

### XIII SESSIONE COMUNICAZIONI – NEFROPATIE PRIMITIVE E SECONDARIE I SALA SATYRICON

Sabato, 11 Ottobre 2008 – ore 11.15-12.25

#### LE CELLULE STAMINALI MESENCHIMALI RIDUCONO IL DANNO GLOMERULARE NELLA GLOMERULONEFRITE ANTI THY1 ATTRAVERSO LA MODULAZIONE DEGLI SCATTER FACTORS

Piotti G<sup>1</sup>, Gregorini M<sup>1</sup>, Rampino T<sup>1</sup>, Bedino G<sup>1</sup>, Piacenza C<sup>1</sup>, Gabanti E<sup>1</sup>, Bosio F<sup>1</sup>, Balenzano C.T<sup>1</sup>, Roscini E<sup>1</sup>, Frassoni F<sup>2</sup>, Ibatucci A<sup>2</sup>, Esposito P<sup>1</sup>, Soccio G<sup>1</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>Dipartimento di Ematologia, Ospedale San Martino, Genova

**Introduzione.** Hepatocyte Growth Factor (HGF) e Macrophage Stimulating Protein (MSP) sono fattori di crescita appartenenti alla famiglia degli Scatter Factors. Entrambi sono coinvolti nella patogenesi della glomerulonefrite anti Thy1. La somministrazione di HGF accelera la riparazione glomerulare e la rigenerazione dei capillari glomerulari, mentre la neutralizzazione di MSP riduce il danno tissutale, arrestando l'afflusso glomerulare di neutrofili e monociti. Recentemente abbiamo dimostrato che l'infusione di cellule staminali mesenchimali (MSC) migliora il danno renale nella nefrite anti Thy1 attraverso un meccanismo paracrino, ma i mediatori di tale effetto non sono conosciuti.

**Scopo.** Valutare se l'effetto indotto dalle MSC nella nefrite anti Thy1 è mediato dagli Scatter Factors.

**Pazienti e metodi.** Abbiamo indotto la nefrite anti Thy1 nei ratti Sprague Dawley.

Sono stati studiati cinque gruppi di ratti:

Gruppo A: ratti infusi con anti Thy1.1 mAb al giorno 0

Gruppo B: ratti infusi con anti Thy1.1 mAb al giorno 0 e con MSC ( $3 \times 10^6$ ) al giorno 3

Gruppo C: ratti infusi con anti Thy1.1 mAb al giorno 0 e cellule mesangiali di ratto al giorno 3

Gruppo D: ratti infusi con soluzione salina al giorno 0 e MSC al giorno 3

Gruppo E: ratti infusi con soluzione salina al giorno 0.

I ratti sono stati sacrificati al 7°, 10° e 14° giorno.

Sono stati dosati proteinuria e creatinemia.

L'espressione glomerulare di ED1, PCNA, c-met (recettore di HGF), MSP e Ron (recettore di MSP) è stata valutata con tecniche di immunostochimica e morfometria.

**Risultati.** L'infusione di MSC riduceva la proteinuria (giorno 10: A  $123.6 \pm 43.8$ , B  $43.9 \pm 30.4$  mg/24h  $p < 0.05$ ) e i livelli di creatinina sierica (giorno 10: A  $0.59 \pm 0.01$ ; B  $0.45 \pm 0.01$  mg/dl,  $p < 0.001$ ).

In B il numero di cellule ED1 positive era significativamente più basso rispetto ad A al giorno 7 e 10 (giorno 10 A:  $6.7 \pm 1.3$ ; B  $4.1 \pm 0.5$ ,  $p < 0.05$ ). Al giorno 7, 10 e 14 le cellule PCNA positive aumentavano significativamente in A, B, C rispetto a D e E ( $p < 0.001$ ). Tuttavia, al giorno 7 il numero di cellule PCNA positive era significativamente più basso in B che in A (B:  $13 \pm 2$ ; A  $17 \pm 1.8$ ,  $p < 0.05$ ). La percentuale di area glomerulare positiva per MSP era significativamente più bassa in B che in A al giorno 7, 10, 14 (giorno 10 A:

(segue)

$60 \pm 10\%$ ; B  $30 \pm 10\%$ ,  $p < 0.005$ ). La percentuale di area glomerulare positiva per Ron era significativamente più bassa in B che in A al giorno 10 (B:  $11.57 \pm 8.5\%$ ; A:  $30.67 \pm 12.25\%$ ,  $p < 0.005$ ). MSC induceva la sovraespressione di c-met nell'endotelio dei capillari glomerulari. La percentuale di area glomerulare positiva per c-met era significativamente più alta in B che in A al giorno 10, 14 (giorno 10 B:  $88 \pm 13\%$ ; A  $1.9 \pm 0.2\%$ ,  $p < 0.0001$ ). Nei gruppi C e D solo alcuni podociti esprimevano c-met.

**Conclusione.** I nostri risultati suggeriscono che l'infusione di MSC migliora il danno renale nella nefrite anti Thy1 attraverso la modulazione degli Scatter Factors. L'inibizione del sistema MSP/Ron potrebbe contribuire a ridurre l'infiammazione glomerulare e la sovraespressione di c-met potrebbe indurre la rigenerazione dei capillari glomerulari.

#### DUE NUOVE MUTAZIONI DEL GENE UMOD RESPONSABILI DI INSUFFICIENZA RENALE TERMINALE IDENTIFICATE PER LA PRIMA VOLTA IN DUE GRANDI AGGREGATI FAMILIARI AFFERENTI AD UN CENTRO TRAPIANTI ITALIANO

Airolidi A<sup>1</sup>, Fenoglio R<sup>1</sup>, Tavecchia M<sup>1</sup>, Manzani A<sup>1</sup>, Dondi E<sup>1</sup>, Bozzola C<sup>2</sup>, Mandrile G<sup>3</sup>, Giachino M<sup>3</sup>, Benoni S<sup>3</sup>, Chiarinotti D<sup>4</sup>, De Marchi M<sup>3</sup>, Stratta P<sup>1</sup>

<sup>1</sup>SCDU Nefrologia e Trapianto, A.O.U. Maggiore della Carità, Università del Piemonte Orientale, Novara; <sup>2</sup>SCDU Anatomia Patologica, A.O.U. Maggiore della Carità, Università del Piemonte Orientale, Novara; <sup>3</sup>SSD Genetica Medica, A.O.U. San Luigi, Orbassano, Torino; <sup>4</sup>SCDO Emodialisi e Nefrologia, A.O.U. Maggiore della Carità, Università del Piemonte Orientale, Novara

**Introduzione.** L'entità nosografica nota come complesso di "Malattia cistica della midollare/nefropatia uricemica giovanile familiare/nefrosi/malattia glomerulo cistica", è caratterizzata dal quadro fenotipico di nefriti tubulo-interstiziali ad esordio in età diverse e con estrinsecazione fenotipica talora caratterizzata da iperuricemia/gotta conseguente alla ridotta escrezione di acido urico, o da nefropatia sodio-disperdente. Tale spettro fenotipico è riconducibile a 2 loci che mappano su cromosomi diversi: 1q21 (MCKD1) e 16p12 (MCKD2) dove si trova il gene UMOD che codifica per l'Uromodulina, che costituisce la componente più importante delle proteine urinarie in condizioni fisiologiche. Era già noto che le modificazioni del gene UMOD modificano la struttura terziaria della proteina, causando un suo accumulo a livello del reticolo endoplasmatico, che costituisce il nucleo patologico sub-cellulare correlato alla comparsa delle entità nosografiche sopra definite.

**Scopo.** Scopo del presente lavoro è riportare l'identificazione di due nuove mutazioni del gene UMOD mai descritte in precedenza, correlate con l'evoluzione verso l'uremia terminale.

**Pazienti e metodi.** L'analisi genetica che ha comportato il sequenziamento del gene UMOD, è stata effettuata in due grandi aggregazioni di famiglie comprendenti più di 150 membri attualmente residenti nella Provincia di Novara, ma provenienti da aeree limitrofe del litorale ed entroterra Veneto.

**Risultati.** Nel primo aggregato familiare, composto da 95 membri di cui 8 trapiantati o in dialisi, si è identificata la mutazione c.263G>A; tale mutazione, riscontrata in tutti i pazienti in dialisi o trapiantati in cui è stata ricercata e risultata assente negli individui di controllo, si ritiene causativa in quanto è presente un aminoacido con caratteristiche fisico-chimiche diverse in una posizione evolutivamente conservata in un dominio della Uromodulina importante per la sua funzione. Nel secondo aggregato familiare, composto da 44 membri di cui 7 con insufficienza renale terminale, è stata identificata la mutazione c.115G>A in eterozigosi. Prima della diagnosi genetica, la biopsia renale eseguita in

(segue)

3 membri delle due famiglie, aveva dimostrato un quadro aspecifico di arteriosclerosi con modesti danni ischemici e fibrosi interstiziale, in un caso associato a deposito di IgA. **Conclusioni.** La presenza di familiarità per malattie renali evolutive verso l'insufficienza renale terminale impone uno sforzo congiunto del clinico e del genetista per la ricerca della cause responsabili, che possono essere identificate anche al di fuori di conoscenze già consolidate. Il quadro biotipico renale in questi casi può essere poco significativo ed aspecifico e si conferma la necessità che oltre l'etichetta, spesso improbabile, di "nefroangiosclerosi", siano da ricercare cause di danno renale a livello subcellulare evidenziabili con altri strumenti diagnostici.

### L'AUTOTRAPIANTO DI CELLULE STAMINALI PERIFERICHE NEI PAZIENTI CON AMILOIDOSI-AL: L'IMPATTO DELL'INSUFFICIENZA RENALE

Pasquali S., Mandreoli M., DeSanctis LB, Santoro A  
U.O.C Nefrologia, Dialisi e Iperensione-Malpighi, Policlinico S.Orsola-Malpighi, Bologna

**Introduzione.** Il coinvolgimento renale in corso di amiloidosi AL rappresenta una complicanza frequente che ne aggrava la prognosi.

Le opzioni di terapia per i pazienti affetti da amiloidosi AL sono: melphalan+desametasone ad alte dosi oppure, nei pz candidabili, melphalan ad alte dosi seguito da autotrapianto di cellule staminali periferiche (HDM-ASCT).

L'efficacia e la tollerabilità del trapianto di midollo nei pazienti con amiloidosi AL e insufficienza renale secondaria sono poco conosciute.

**Scopo.** Lo scopo dello studio è valutare l'impatto dell'insufficienza renale sull'evoluzione dei pazienti con amiloidosi AL sottoposti a HDM-ASCT analizzando: andamento della funzione renale, modificazioni della proteinuria, evoluzione delle lesioni istologiche renali.

**Pazienti e metodi.** Abbiamo studiato 12 pazienti affetti da insufficienza renale secondaria ad amiloidosi AL istologicamente dimostrata, giunti alla nostra osservazione nel periodo 1997-2007, con un follow-up minimo di 12 mesi. I pazienti sono stati sottoposti a chemioterapia con melphalan (150-200 mg/m<sup>2</sup>) seguita da autotrapianto di cellule staminali. La risposta ematologica e renale alla terapia è stata valutata secondo i criteri delle Linee guida internazionali. In un paziente, la biopsia renale eseguita all'esordio è stata comparata con quella eseguita nel post-trapianto.

**Risultati.** L'età media è 53.2 ± 7.5 anni; 7/12 sono femmine; 11/12 con componente monoclonale lambda; la durata media della malattia 16.7±9.4 mesi; il numero medio di organi coinvolti 2 (range 1-3).

Tutti i casi presentano insufficienza renale (creatinemia 1.8±1.0 mg/dl; VFG 45.1±13.6ml/min) con proteinuria nefrosica (6.5±4.3g/24h); 3 pz sono iperuricemici.

All'ultima osservazione (follow-up 37.5±37.3 mesi):

- 9/12 (75%) hanno raggiunto la risposta ematologica dopo 4.7 mesi;
- 6/12 (50%) hanno raggiunto la risposta renale dopo 9 mesi;
- 1 pz non responder è deceduto dopo 18 mesi dal trapianto;
- 2 pz con remissione ematologica sono in trattamento dialitico cronico;
- 5/12 hanno presentato complicanze trapianto-relate: mucosite orale (3 pz), broncopneumopatia (1 caso), sindrome veno-occlusiva (1 caso).

La risposta renale appare condizionata dai valori di funzione renale (p<0.09) e di uricemia (p<0.09) pre-trapianto, dalla durata della malattia (p<0.03) e dalla risposta ematologica (p<0.09), mentre l'entità della proteinuria basale non sembra influenzare l'outcome renale successivo (p.N.S).

Nell'unico paziente che ha ripetuto la biopsia renale dopo 4 anni dal trapianto, sono

(segue)

### AGGIUNTA DI RITUXIMAB (RTX) ALLA TERAPIA DI MANTENIMENTO NEL TRATTAMENTO DELLE RECIDIVE DI TIPO GRANULOMATOSO NELLA GRANULOMATOSI DI WEGENER (GW)

Jeannin G<sup>1</sup>, Gregorini G<sup>1</sup>, Toninelli C<sup>2</sup>, Lombardi D<sup>3</sup>, Redaelli De Zinis L<sup>3</sup>, Possenti S<sup>1</sup>, Cancarini G<sup>1</sup>

<sup>1</sup>U.O. Nefrologia, Dialisi e Trapianto, A.O. Spedali Civili di Brescia, Brescia; <sup>2</sup>Servizio di Endoscopia respiratoria e laser terapia, A.O. Spedali Civili di Brescia, Brescia; <sup>3</sup>U.O. Otorinolaringoiatria, A.O. Spedali Civili di Brescia, Brescia

**Introduzione.** La GW è caratterizzata da un elevato numero di recidive, per la maggior parte di tipo granulomatoso. Questo comporta per i pazienti (pz) il rischio di esposizione a ripetuti cicli di ciclofosfamide. Sebbene in piccole casistiche ed in studi non randomizzati e controllati l'RTX si sia dimostrato un farmaco efficace nel controllo delle manifestazioni vasculitiche, più dibattuta è invece la sua efficacia nel controllo delle forme granulomatose. In generale l'RTX è stato usato in associazione a basse dosi di steroide con sospensione completa degli immunosoppressori.

**Scopi.** Riportiamo i dati preliminari dell'uso di RTX con mantenimento di steroide e dell'immunosoppressore [methotrexate(MTX)/azatioprina(AZA)] per controllare le recidive granulomatose.

**Pazienti e metodi.** Venivano trattati 9 pz (età media di 50.6 anni 16-79) mediamente dopo 94.4 mesi (27-228) dalla prima diagnosi di GW. Tutti avevano avuto precedenti recidive, in media 4.2 (2-8). Un pz presentava pseudotumore orbitario isolato, uno manifestava sindrome dell'apice orbitario e noduli polmonari, 4 pz presentavano noduli polmonari multipli, una pz aveva algie facciali secondarie ad interessamento granulomatoso intra ed extracranico, un pz presentava vasculite necrotizzante granulomatosa cutanea diffusa ed una pz manifestava localizzazioni sottoglottiche e tracheali con evoluzione stenotica. 3 pz presentavano anche sintomi sistemici e 3 pz sedimento urinario attivo. I pz venivano trattati con 4 somministrazioni settimanali di RTX alla dose di 375 mg/mq (una pz riceveva solo le prime due somministrazioni per ipogammaglobulinemia preesistente).

**Risultati.** 7 pz hanno avuto una risposta completa (Follow-up 16.4 mesi 7-27); una sola pz ha presentato recidiva dopo 19 mesi trattata con nuovo ciclo di RTX. 2 pz hanno mostrato una risposta per ora parziale (con un follow-up di 4 e 2 mesi dall'inizio del trattamento).

Il BVAS2003 medio pre-trattamento con RTX era 6 (3-9) e dopo trattamento 0.7 (0-3) raggiunto mediamente dopo 2.9 mesi (1-6). Il valore medio di PCR pre RTX era 22.1 mg/L (0-50) e diventava negativo (<3) in tutti i pz ad eccezione di uno (al IV mese di osservazione) che presenta ancora valori oscillanti. Gli ANCA pre-trattamento erano positivi in 7/9 pz, in 2 si negativizzavano entro 2 mesi, in altri 3 calavano a valori ai limiti inferiori di positività entro 2 mesi, in un caso non si osservava una riduzione del titolo (l'unica

(segue)

ancora presenti i depositi di amiloide nonostante la remissione della proteinuria e della malattia ematologica.

#### Conclusioni.

- HDM-ASCT è un trattamento efficace e ben tollerato nei pazienti con insufficienza renale da amiloidosi AL;
- Il trattamento deve essere tempestivo con lo scopo di indurre la risposta ematologica e quindi renale;
- La remissione clinico-laboratoristica non si associa alla risoluzione delle lesioni istologiche renali.

paziente che aveva ricevuto solo 2 dosi di RTX).

La terapia di fondo era costituita da steroide (19 mg di daltacortene 7.5-37.5), MTX in 7 su 9 (16.5 mg/sett 7.5-20), AZA in 2 (112.5 mg 75-150), ciclosporina 150 mg/die in un pz portatore di trapianto di rene. Non abbiamo osservato effetti collaterali di rilievo connessi all'utilizzo dell'RTX (eccettuata un'ipotensione asintomatica in corso di infusione).

**Conclusioni.** L'RTX, associato alle dosi di mantenimento di steroide ed immunosoppressore, è efficace nel trattamento delle recidive granulomatose di GW. Il controllo delle manifestazioni granulomatose richiede alcuni mesi. L'apparente contrasto con i dati della letteratura potrebbe derivare dalla brevità della loro osservazione e dalla sospensione completa della terapia con steroide ed immunosoppressore.

La riduzione o scomparsa degli ANCA nella maggior parte dei pz trattati e la loro ricomparsa a titolo medio-alto nell'unica pz recidivata post RTX (poi ritrattata con nuova negativizzazione degli ANCA) sembrerebbero confermarne il ruolo patogenetico.

3

4