

## Medicina e Nefrologia dai Social Networks

### cap.4

**Vincenzo Montinaro<sup>1</sup>, Emanuela Cataldo<sup>2,3</sup>, Francesca Cianciotta<sup>2</sup>, Vincenza Colucci<sup>2</sup>,  
Giuseppina D'Ettore<sup>2</sup>, Vincenzo Di Leo<sup>2</sup>, Marica Giliberti<sup>2</sup>, Adele Mitrotti<sup>4</sup>, Chiara Villani<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>U.O. Nefrologia Università degli Studi "Aldo Moro" di Bari

<sup>2</sup>Scuola di Specializzazione in Nefrologia, Azienda Ospedaliero-Universitaria "Conorziale Policlinico" e  
Università degli Studi "Aldo Moro" di Bari

<sup>3</sup>Service de Néphrologie, Centre Hospitalier Le Mans, Francia

<sup>4</sup>Department of Medicine, Division of Nephrology, College of Physicians and Surgeons, Columbia  
University, New York, NY, USA



Vincenzo  
Montinaro

### **1) Whole Exome Sequencing, strumento di indagine genetica che potrà rivelarsi utile per la diagnostica di precisione e il management personalizzato dei pazienti nefropatici cronici**

*Adele Mitrotti*

Nell'era della medicina di precisione, il *Whole Exome Sequencing* (WES) rappresenta una recente ed utile metodica genomica per la diagnosi di malattie a carattere ereditario.

Nei pazienti affetti da malattia renale cronica terminale (MRC) la causa resta spesso sconosciuta; nel 10-25% dei casi i pazienti presentano una storia familiare di patologie renali. Un interessante studio pilota pubblicato a Dicembre 2017 di Ali Gharavi e collaboratori della divisione di Nefrologia della *Columbia University* di New York, descrive come il WES possa rappresentare un utile mezzo diagnostico nei pazienti nefropatici. Per mezzo del WES si possono sequenziare e analizzare le regioni codificanti del genoma umano, chiamate esoni, ricche di varianti geniche, permettendo lo screening di quei geni che, quando mutati, causano un fenotipo patologico. In questo studio, 92 pazienti adulti affetti da MRC da causa non nota e con storia familiare positiva per patologie renali, o con sospetto clinico di malattie genetica, sono stati sequenziati con la metodica del WES. Tale procedura ha permesso di identificare una mutazione genica diagnostica in 22 pazienti (24%), con importanti implicazioni circa il management clinico, corretto approccio terapeutico con minimizzazione degli effetti avversi causati da terapie immunosoppressive, appropriato counseling familiare e stratificazione del rischio in caso di trapianto di rene. Tutti i pazienti sono stati sottoposti a screening genetico per 653 geni, noti per essere associati a un fenotipo patologico renale, oltre ai 59 geni verso cui esistono strategie terapeutiche o follow-up prognostici definiti, come riconosciuto dall'*American College of Medical Genetics* (ACMG). Questo studio ha permesso di dimostrare le grandi potenzialità del sequenziamento genico attraverso WES, in una popolazione di pazienti adulti affetti da malattia renale cronica.

In alcuni pazienti affetti da sindrome di Alport, il WES ha confermato la diagnosi clinica, ma ha inoltre permesso di discriminare le modalità di trasmissione genetica (X-linked o autosomica dominante), permettendo un appropriato screening e *counseling* familiare. Un dato molto interessante è il riscontro emergente di mutazioni dei geni che codificano per il collagene IV (COL4A3, COL4A4, COL4A5) in un gruppo di pazienti affetti da Glomerulosclerosi Focale e segmentaria. Questi dati rinforzano le proposte dei recenti studi in cui si suggerisce una rivalutazione dello spettro fenotipico di alcune patologie renali come la Sindrome di Alport e/o le patologie collagene  $\alpha$ 4-associate. Inoltre, in una paziente sottoposta a WES perché affetta da

glomerulopatia fibrillare di ndd, il riscontro di una mutazione patogenica del gene BRCA1, facente parte della lista dei geni ACMG, ha permesso di diagnosticare precocemente carcinoma mammario altrimenti silente nella paziente.

In aggiunta al valore diagnostico e clinico, questo studio evidenzia le potenzialità del sequenziamento genico, non solo in correlazione al fenotipo della coorte studiata: l'analisi dei dati di sequenziamento a largo spettro nei pazienti non portatori di mutazioni geniche diagnostiche per il fenotipo renale, ha permesso, infatti, di riconoscere ed ampliare le caratteristiche fenotipiche di una condizione sindromica autosomica dominante, notoriamente caratterizzata da fibrosi epatica e polmonare in associazione a sindrome mielodisplastica causata da ridotta lunghezza dei telomeri. Due pazienti portatori di mutazioni troncanti del gene PARN, presentavano entrambi nefropatia interstiziale cronica (mai descritta precedentemente in associazione a tale mutazione e condizione clinica) associata ad anemia microcitica e patologia polmonare interstiziale.

Il WES si può considerare quindi una tecnica di sequenziamento genico di enorme utilità, non solo scientifica, ma anche clinica. Lo screening genetico dei nostri pazienti nefropatici, sia adulti sia bambini, potrebbe, infatti, favorire la medicina personalizzata e di precisione, per i pazienti con sospetta patologia ereditaria, su base genetica. L'avanzamento di tali procedure in casi selezionati permetterebbe una diagnosi mirata, con una migliore gestione terapeutica, corretta sorveglianza delle possibili complicanze e condizioni extrarenali nelle forme sindromiche, con un'accurata stratificazione del rischio in caso di trapianto renale con un potenziale miglioramento nella gestione delle risorse e spese sanitarie e lo sviluppo di nuovi trials clinici per una corretta correlazione genotipo-fenotipo.

#### **Approfondimento:**

Lavoro originale su *Annals of Internal Medicine*:

<http://annals.org/aim/article-abstract/2665040/whole-exome-sequencing-adults-chronic-kidney-disease-pilot-study>

#### **Impatto sulla Web Community:**

<https://annals.altmetric.com/details/30064786>

## **2) La glomerulonefrite con depositi di C3 e la malattia con depositi densi condividono un simile decorso clinico**

*Marica Giliberti*

Le glomerulonefriti membrano-proliferative (GNMP) sono un gruppo eterogeneo di malattie, caratterizzate dalla deposizione (o formazione in situ) di immunocomplessi in sede sottoendoteliale, sottoepiteliale e/o mesangiale o dalla disregolazione della via alterna del complemento.

La classificazione tradizionale in GNMP tipo I, II e III, basata principalmente sulle caratteristiche ultrastrutturali glomerulari, è stata recentemente sostituita da una nuova classificazione, che riconosce maggiore importanza ai meccanismi patogenetici e distingue la GNMP mediata da immunocomplessi (con deposizione glomerulare di immunoglobuline e complemento) e la GNMP conseguente ad anomalie della regolazione della via alterna del complemento (con deposizione isolata di C3). L'entità nosologica C3 Glomerulopatia (C3G) comprende quindi sia la malattia a

depositi densi (DDD, *dense deposit disease*) che la glomerulonefrite con depositi isolati di C3 (C3 glomerulonefrite, C3GN). In entrambi i casi vi è un'alterazione della regolazione della via alterna del complemento e secondariamente una persistente attivazione del complemento stesso. Questa glomerulopatia non è causata quindi dalla deposizione di immunocomplessi ma dalla deposizione dei prodotti del complemento lungo le pareti dei capillari e nel mesangio. Per distinguere la DDD dalla C3GN bisogna ricorrere alla microscopia elettronica: nella DDD sono presenti depositi elettrondensi, all'interno della membrana basale a forma di "salsicciotto" e nella C3GN i depositi hanno una localizzazione mesangiale, subendoteliale e meno frequentemente subepiteliale.

A. Bomback e il gruppo di ricerca della *Columbia University* di New York recentemente hanno effettuato uno studio retrospettivo su una grande coorte di pazienti americani affetti da G3G, 111 adulti e pediatrici, di cui 87 con C3GN e 24 con DDD, al fine di individuare i fattori predittivi di malattia renale cronica (MRC) ed ESRD. Sono state valutate alcune caratteristiche cliniche: presentazione clinica (ematuria, proteinuria, creatininemia e GFR alla diagnosi), livelli di complementemia alla diagnosi, mutazioni di fattori del complemento, presenza di auto-anticorpi diretti contro fattori del complemento, presenza di paraproteine nel sangue e/o urine. È stato anche calcolato uno score istologico per valutare il grado di attività e cronicità della malattia. Elementi di attività erano considerati: ipercellularità mesangiale, proliferazione endocapillare, pattern membrano-proliferativo, infiltrazione leucocitaria, presenza di *crests*, necrosi fibrinoide, infiltrato infiammatorio interstiziale. Gli elementi di cronicità comprendevano: glomerulosclerosi, atrofia tubulare, fibrosi interstiziale, arterio- e arteriosclerosi.

Le mutazioni dei fattori del complemento e gli autoanticorpi sono stati rilevati rispettivamente nel 24% e nel 35% dei pazienti in studio. Mentre l'applicazione dello score istologico ha mostrato una maggiore attività di malattia nei pazienti con C3GN e un maggior grado di cronicità nei pazienti affetti da DDD.

La progressione verso la MRC avanzata e l'ESRD era comune nella coorte; infatti, non si riscontravano differenze significative tra i pazienti con C3GN (39,1%) e DDD (41,7%) per l'*endpoint* primario combinato che comprendeva il raddoppio della creatinina, la progressione verso la MRC stadio V, l'ESRD, il trapianto o la morte. Durante il follow-up medio di 72 mesi la remissione si è verificata nel 38% dei pazienti con C3GN e nel 25% dei pazienti con DDD.

L'analisi multivariata ha evidenziato che i fattori predittivi più forti di progressione della malattia erano il GFR alla diagnosi (variabili cliniche) e la presenza di atrofia tubulare/fibrosi interstiziale (variabili istologiche).

Questi dati dimostrano che in pazienti affetti da C3G vi è un alto tasso di progressione verso la MRC e l'ESRD senza differenze significative tra C3GN e DDD.

Tali dati suggeriscono che la diagnosi precoce e l'eventuale ricorso ad una terapia specifica per la patologia potrebbero essere le migliori strategie per "mitigare" la storia naturale di questa grave malattia.

### **Approfondimento:**

Lavoro originale su *Kidney International*

[http://www.kidney-international.org/article/S0085-2538\(17\)30802-5/fulltext](http://www.kidney-international.org/article/S0085-2538(17)30802-5/fulltext)

### **Impatto sulla Web Community:**

<https://plu.mx/plum/a/?doi=10.1016%2Fj.kint.2017.10.022&theme=plum-jbs->

theme&hideUsage=true&display-tab=summary-content

### **3) MFHR1: una proteina di fusione che può rappresentare una nuova terapia complemento-inibente nella Sindrome emolitico-uremica atipica e nella C3 glomerulonefrite**

*Vincenzo Montinaro*

L'attivazione del complemento per via alternativa rappresenta il meccanismo patogenetico centrale in nefropatie diverse che sono accomunate da una disregolazione della funzione di questo sistema protettivo dell'immunità naturale. Nella sindrome emolitico-uremica atipica (SEUa) e nella C3 glomerulonefrite (C3GN), per vari meccanismi che interessano componenti regolatori della attivazione complementare si ha un danno endoteliale diffuso, nel primo caso, e la deposizione di frammenti attivi e flogosi glomerulare, nel secondo. Queste patologie con diversa estrinsecazione clinica potrebbero quindi essere trattate con farmaci con funzione complemento-inibente. Già da qualche anno è stato registrato in Italia e nel mondo l'eculizumab, anticorpo monoclonale anti-C5 che sembra svolgere un ruolo di efficacia terapeutica nella SEUa, specie quando la patogenesi è legata a un difetto genetico o acquisito della funzione di componenti regolatori come il fattore H. Nella C3GN, ad oggi la terapia immunosoppressiva, ad esempio a base di steroidi e micofenolato mofetile, sembra avere efficacia nel ridurre i meccanismi flogistici renali.

Un recente studio di K. Häffner e colleghi dell'Università di Friburgo ha dimostrato la possibilità di costruire proteine di fusione che svolgono un ruolo inibente il complemento a vari livelli. Gli Autori, con tecniche di ingegneria genetica, hanno creato un costrutto, MFHR1 che contiene due *domains* della proteina FHR-1 (proteina correlata al fattore H-1, FHR<sub>1-2</sub>), legati ai primi 4 e agli ultimi due *domains* del fattore H (FH<sub>1-4</sub>, FH<sub>19-20</sub>). FHR<sub>1-2</sub> sono in grado di legarsi al C5, inibendone il clivaggio e la formazione della C5 convertasi e inibiscono anche l'assemblaggio di C5b-9. I *domains* FH<sub>1-4</sub> legano il C3b, per esempio della C3 convertasi della via alterna, determinandone la trasformazione in C3bi e quindi il decadimento dell'attività convertasica; in ultimo, FH<sub>19-20</sub>, conferiscono a MFHR1 la capacità di legarsi al substrato, quindi ad esempio la superficie endoteliale, aumentando la concentrazione della proteina dove sta avvenendo l'attivazione del complemento e il perpetuarsi del danno endoteliale. MFHR1 sarebbe anche in grado di aggregarsi in multimeri, aumentando la sua efficienza; inoltre esso e non è inibito dal legame con altri FHR.

In questo lavoro vengono presentate varie evidenze dell'attività inibente di MFHR1 sulla generazione di C3a e C5a (anafilotossine e chemochine) e dell'assemblaggio del complesso terminale di membrana (C5b-9) che svolge ruolo patogenetico nelle malattie complemento-mediate. Non è stato possibile testarlo in un modello di SEUa, perché non disponibile ad oggi. Mentre MFHR1 ha dimostrato di inibire l'emolisi indotta dal siero di un paziente con SEUa dovuta a un difetto del fattore H, in maniera più efficiente dell'eculizumab. Inoltre, topi knock-out per fattore H (FH -/-) che tendono a sviluppare una nefropatia simile alla C3GN dell'uomo con depositi glomerulari di C3/C5 e ridotti livelli circolanti di C3, trattati con una singola dose di MFHR1, mostravano, nelle 24 ore successive un aumento dei livelli circolanti di C3 e una riduzione dei depositi glomerulari della stessa proteina. Inoltre, MFHR1 era presente nei depositi glomerulari di C3, a dimostrazione dell'azione diretta della proteina di fusione sul meccanismo patogenetico centrale in questo modello sperimentale.

Questi studi fanno intravedere una possibilità futura di impiego di tale fattore inibente complementare in patologie umane caratterizzate da attivazione del Complemento come la SEUa e la C3GN.

## **Approfondimento:**

Lavoro originale su *Journal of the American Society of Nephrology*:

<http://m.jasn.asnjournals.org/content/early/2018/01/14/ASN.2017070738.abstract>

### **4) L'Advillina agisce a monte della fosfolipasi C $\epsilon$ 1 (PLCE1) nella sindrome nefrosica steroido-resistente e può rappresentare un target terapeutico in questa condizione**

*Giuseppina D'Ettorre*

La sindrome nefrosica steroido-resistente (SRNS) è associata istologicamente alla glomerulosclerosi focale e segmentaria (GSFS) ed è geneticamente eterogenea. Alcune forme sono causate da mutazioni monogeniche che si manifestano fenotipicamente con una disfunzione podocitaria. Diverse proteine mutate sono state identificate, come responsabili delle SRNS e, ancora più interessante, è il riscontro che dalle singole proteine mutate si possono disegnare delle *pathways* di interazione multi-proteica che porta alla disfunzione podocitaria.

Uno dei cluster di interazione proteina-proteina è quello implicato nel controllo dinamico dell'actina citoscheletrica, essenziale nel mantenimento della forma e del movimento dei pedicelli podocitari. Difetti nel rimodellamento dell'actina si manifestano come difetti della frazione di migrazione podocitaria (*podocyte migration rate* PMR) nelle colture cellulari.

Un recente studio di F. Hildebrandt e collaboratori del *Boston Children Hospital* ha individuato mutazioni dell'advillina (AVIL), proteina che lega l'actina, come causa di SNSR monogeniche, impiegando tecniche di *mapping* di omozigosi e di sequenziamento degli esoni.

L'Advillina è un membro della famiglia villina/gelsolina, il più simile nella sequenza alla villina. È noto il suo ruolo nella crescita e nella morfogenesi neuronale, ma non ci sono informazioni sul ruolo nei reni o nei podociti. Con l'utilizzo di tecniche di immunofluorescenza, gli autori hanno dimostrato la presenza dell'advillina nelle regioni periferiche dei podociti, lì dove sono presenti i lamellipodi e le adesioni cellulari. Essa è implicata nella polimerizzazione della F actina. Per meglio caratterizzare le mutazioni di questa proteina nelle SRNS, sono state studiate le proprietà di associare (mediante centrifugazione a bassa velocità), di legare (usando un saggio di co-sedimentazione) e dividere l'actina. Mentre tutte le mutazioni dell'advillina mostrano una significativa perdita nell'attività di associazione dei filamenti dell'actina, solo le mutazioni troncanti alterano anche la co-localizzazione con l'actina e la funzione di legame e di divisione della stessa.

Era già noto che mutazioni della fosfolipasi PLCE1 sono implicate nella patogenesi delle forme di SRNS. L'asse ipotizzato prevede quindi interazioni tra la fosfolipasi, l'advillina, l'actina e ARP2/3 (*actin-nucleating complex member actin-related protein 2/3*).

Gli autori hanno dimostrato l'interazione e la co-localizzazione dell'advillina con la fosfolipasi PLCE1 che genera i secondi messaggeri implicati nella regolazione delle scorte di calcio, iniziando la separazione dell'actina, un prerequisito nella generazione del complesso proteico. Inoltre, è stato studiato l'effetto dell'advillina sulla PMR e hanno scoperto che l'*epidermal growth factor* (EGF) aumenta la PMR, parzialmente diminuita da alterazioni del gene AVIL o PLCE1. L'aumento della PMR indotta dalla sovra-espressione di AVIL o PLCE1 o dal segnale di EGF è abolito da un inibitore del complesso di ARP2/3, indicando che la formazione dei lamellipodi ARP-dipendente, dipende a sua volta dalla funzione di AVIL e PLCE1.

In definitiva questi ricercatori hanno delineato un asse completo nelle SNSR che integra la perdita di funzione dell'advillina con il ruolo, già stabilito, della fosfolipasi. Molti componenti di questo asse possono rappresentare targets farmacologici per SNSR, per le quali non esistono al momento

trattamenti efficaci.

**Approfondimento:**

Lavoro originale su *Journal of Clinical Investigation*

<https://www.jci.org/articles/view/94138>

**Impatto sulla Web Community (Article usage):**

<https://www.jci.org/articles/view/94138/usage>

**5) Dialisi ad alto cut-off per la rimozione delle catene leggere plasmatiche in pazienti con nefropatia da mieloma: ha un ruolo nel ridurre la dipendenza da dialisi rispetto al trattamento convenzionale?**

*Chiara Villani*

Il mieloma multiplo (MM) sintomatico esordisce, in circa il 30% dei pazienti, con un'insufficienza renale acuta, che in una minoranza di casi può richiedere il trattamento emodialitico. La *cast nephropathy*, caratterizzata dalla precipitazione delle catene leggere monoclonali legate all' uromodulina nei tubuli distali dei reni, è la principale causa di danno renale acuto e di riduzione persistente della funzione renale. Tale condizione influisce fortemente sulla prognosi dei pazienti con MM. Un miglioramento della funzione renale è ottenibile se la diagnosi è precoce e se la terapia è instaurata in tempi rapidi. Lo schema farmacologico attualmente in uso per indurre la remissione è dato dall'associazione di farmaci che inibiscono il proteasoma come bortezomib associato a desametasone. Questo schema terapeutico agisce riducendo la produzione della componente monoclonale da parte del clone plasmacellulare trasformato. Rimane da stabilire se, nei casi con esordio con insufficienza renale da *cast nephropathy*, potrebbe essere d'aiusilio l'aggiunta di ulteriori strategie, atte alla rapida rimozione delle catene leggere sieriche nefrotossiche, prima che si manifestino appieno gli effetti della chemioterapia.

A tal fine, recentemente sono stati pubblicati i risultati dello studio francese MYRE, con F. Bridoux come autore leader, del Centro Ospedaliero Universitario di Poitiers, che vedeva la collaborazione nefrologi/ematologi. Questo studio multicentrico (48 centri), randomizzato e controllato è stato condotto dal luglio 2011 al giugno 2016 e aveva come obiettivo di confrontare il tasso di discontinuazione dall'emodialisi in pazienti con recente diagnosi di nefropatia da mieloma, trattati con emodialisi ad alto cut-off (in grado di eliminare le catene leggere libere circolanti) o con emodialisi convenzionale ad alti flussi (bassa permeabilità alle catene leggere). I 94 pazienti arruolati erano randomizzati in due bracci: 46 nel primo gruppo e 48 nel secondo. Tutti i pazienti, inoltre, ricevevano il medesimo regime chemioterapico a base di bortezomib e desametasone.

Quali i risultati? Il tasso di interruzione dell'emodialisi a 3 mesi era del 41,3% (n = 19) nel braccio dell'emodialisi ad alto cut-off vs il 33,3% (n = 16) nel gruppo dell'emodialisi convenzionale (P=0,42); tuttavia gli *end-point* secondari, cioè la dipendenza da dialisi a 6 o 12 mesi erano rispettivamente nei due gruppi 56,5% (n = 26) vs 35,4% (n = 17) (P=0,04); e a 12 mesi, il tasso era 60,9% (n = 28) vs 37,5% (n = 18) (P=0,02). La mortalità a 12 mesi era comparabile nei due gruppi (20% vs. 21%). Lo studio non ha dimostrato un vantaggio della dialisi ad alto cut-off nel ridurre la dipendenza da dialisi in pazienti con MM, bisogna tuttavia considerare che nell'analisi preliminare della dimensione campionaria era stato considerato un aumento del tasso di dialisi-indipendenza a 3 mesi dal 30% al 60%, *end-point* primario che non è stato raggiunto e pone problemi di disegno dello studio stesso. La migliore prognosi a 12 mesi è considerato un evento secondario e pone

problemi di un possibile errore alpha (ipotesi non testata primariamente).

In termini pratici, dunque, l'utilizzo dell'emodialisi ad alto cut-off in confronto all'emodialisi convenzionale nel MM, non ha dato delle differenze statisticamente significative riguardo all'indipendenza dall'emodialisi a tre mesi. Tuttavia, lo studio potrebbe essere stato sottodimensionato e pertanto può non aver fornito delle differenze cliniche precoci significative. Anche in questo campo la partita resta ancora aperta.

### **Approfondimento:**

Lavoro originale su *JAMA*

<https://jamanetwork.com/journals/jama/article-abstract/2665000?redirect=true>

### **Impatto sulla Web Community:**

<https://jamanetwork.altmetric.com/details/30033532>

## **6) Danno renale nella sindrome da embolia di cristalli di colesterolo**

*Emanuela Cataldo*

La Sindrome da embolia di cristalli di colesterolo (CCE) è una patologia sistemica severa, che rientra nell'ambito delle cristallopattie, causata dall'embolizzazione di cristalli di colesterolo a partire da placche aterosclerotiche ulcerate, localizzate principalmente a livello aortico, che causano l'occlusione di arteriole di piccolo-medio calibro (100-200 µm di diametro), generando un danno di natura ischemica a carico degli organi colpiti.

Potenzialmente, qualsiasi distretto corporeo molto vascolarizzato può essere interessato. I fattori di rischio principali sono: sesso maschile, età superiore a 60 anni, diabete, ipertensione arteriosa, aterosclerosi. Il fattore scatenante è spesso rappresentato da procedure endovascolari invasive (angiografia, cateterizzazione cardiaca, angioplastica coronaria) che facilitano la rottura della placca aterosclerotica e il distacco degli emboli di colesterolo. Una terapia anticoagulante di lunga durata contribuisce ad aumentare il rischio di CCE.

Da un punto di vista patogenetico, l'obliterazione delle arteriole di piccolo calibro è il risultato di una necro-infiammazione innescata dal danno endoteliale indotto dai cristalli di colesterolo, seguito dall'infiltrazione di neutrofili, eosinofili ed istiociti (fase sub-acuta) e cellule giganti multinucleate (fase tardiva). Il processo flogistico culmina nella proliferazione intimale e nella fibrosi intravascolare con una conseguente obliterazione vascolare. La risposta infiammatoria è anche sostenuta dall'attivazione della via classica ed alternativa del complemento da parte dei cristalli di colesterolo.

Il rene è uno degli organi più colpiti. L'interessamento renale può configurarsi come un danno acuto (in caso di embolizzazione massiva di cristalli di colesterolo a seguito della rottura di una placca aterosclerotica ampia e instabile), come un infarto renale o come un quadro di insufficienza renale cronica a lenta evoluzione, associata alla presenza di proteinuria (anche nel range nefrosico) e microematuria, mimando altre cause comuni di malattia renale cronica (glomerulosclerosi, nefroangiosclerosi, vasculiti) e rendendone difficile il tempestivo riconoscimento.

La cute è il distretto extra-renale più frequentemente colpito: le manifestazioni cutanee interessano soprattutto le estremità e si presentano sotto forma di *livedo reticularis*, sindrome

delle dita blu, ulcere, porpora. Il danno ischemico può interessare anche il distretto gastro-intestinale, muscolare, oculare (le placche di Hollenhorst a livello retinico sono patognomoniche) ed il sistema nervoso centrale.

Sebbene la clinica e gli esami di laboratorio (tipico il riscontro di eosinofilia ed ipocomplementemia) possano orientare verso una diagnosi di CCE, l'esame istologico rimane dirimente, se pur di difficile realizzazione, specialmente a livello cutaneo, considerando le difficoltà legate alle piccole dimensioni delle lesioni e all'estensione dell'area necrotica.

Recentemente A. Fogo e collaboratori della *Vanderbilt University* di Nashville, Tennessee (USA) hanno descritto le caratteristiche isto-morfologiche di questa entità. Alla microscopia ottica, gli emboli di colesterolo sono visualizzati come spazi aghiformi otticamente vuoti (i cristalli si dissolvono a seguito della fissazione in formalina), circondati da fibrina, leucociti e cellule giganti multinucleate (nella fase subacuta) o da fibrosi intimali (nelle fasi croniche). A livello renale, le lesioni sono localizzate principalmente nelle arterie interlobulari ed arcuate. Un'area di necrosi tubulare può essere presente in caso di embolizzazione massiva di colesterolo. La microscopia elettronica può evidenziare inoltre la retrazione dei pedicelli dei podociti; l'immunofluorescenza è invece negativa.

Da un punto di vista terapeutico, l'approccio più diffuso e validato prevede l'uso di corticosteroidi orali a basso dosaggio e a lungo termine: il rationale del loro utilizzo risiede nella patogenesi infiammatoria del danno tissutale. Il trattamento anticoagulante viene interrotto; antiaggreganti e statine vengono introdotti o confermati in terapia.

La prognosi della CCE rimane severa: ciò risulta particolarmente importante in ambito nefrologico sia per l'elevata prevalenza dell'interessamento renale in tale sindrome, sia per la difficoltà di diagnosi nei pazienti dializzati, in cui viene meno l'elemento diagnostico del peggioramento della funzione renale e in cui le lesioni cutanee da CCE devono essere differenziate da una vasta gamma di lesioni ischemiche (calcifilassi, vasculiti, necrosi da dicumarolici).

### **Approfondimento:**

Lavoro originale su *American Journal of Kidney Diseases*

[http://www.ajkd.org/article/S0272-6386\(16\)00145-1/fulltext](http://www.ajkd.org/article/S0272-6386(16)00145-1/fulltext)

### **Impatto sulla Web Community:**

[https://plu.mx/plum/a/?doi=10.1053%2Fj.ajkd.2016.02.034&theme=plum-jbs-theme&hideUsage=true&display-tab=summary-content#FACEBOOK\\_COUNT](https://plu.mx/plum/a/?doi=10.1053%2Fj.ajkd.2016.02.034&theme=plum-jbs-theme&hideUsage=true&display-tab=summary-content#FACEBOOK_COUNT)

## **7) Infiammazione tubulo-interstiziale indotta dall'albuminuria: il ruolo degli esosomi contenenti CCL2 mRNA**

*Vincenza Colucci*

L'albuminuria rappresenta uno dei principali segni di danno renale e va interpretata non solo come *biomarker*, ma soprattutto quale elemento patogenetico nella progressione della malattia renale cronica. L'albuminuria, infatti, ha un ruolo chiave nel promuovere l'infiammazione cronica tubulo-interstiziale. Le cellule dell'epitelio tubulare sono direttamente esposte al carico di albumina filtrata dal glomerulo e sono inoltre contigue all'interstizio, quindi, condizioni di severa albuminuria determinano danno delle cellule tubulari con conseguente rilascio di mediatori dell'infiammazione diretti al parenchima renale.

Recenti studi hanno mostrato come esista una comunicazione intercellulare mediata da vescicole extracellulari quali gli esosomi, in grado di trasferire informazioni genetiche, sotto forma di mRNA e micro RNA. Un recente studio condotto dal gruppo guidato da Bi-Cheng Liu dell'Università di Nanchino in Cina, ha dimostrato come le cellule tubulari, in seguito al contatto con albumina, rilascino esosomi contenenti principalmente mRNA codificante la chemochina CCL2 o *monocyte chemoattractant protein-1* (MCP-1); questi esosomi sarebbero captati dai macrofagi interstiziali, che in tal modo verrebbero attivati, contribuendo all'infiltrazione infiammatoria interstiziale renale. Più specificamente, tale sperimentazione è stata condotta su topi con danno renale acuto (provocato dalla somministrazione intraperitoneale di lipopolisaccaride batterico) e su ratti con danno renale cronico (nephrectomia 5/6); in entrambi questi gruppi di animali, rispetto ai controlli, è stato riscontrato un maggior numero di esosomi contenenti CCL2 mRNA sia nel tessuto renale sia nelle urine. In vitro ciò è stato confermato dalla stimolazione delle cellule tubulari prossimali con albumina sierica bovina, che procurava il rilascio di esosomi e la loro internalizzazione da parte dei macrofagi con successiva migrazione cellulare e risposta infiammatoria. Inoltre, in un altro studio in vivo, gli esosomi prodotti da cellule tubulari trattate con BSA sono stati iniettati endovena nei topi; questi mostravano interstiziopatia e flogosi tubulare al contrario dei topi in cui erano iniettati esosomi rilasciati da cellule tubulari non esposte a BSA.

Per dimostrare la correlazione clinica tra queste vescicole extracellulari e la proteinuria è stata analizzata l'espressione di esosomi contenenti CCL2 mRNA in 36 pazienti affetti da nefropatia da IgA rispetto a 16 casi controllo. I soggetti con nefropatia da IgA avevano una proteinuria media di 3,4 g/24h, mentre i soggetti controllo erano negativi per proteinuria. Nel primo gruppo è stato osservato un elevato numero di esosomi urinari rispetto ai controlli, a conferma di come questi siano strettamente correlati con la proteinuria oltre che con il grado di attivazione macrofagica.

Le diverse sperimentazioni proposte da questo studio permettono di affermare perciò che in condizioni proteinuriche, gli esosomi contenenti CCL2 mRNA possono rappresentare un nuovo marker di danno renale tubulo-interstiziale e in futuro potrebbero essere utilizzati per monitorare la progressione della malattia renale.

#### **Approfondimento:**

Lavoro originale su *Journal of the American Society of Nephrology*

<http://m.jasn.asnjournals.org/content/early/2018/01/02/ASN.2017050523.abstract>

### **8) HDL, LDL e Trigliceridi come fattori di rischio dell'insufficienza renale cronica**

*Vincenzo Di Leo*

Le dislipidemie rappresentano una delle cause determinanti l'aterosclerosi, ma i loro effetti sulla funzione renale sono ancora poco chiari. Prevalentemente alterazioni delle HDL e dei trigliceridi sembrano associate con una maggiore probabilità di sviluppare malattia renale cronica (MRC). Recentemente M.B. Lanktree e Colleghi, dell'Università McMaster, dell'Ontario (Canada), hanno condotto uno studio basato sulla randomizzazione Mendeliana per poter valutare l'esistenza di un nesso causale tra differenti genotipi, in grado di determinare variazioni dei livelli di concentrazione plasmatica del colesterolo HDL, del colesterolo LDL e dei trigliceridi, con la MRC.

La randomizzazione Mendeliana si basa sull'utilizzo di noti polimorfismi genetici (*single nucleotide polymorphism*, SNP) in grado di produrre fenotipi diversi, che subiscono gli effetti dell'esposizione a fattori ambientali, i quali a loro volta modificano il rischio di malattia. Attraverso questa metodologia si valutano le allocazioni casuali di SNP identificati con tecniche di *genome wide analysis sequencing* (GWAS) conseguenti alla meiosi, e come loro permettano di distinguere gli

individui in un gruppo con alto rischio e uno con basso rischio di sviluppare una determinata condizione patologica. In particolare, in questo studio sono state selezionate, dal *Global Lipids Genetics Consortium* (GLGC), alcune varianti genetiche (SNPs) associate a determinati tratti lipidici e, tramite la *CKD Genetics Consortium* (CKDGen), le stesse sono state correlate con gli outcome renali (filtrato glomerulare, insufficienza renale cronica, rapporto albuminuria creatinuria, ACR). Dai dati che emergono dallo studio, i polimorfismi genetici correlati ad una concentrazione di colesterolo HDL più alta di 17 mg/dl, sono associati ad un eGFR superiore mediamente dello 0,8% e ad un minor rischio (OR 0,85, intervallo di confidenza 0,79-0,91;  $p < 0,001$ ) di sviluppare insufficienza renale cronica (definita da un eGFR inferiore ai 60 ml/min/1,73m<sup>2</sup>); inoltre, lo stesso livello di HDL si associava a un valore medio di ACR più basso del 4,4%, anche se all'analisi multivariata, questo valore non era statisticamente significativo. Per quanto riguarda le altre frazioni lipidiche, non si evidenziava una relazione causale tra concentrazione plasmatica di LDL o trigliceridemia e funzione renale o maggior rischio di MRC.

Questo studio quindi enfatizza come bassi livelli di colesterolo HDL, determinati geneticamente, predispongano a sviluppare MRC, nel corso della vita, specie in seguito all'interazione con variabili ambientali acquisite. I livelli di colesterolo LDL e trigliceridi, determinate dall'assetto genetico dell'individuo, non determinano un aumentato rischio di incorrere in MRC. Nessuna delle condizioni genetiche associate a specifici pattern lipidici sembrava essere in correlazione diretta con la possibilità di sviluppare aumentati livelli di ACR che configurano la diagnosi di MRC. Infine, la metodologia di questo studio ha permesso di escludere la causazione inversa fra livelli di HDL e rischio di MRC.

Studi di intervento terapeutico saranno necessari in futuro per valutare l'impatto della correzione della predisposizione genetica a bassi valori di HDL sul rischio di sviluppare MRC.

### **Approfondimento:**

Lavoro originale su *American Journal of Kidney Diseases*

[http://www.ajkd.org/article/S0272-6386\(17\)30791-6/fulltext](http://www.ajkd.org/article/S0272-6386(17)30791-6/fulltext)

### **Impatto sulla Web Community:**

<https://plu.mx/plum/a/?doi=10.1053%2Fj.ajkd.2017.06.011&theme=plum-jbs-theme&hideUsage=true&display-tab=summary-content>

## **9) Trimethoprim interferisce con la secrezione tubulare della creatinina e provoca un aumento della creatinemia e una riduzione apparente del GFR**

*Vincenzo Montinaro*

La creatinina è usata da oltre un secolo come marcatore della funzionalità renale perché ha un metabolismo renale adeguato: viene liberamente filtrata dal glomerulo e non è in massima parte secreta o riassorbita dal tubulo renale. La sua clearance perciò riflette quantitativamente la principale funzione renale cioè il GFR. Tuttavia, esiste una quota di creatinina (circa il 10% del totale presente nelle urine) che è eliminata attraverso un meccanismo di secrezione tubulare. Questa avviene a livello del tubulo prossimale e vede coinvolti dei trasportatori aspecifici che sono rappresentati da OCT2 e OCT3 (*organic cation transporter 2 e 3*) dal lato baso-laterale delle cellule tubulari e MATE-1 e MATE-2K (*multidrug and toxin extrusion protein 1 e 2K*) dal lato apicale. Esiste quindi un trasporto trans-cellulare della creatinina. Il dato interessante è che farmaci, alcuni di uso comune, possono inibire questo trasporto a vari livelli.

Uno studio recente di K. Ito e collaboratori dell'Università Musashino di Tokio ha studiato i meccanismi farmacocinetici di interazione del trimethoprim con questi trasportatori e i suoi effetti acuti sui livelli di creatinemia e clearance della creatinina. Utilizzando dosaggi di trimethoprim di 5 mg/Kg in 2 o 4 dosi giornaliere o un dosaggio fisso di 200 mg per due volte al dì fino a un massimo di 15 giorni in volontari sani, hanno documentato come la somministrazione di questo farmaco determinasse rispettivamente un aumento dei livelli di creatinemia del 22,2%, 31,3% e 23,0% rispetto al basale con i vari dosaggi impiegati, con rispettive riduzioni della clearance della creatinina di 21,3%, 16,0% e 21,8%. L'incremento della creatinemia rientrava completamente dopo 5 giorni dalla sospensione del trattamento. In base a studi in vitro su cellule HEK293 si è dimostrato che l'affinità di legame del trimethoprim con i vari trasportatori è più efficace verso sia MATE-1 che MATE-2K, scarsamente efficace su OCT3 e ancora meno su OCT2, mentre non avrebbe azione su OAT2 (*organic anionic transporter 2*), chiamato in ballo anche nel trasporto trans-cellulare della creatinina.

Questi dati hanno una rilevanza clinica poiché è necessario tenere presente tale azione del trimethoprim su moderati incrementi di creatinemia, che non corrispondono a una reale riduzione del GFR, come è stato dimostrato con studi di clearance basati su <sup>51</sup>Cr-EDTA. Questo effetto inibente sui trasportatori tubulari della creatina non è una prerogativa solo del trimethoprim, ma è posseduto da altri farmaci come alcuni antivirali (rilpivirina, dolutegravir, cobicistat, telaprevir), cimetidina, dronedarone, pirimetamina.

#### **Approfondimento:**

Articolo originale su *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1347436717301805>

#### **10) Iponatremia severa: sappiamo trattarla?**

*Francesca Cianciotta*

L'iponatremia è uno dei disordini elettrolitici che si riscontrano frequentemente nei pazienti ricoverati. Le forme gravi ( $\text{Na}^+$  plasmatico < 120 mEq/litro), rappresentano una condizione clinica che richiede trattamento acuto ed appropriato poiché questi pazienti si trovano in una condizione sospesa fra l'incudine (la morbidità legata alle complicanze dell'edema cerebrale se l'iponatremia non è corretta con sufficiente rapidità) e il martello (la demielinizzazione pontina, se invece la correzione è troppo veloce e non riesce a compensare le differenze di osmolarità plasma/SNC determinate dalla presenza della barriera emato-encefalica). Peraltro, in passato sono state proposte linee guida diverse per il trattamento delle iponatremie severe.

Richard H. Sterns della Facoltà di Medicina dell'Università di Rochester (New York, USA) ha confrontato le linee guida europee e quelle americane su questo argomento dibattuto da secoli che fin dalla classica definizione in iponatremia acuta e cronica (presente da più di 48 h) evidenzia delle difficoltà di approccio clinico pratico al problema. Come nel dilemma shakespeariano, la scelta tra il trattare l'iponatremia severa, per non incorrere nelle complicanze dell'edema cerebrale, e l'eccessivo trattamento, che può indurre una sindrome da demielinizzazione osmotica, non è facile. Nonostante queste due condizioni siano piuttosto rare e la mortalità sia più legata alle sottostanti patologie piuttosto che all'iponatremia, occorre definire il livello soglia oltre il quale un'eccessiva correzione terapeutica può risultare dannosa.

In condizioni di emergenza, dunque, le linee guida europee ed americane raccomandano

un'infusione di soluzione salina ipertonica al 3% in bolo (ad esempio due somministrazioni di 150 ml di soluzione NaCl 3%, ognuna in un periodo di 20 min con una misurazione del sodio intervallata) per ottenere una correzione rapida di 4-6 mEq/l. Esse però differiscono nelle indicazioni terapeutiche ossia le linee guida europee intervengono in caso di sintomi severi (vomito, arresto cardiorespiratorio, sopore, epilessia o coma) o moderatamente severi (nausea senza vomito, confusione o mal di testa) di iponatremia senza riferimenti alla cronicità del disturbo, mentre quelle americane raccomandano tale approccio "aggressivo" in caso di coma o epilessia, ma anche nelle forme sintomatiche di iponatremia autoindotta da intossicazione di acqua (psicosi acute o schizofrenia, esercizio fisico di resistenza o abuso di ecstasy). Inoltre il regime terapeutico è differente in base al rischio di sviluppare mielinosi che è alto in caso di  $sNa \leq 105$  mEq/l, alcolismo, malnutrizione, ipokaliemia o disordini epatici.

Queste raccomandazioni, a tratti discordanti, derivano però principalmente da studi su modelli animali, studi osservazionali, piccole casistiche mentre sono in corso trials randomizzati con l'obiettivo di migliorare le conoscenze sugli attuali regimi terapeutici e testare nuovi approcci (es. la somministrazione orale di urea). Pertanto, si spera che con l'esecuzione di studi clinici controllati si possano avere, nel prossimo futuro, delle indicazioni più precise sulla modalità di correzione dell'iponatriemia severa.

#### **Approfondimento:**

Lavoro originale su *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*:

<http://m.cjasn.asnjournals.org/content/early/2018/01/01/CJN.10440917.abstract>

#### **Corrispondenza a:**

Dott. Vincenzo Montinaro

U.O. Nefrologia - Azienda Ospedaliero-Universitaria "Conorziale Policlinico" di Bari,

Piazza G. Cesare, 11 CAP 70124 Bari;

E-mail: vincenzo.montinaro1@gmail.com