sigenici 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 3X10⁶ 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 immunostocastica.

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: $C=33\%$, $B=70\%$, $p < 0.0001$). Gruppo A non mostrava tubulite e vasculite.

(segue)

SHIGA TOXINS (STXS) LEGATE AI LEUCOCITI POLIMORFONUCLEATI (PMN) CIRCOLANTI: OSSERVAZIONI CLINICHE NEI BAMBINI CON SINDROME EMOLITICO-UREMICA (SEU)

Pecoraro C¹, Tazzari P.L², Ravanelli E³, Carnicelli D³, Barbieri S³, Scavia G⁴, Minelli F⁴, Ricci F², Bontadini A², Alfieri R⁵, Petronini P.G⁵, Ferretti A.V.S¹, Paglialonga F⁶, Edefonti A⁶, Procaccio M.A⁷, Tozzi A.E⁷, Caprioli A⁴, Brigotti M²

A nome del Registro Nazionale della Sindrome Emolitico-Uremica della Società Italiana di Nefrologia Pediatrica; ¹S.C. di Nefrologia e Dialisi, Ospedale Santobono, Napoli; ²Dipartimento di Patologia Sperimentale, Università di Bologna, Bologna; ³Servizio di Immunematologia e Trasfusionale, Ospedale S. Orsola-Malpighi, Bologna; ⁴Istituto Superiore di Sanità, Roma; ⁵Dipartimento di Medicina Sperimentale, Sezione di Patologia Molecolare e Immunologia, Università di Parma, Parma; ⁶Clinica Pediatrica De Marchi, Milano; ⁷Ospedale Bambino Gesù, Roma

Introduzione. La maggior parte dei casi di SEU è secondaria a infezione intestinale da *E. Coli* produttore di Stxs (STEC). Dall'intestino le Stxs sono assorbite in circolo dove si legano ai PMN che le veicolano alle cellule endoteliali. Un test basato su Ab specifici e tecniche di flussocitometria è utilizzato per il rilievo dei livelli di Stxs-PMN e per la diagnosi precoce di infezione da STEC.

Scopi. In questo studio è stata valutata la relazione tra le principali manifestazioni cliniche di SEU da STEC e le quantità in circolo di Stxs-PMN.

Pazienti e metodi. In 39 pazienti affetti da SEU D+ (15 maschi, età mediana 26 mesi) sono stati effettuati i vari test diagnostici per infezione da STEC: isolamento di STEC, Stxs fecali, Ab anti LPS e Stxs-PMN.

Risultati. Evidenza di infezione da STEC era presente in 35 di essi (89.7%). Stxs-PMN sono state rilevate in 18/39 (46.2%); 11 di essi avevano anche altri test positivi per STEC, negli altri 7 tali test risultavano negativi. Nei rimanenti 17 pazienti le Stxs-PMN erano negative mentre gli altri test risultavano variamente positivi per STEC. Sulla base dei valori del "mean channel value of fluorescence (MCV)" i 18 pazienti positivi per Stxs-PMN sono stati divisi in due gruppi: gruppo 1, alto livello di Stxs ($MCV \geq 1.5$), 6 casi; gruppo 2, basso livello di Stxs ($MCV < 1.5$), 12 casi. Il tempo medio di campionamento di sangue per Stxs-PMN era simile nei 2 gruppi (7 e 8 giorni, rispettivamente). I due gruppi sono stati confrontati per: Conta Piastrine e Neutrofili, livelli di Hb e creatininemia, necessità di dialisi e/o trasfusione e sintomi neurologici. Tutti i pazienti hanno mostrato piastrinopenia (< 150.000 mmc) e anemia emolitica nei giorni precedenti il primo dosaggio di Stxs-PMN. Nei seguenti 7 giorni non è stata osservata tra i gruppi nessuna differenza nell'andamento della conta delle piastrine e neutrofili, mentre la creatininemia che era normale nella maggior parte dei pazienti nel gruppo 1, aumentava in maniera significativa nel gruppo 2 cosicché la percentuale di pazienti che necessitavano di dialisi era più bassa (30%) e la

(segue)

durata della terapia dialitica era più breve (3.5 ± 2.1 giorni) nel gruppo 1 rispetto al gruppo 2 (50% e 12.8 ± 5.8 giorni, rispettivamente). Al contrario le complicanze neurologiche erano più frequenti nel gruppo 1 (50%) che nel gruppo 2 (8%).

Conclusioni. Questi dati indicano che i pazienti affetti da SEU con più alti livelli circolanti di Stxs-PMN hanno una funzione renale migliore e un più frequente coinvolgimento neurologico, rispetto a quelli con livelli più bassi che, invece, mostrano una compromissione renale più grave. Questo effetto paradossale fa ipotizzare che, in corso di SEU da STEC, le complicanze neurologiche possono essere causate dall'effetto tossico diretto sui neuroni degli alti livelli circolanti di Stxs-PMN mentre un circolo autoamplificantesi scatenato da basse dosi circolanti di Stxs-PMN induce la produzione di mediatori pro-infiammatori del danno renale.

SHIGA TOXINS (STXS) LEGATE AI LEUCOCITI POLIMORFONUCLEATI (PMN) CIRCOLANTI E SINDROME EMOLITICO-UREMICA (SEU): SVILUPPO DI UN MODELLO SPERIMENTALE DEL RILASCIO DI TOSSINE NELLA TRASMIGRAZIONE ATTRAVERSO LE CELLULE ENDOLETALI

Pecoraro C¹, Tazzari P.L.², Ravanelli E³, Carnicelli D³, Barbieri S³, Scavia G⁴, Minelli F⁴, Ricci F², Bontadini A², Alfieri R⁵, Petronini P.G.⁵, Ferretti A.V.S¹, Paglialonga F⁶, Edefonti A⁶, Procaccio M.A.⁷, Tozzi A.E.⁷, Caprioli A⁴, Brigotti M²

A nome del Registro Nazionale della Sindrome Emolitico-Uremica della Società Italiana di Nefrologia Pediatrica; ¹S.C. di Nefrologia e Dialisi, Ospedale Santobono, Napoli; ²Dipartimento di Patologia Sperimentale, Università di Bologna, Bologna; ³Servizio di Immunoematologia e TrASFusionale, Ospedale S. Orsola-Malpighi, Bologna; ⁴Istituto Superiore di Sanità, Roma; ⁵Dipartimento di Medicina Sperimentale, Sezione di Patologia Molecolare e Immunologia, Università di Parma, Parma; ⁶Clinica Pediatrica De Marchi, Milano; ⁷Ospedale Bambino Gesù, Roma

Introduzione. Nei pazienti con SEU un test basato su Ab specifici e tecniche di fluorocitometria è utilizzato per il rilievo dei livelli di Stxs-PMN e per la diagnosi precoce di infezione da *Escherichia Coli* produttore di Shiga-like Toxin (STEC). I valori di tali livelli vengono espressi come "mean channel value of fluorescence" (MCV). In uno studio clinico parallelo abbiamo osservato che i pazienti con alti livelli circolanti di Stxs-PMN hanno una funzione renale migliore rispetto ai pazienti con livelli più bassi.

Scopi. Per spiegare questo paradosso è stato realizzato un modello sperimentale di "delirery" di Stxs dai neutrofilii all'endotelio.

Materiali e metodi. Il modello consisteva di un device di tras migrazione a due camere in cui cellule endoteliali di vena ombelicale umana (HUVEC) erano collocate nella camera superiore a formare un monolayer confluyente. PMN endotoxin-free erano trattati con Stx1 per ottenere valori di MCV paragonabili a quelli osservati nei campioni di sangue dei pazienti con SEU. I PMN erano, poi, stimolati a tras migrare attraverso il monolayer dalla presenza di IL-8 (5nM) nella camera inferiore. Gli step considerati erano: 1) il binding di Stxs ai PMN, 2) la tras migrazione dei PMN-Stxs positivi, 3) il passaggio del ligando tossico nelle cellule endoteliali e 4) gli effetti di tale passaggio sulla sintesi delle proteine e sul release delle citochine proinfiammatorie coinvolte nella patogenesi della SEU.

Risultati. 1) sono stati ottenuti valori di MCV simili a quelli dei pazienti affetti da SEU con alti e bassi livelli di Stxs-PMN; 2) la tras migrazione dei PMN nel monolayer di cellule endoteliali non era inibita dalla presenza sulla membrana di Stxs; 3) è stata osservata correlazione diretta tra l'entità della tras migrazione e il trasferimento di Stxs alle cellule endoteliali; 4) la sintesi di proteine da parte delle cellule endoteliali era inibita in maniera proporzionale alla quantità di Stxs legata ai PMN. La tras migrazione di PMN con MCV simile a quello dei pazienti con bassi livelli di Stxs causava una inibizione della sintesi protei-

(segue)

3

ca tra il 30 e il 60% e ciò era accompagnato da una forte produzione di IL-8 e MCP-1; al contrario PMN con MCV simile a quello dei pazienti con alti livelli di Stxs causava una inibizione della sintesi proteica >60% e ciò era accompagnato da una significativa riduzione della produzione di IL-8 e MCP-1.

Conclusioni. Queste osservazioni possono spiegare l'apparente paradosso per cui i pazienti affetti da SEU con i più alti livelli di Stxs-PMN hanno una compromissione renale più lieve. In queste condizioni, infatti, la produzione di citochine proinfiammatorie è quasi del tutto bloccata dalla forte inibizione della sintesi proteica. È verosimile che questi pazienti sviluppino un danno endoteliale improvviso che scatena l'apoptosi nelle cellule intossicate che non producono il set completo di citochine indispensabile per amplificare il processo e causare il danno infiammatorio del rene.

4