

## XIV SESSIONE COMUNICAZIONI – NEFROPATIE PRIMITIVE E SECONDARIE 2

## SALA GIULIETTA

Sabato, 11 Ottobre 2008 – ore 11.15-12.25

## SCREENING DI UNA LIBRARY DI cDNA RENALE PER L'IDENTIFICAZIONE DI PROTEINE AUTOIMMUNI DA SIERO DI PAZIENTI AFFETTI DA GLOMERULONEFRITE MEMBRANOSA

Cavazzini F<sup>1</sup>, Magistroni R<sup>1</sup>, Furci L<sup>2</sup>, Leonelli M<sup>2</sup>, Ligabue G<sup>1</sup>, Lupo V<sup>1</sup>, Albertazzi A<sup>1,2</sup><sup>1</sup>Divisione di Nefrologia, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia, Modena;<sup>2</sup>Divisione di Nefrologia e Dialisi, Azienda Ospedaliero-Universitaria Policlinico di Modena, Modena

**Introduzione.** La Glomerulonefrite Membranosa (GNM) è responsabile di un'alta percentuale di sindromi nefrosiche nella popolazione adulta e la sua diagnosi certa viene attualmente effettuata esclusivamente mediante biopsia. Tale patologia si sospetta possa essere causata da una condizione autoimmune nella quale antigeni di verosimile origine podocitaria fungono da bersaglio per gli anticorpi del paziente. Non si conoscono, ad oggi, le proteine bersaglio eventualmente coinvolte e responsabili della patogenesi della malattia.

**Scopi.** L'obiettivo di questo lavoro è l'identificazione di tali proteine attraverso lo screening di una library di espressione di fagi lambda attraverso l'utilizzo di gruppi di sieri di pazienti.

**Pazienti e metodi.** Abbiamo predisposto i seguenti tre gruppi di sieri: (i) da 15 pazienti GNM, (ii) da 15 pazienti non-GNM (4 con nefropatia diabetica, 4 con glomerulosclerosi focale, 4 con glomerulonefrite membranoproliferativa di tipo I, 3 con malattia a lesioni minime), e (iii) da 15 individui sani. Abbiamo poi eseguito lo screening di una library fagemidica di cDNA (da mRNA totale di reni sani) al fine di individuare placche positive se testate con il siero di pazienti affetti da GNM.

**Risultati.** Abbiamo individuato un clone capace di esprimere una proteina bersaglio degli anticorpi presenti nei soli sieri dei pazienti GNM. I sieri di controllo sono risultati negativi. L'inserito di cDNA del fagemide è stato successivamente sequenziato e confrontandone la sequenza con quella di un database di DNA umano, abbiamo individuato una completa sovrapposizione con il gene codificante la proteina 65 del complesso sinaptinemale (SC65), anche conosciuta come No55.

**Conclusioni.** Dall'analisi di sieri di pazienti affetti da GNM, gli autoanticorpi contro No55 potrebbero essere coinvolti nella fisiopatologia di tale malattia. Considerando l'invasività e il rischio associato alla biopsia renale, sarebbe opportuno sviluppare metodologie diagnostiche microinvasive o non invasive. L'identificazione di potenziali autoanticorpi contro proteine renali è utile all'identificazione di meccanismi patogenetici sconosciuti nella GNM ed, eventualmente, nello sviluppo di nuove metodologie diagnostiche e terapeutiche.

## RITUXIMAB NELLE VASCULITI E NEL LUPUS EREMATOSO SISTEMICO (LES): SICUREZZA E TOLLERABILITÀ

Catapano F<sup>1,2</sup>, Jayne DW<sup>2</sup><sup>1</sup>U.O. Nefrologia e Dialisi, Ospedale "Incurabili", Seconda Università degli Studi di Napoli, Napoli; <sup>2</sup>Vasculitis and Lupus Clinic, Addenbrookes Hospital, Cambridge University, Cambridge

**Introduzione.** Rituximab (RTX) è una terapia alternativa per Vasculiti e LES recidivanti o refrattari. Ci proponiamo di valutare la sua sicurezza e tollerabilità in questi due sottogruppi di pazienti.

**Metodi.** In uno studio retrospettivo con follow-up mediano di 24.5 mesi, valutammo 267 corsi di RTX in 105 pazienti trattati da Gennaio 2002 a Marzo 2008 nella Lupus and Vasculitis Clinic dell'Addenbrookes Hospital di Cambridge. 74 erano Vasculiti e 31 LES. 76 erano donne e 29 maschi con un'età media di 47±19 anni ed un GFR calcolato (con la equazione MDRD) di 80.7±37.4 mL/min.

**Risultati.** Gli eventi avversi più comuni erano le reazioni all'infusione di RTX (Tab.I). Il range dei sintomi è mostrato nelle Tabelle IIa e IIb.

Tabella I

	N. Corsi (%)	N. Pazienti (%)
Grado lieve-moderato	49 (18.3)	37 (35.2)
Ritardate	21 (7.8)	13 (12.3)
Gravi	7 (2.6)	7 (6.6)
Totale	77/267 (28.8)	57/105 (54.3)

1

(segue)

Tabella IIa

Reazioni di grado lieve-moderato	N. corsi
Respiro corto	8
Cefalea	7
Astenia	6
Dolore	6
Mal di gola	5
Febbre	5
Prurito	4
Rash	2
Crampi	2
Palpitazioni	1
Intorpidimento	1
Ipotensione	1
Vampate	1
Totale	49

Tabella IIb

Reazioni ritardate	N. corsi
Sindrome simil-influenzale	6
Rash	4
Respiro corto	2
Gonfiore	2
Crampi muscolari	1
Nausea	1
Dolore	1
Cefalea	1
Astenia	1
Vomito	1
Totale	20

Tutti i pazienti con una grave reazione all'infusione erano LES (Tab. III).

Tabella III

Corso di RTX	Tempo	Intervento	Ulteriore terapia con RTX
I	dopo 2 settimane	↑ steroidi	No
I	dopo 48 ore	↑ steroidi	No
I	durante l'infusione	nessuno	Si (no complicanze)
I	dopo 48 ore	nessuno	Si (no complicanze)
III	durante l'infusione	↑ steroidi	No
III	durante l'infusione	nessuno	No
V	dopo 1 settimana	nessuno	No

La frequenza delle reazioni all'infusione non aumentava dopo multipli trattamenti (Fig. 1).

Figura 1

41 episodi infettivi gravi si verificavano in 27 pazienti (26%). Il tempo mediano dall'inizio della terapia con RTX all'infezione era 2 mesi (range, 1-36). Le più frequenti erano le infezioni toraciche. 18 pazienti assumevano farmaci immunosoppressivi in associazione a RTX; 1 Lupus con sindrome nefrosica e 1 GW erano ipo-gammaglobulinemici anche prima della terapia con RTX; 3 GW avevano multiple escavazioni polmonari. 1 paziente sospendeva RTX a causa di ricorrenti infezioni. 7 diventavano neutropenici (<1x10<sup>9</sup>/L) durante il follow-up; di questi 4 sviluppavano gravi infezioni. Durante il follow-up c'era una riduzione dei livelli di Ig; 2 pazienti con GW (IgG, 4.8 and 5.5 g/L) sviluppavano 5 episodi infettivi. 5 pazienti (3 LES, 2 Vasculiti) morivano. Cause di morte erano LES attivo e infezione, morte cardiaca improvvisa, grave sepsi in ESRD, ed insufficienza respiratoria in 2.

**Conclusioni.** Nei nostri pazienti con Vasculite e LES refrattari/recidivanti noi riportiamo una varietà di eventi avversi. I più comuni erano le reazioni all'infusione di RTX, la cui frequenza non aumentava con trattamenti multipli. Infezioni gravi erano registrate, anche se esse non erano direttamente attribuibili al RTX. Ipo-gammaglobulinemia e neutropenia ne complicavano abbastanza l'uso.

(segue)

2

**LE RIBIOPSIE SU RENE NATIVO: ANALISI DI 37 ANNI DI ESPERIENZA IN UN SINGOLO CENTRO**Colla L<sup>1</sup>, Marengo M<sup>1</sup>, Burdese M<sup>1</sup>, Besso L<sup>1</sup>, Fop F<sup>1</sup>, Marcuccio C<sup>1</sup>, Bilucaglia D<sup>1</sup>, Quercia A<sup>1</sup>, Deagostini MC<sup>1</sup>, Mazzucco G<sup>2</sup>, Stratta P<sup>3</sup>, Segoloni G<sup>1</sup><sup>1</sup>S.C.U. Nefrologia, Dialisi e Trapianti, A.O.U. San Giovanni Battista, Torino;<sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Biomediche ed Oncologia Umana, Università di Torino, Torino;<sup>3</sup>Cattedra di Nefrologia, Università del Piemonte Orientale, Novara

**Introduzione.** La ribiopsia su rene nativo rimane tuttora argomento di discussione, soprattutto al di fuori della nefropatia lupica. Essa può avere, però, un ruolo determinante nel guidare la terapia anche in altre glomerulonefriti (GN), specie in presenza di inatteso peggioramento funzionale, mancata risposta o comparsa di resistenza al trattamento.

**Scopo.** Analisi retrospettiva delle ribiopsie renali in un singolo Centro con particolare attenzione alle indicazioni, alle modificazioni istologiche e alla concordanza tra sospetto clinico e diagnosi biopsica.

**Pazienti e metodi.** Sono stati analizzati i dati clinici dei pazienti sottoposti a ribiopsia su rene nativo dal 1970 al 2007. Indicazione alla biopsia, sospetto clinico, andamento funzionale renale e diagnosi istologica sono stati considerati nell'analisi.

**Risultati.** 220 pazienti (M/F=140/80) sono stati sottoposti ad almeno 2 biopsie (471 totali; intervallo medio tra le biopsie=3 anni). Si è osservato un livello funzionale renale peggiore alla ribiopsia (Cr<sub>s</sub> media 1.1 mg/dL alla 1<sup>a</sup> biopsia, 4.4 mg/dL alla 4<sup>a</sup>, p=0,0001). Le indicazioni principali alla 1<sup>a</sup> biopsia erano state: sindrome nefrosica (37.7%), anomalie urinarie isolate (35.9%) ed insufficienza renale acuta (16.6%). La ribiopsia è stata eseguita in caso di peggioramento funzionale inatteso (61.3%), di ricomparsa di sindrome nefrosica (17.9%) o per valutare l'esito dei pregressi trattamenti ed orientare l'approccio futuro (20.8%). Si sono osservate una concordanza tra la prima e le successive diagnosi istologiche nel 78,6% (173/220, gruppo A), una diagnosi diversa nel 10% (22/220, gruppo B) ed una diagnosi parzialmente discordante (per un'ulteriore indagine diagnostica effettuata o per maggior adeguatezza del campione biopsico) nell'11.4% (25/220, gruppo C).

**Gruppo A:** prevalenza di GN a depositi di IgA (23.7%), seguita dalla GN membranosa (11.6%) e dalla nefropatia lupica (8.7%); concordanza tra sospetto clinico e diagnosi istologica 64% alla 1<sup>a</sup> biopsia e 81% alla 2<sup>a</sup>. **Gruppo B:** prevalenza alla 1<sup>a</sup> biopsia di GN acuta (31.8%), alla 2<sup>a</sup> di GN a depositi di IgA (27.3%) e nefropatia diabetica (22.7%). Concordanza clinico-istologica 55% alla 1<sup>a</sup> biopsia e 42.9% alla 2<sup>a</sup>. **Gruppo C:** alla 1<sup>a</sup> biopsia non alterazioni patologiche nel 20% dei casi, GN a lesioni minime e a depositi di IgM nel 16% ciascuna. Alla 2<sup>a</sup> biopsia prevalenza della GSFS (32%) e Sindrome di Alport (12%). Concordanza clinico-istologica 21.7% alla 1<sup>a</sup> biopsia e 47.8% alla 2<sup>a</sup>.

**Conclusioni.** La ripetizione della biopsia renale, in casi selezionati, è da considerarsi utile (segue)

3

**SICUREZZA ED EFFICACIA DELLA TERAPIA IMMUNOSOPPRESSIVA DELLA SINDROME NEFROSICA DA GLOMERULONEFRITE MEMBRANOSA PRIMITIVA NELL'ANZIANO**Boscutti G<sup>1</sup>, Berbecar D<sup>1</sup>, Marega A<sup>2</sup>, Beltram E<sup>1</sup>, Boer E<sup>1</sup>, Bosco M<sup>1</sup>, Martone M<sup>1</sup>, Mattei PL<sup>1</sup>, Milutinovic N<sup>1</sup>, Montanaro D<sup>2</sup><sup>1</sup>U.O. di Nefrologia e Dialisi, ASS2 "Isontina", Gorizia; <sup>2</sup>U.O. di Nefrologia, Dialisi e Trapianto Azienda Ospedaliero-Universitaria S. Maria della Misericordia di Udine, Udine

**Introduzione.** Sebbene la sindrome nefrosica (SN) secondaria a glomerulonefrite membranosa (GM) idiopatica sia frequente nell'anziano, vi è una scarsità di studi circa sicurezza ed efficacia della terapia immunosoppressiva (TI) in questo paziente.

**Metodi.** Si sono rivisti i risultati della TI in pazienti ≥65 anni con SN secondaria a GM biopsicamente dimostrata. Il trattamento prevedeva un ciclo secondo Ponticelli (1° livello) con l'impiego di steroidi (3 bolus ev di Metilprednisolone 500 mg seguiti da Prednisone per os 0.5 mg/Kg/die per i successivi 27 giorni; 1°, 3° e 5° mese) alternati a Ciclofosfamide per os (1-2 mg/Kg/die; 2°, 4° e 6° mese). Si è definita remissione completa la presenza di una proteinuria (PU) residua <1 g/die e come remissione parziale la presenza di una PU <3.5 g/die. I pazienti che non andavano in remissione o che recidivavano, venivano trattati con Ciclosporina (3 mg/Kg/die poi in funzione dei livelli plasmatici) per 6 mesi mantenuta per almeno 2 anni in caso di remissione (2° livello). Il follow-up è stato 17±46 mesi (M±SD) (da 12 a 133 mesi).

**Risultati.** Dal 1996 al 2007 abbiamo diagnosticato biopsicamente, in pazienti di età ≥ 65 anni, 20 GN membranose; 2 erano secondarie; 1 era caratterizzata da una PU sub-nefrosica; 2 pazienti sono deceduti rapidamente senza aver intrapreso alcuna terapia. Dei restanti 15 pazienti nefrosici, 11 maschi e 3 donne di 70.5±5 anni (65-83), 14 sono stati trattati secondo lo schema sopra riportato e 1 con soli steroidi. La pressione arteriosa media era di 109±16 mmHg; la creatinemia era 1.37±0.78 mg/dl (4 pazienti con creatinemia > 1.5 mg/dl); la PU 7.59±3.88 g/die. Dopo il trattamento di 1° livello, 8 pazienti su 14 (57%) hanno raggiunto una remissione completa e 3 pazienti (21%) una remissione parziale. 4 pazienti (29%) sono passati al trattamento di 2° livello; di questi 2 avevano recidivato dopo una remissione parziale col 1° livello di terapia. Dei 4 pazienti trattati, 2 non hanno risposto, 1 ha ottenuto una remissione parziale e 1 una remissione completa. La terapia è stata ben tollerata determinando, come principale effetto collaterale, una modesta anemia e leucopenia reversibili, responsabili in un solo caso, di completo abbandono della terapia. Nei responder a fine primo livello di terapia la PU è passata da 7.66±3.79 a 1.01±1.19 g/die (p<0.001) e l'albuminemia è risalita da 2.60±0.34 a 3.66±0.47 g/dl (p<0.001). Al termine del follow-up tutti i pazienti salvo 1, deceduto dopo 15 mesi di follow up, sono vivi e con una funzione renale preservata (creatinemia 1.51±0.70 mg/dl); la PU è assente in 5 pazienti; 2 pazienti hanno PU nefrosica; la PU dei restanti 6 pazienti è 1.61±0.62 g/die.

**Conclusioni.** I nostri dati dimostrano che la terapia immunosoppressiva nei pazienti anziani con sindrome nefrosica è sicura ed efficace, inducendo una remissione della sindrome nefrosica in un ampio numero di pazienti (11/14; 79%), migliorando la qualità della vita e, probabilmente, la sopravvivenza.

4

strumento per almeno 2 motivi: 1) la conoscenza degli indici di attività/cronicità e del grado di evoluzione di una nefropatia già nota è talora utile nella modulazione della terapia; 2) in un numero non trascurabile di casi si verificano variazioni morfologiche imprevedibili con la sola diagnostica "clinica", specie nei casi con bassa concordanza clinico-istologica alla prima biopsia.