

Aspetti emergenti della glomerulonefrite membranoproliferativa

Meccanismi immunitari delle glomerulonefriti

Dario Roccatello, Roberta Fenoglio, Laura Battaglia, Lucia Vizziello, Carla Naretto, Daniela Rossi, Savino Sciascia

Centro di Eccellenza Universitario per le malattie Nefrologiche (Membro ERK-net, ERN-ReConnet and RITA-ERN), Reumatologiche e Rare, Nefrologia – Dialisi e CMID, Ospedale San Giovanni Bosco, Dipartimento di Scienze Cliniche e Biologiche, Università di Torino



Dario Roccatello

Corrispondenza a:

Dario Roccatello
SCDU Nefrologia-Dialisi e CMID, Ospedale San Giovanni Bosco Torino
Piazza del Donatore di Sangue, 3
Torino, Italia
Tel: +39 011 2402056
E-mail: dario.roccatello@unito.it

ABSTRACT

Storicamente le glomerulonefriti membranoproliferative (GNMP) sono state sottoclassificate sulla base dei reperti di microscopia ottica ed elettronica. La migliore comprensione della fisiopatologia che sta alla base di queste glomerulonefriti ha condotto ad uno schema classificativo fondato sui reperti di immunofluorescenza. Il pattern istologico di GNMP può conseguire alla deposizione di depositi subendoteliali e di componenti della cascata del complemento in conseguenza di una disregolazione della via alternativa del complemento. Le GNMP complemento-mediate includono la malattia da depositi densi e la GNMP-C3. La disregolazione della cascata complementare può dipendere da mutazioni genetiche o dallo sviluppo di autoanticorpi diretti contro proteine regolatrici del complemento. La GNMP è anche una sequela della deposizione mesangiale e subendoteliale di immunocomplessi (IC). Cause comuni di GNMP da IC sono infezioni croniche, malattie autoimmuni, gammopatie monoclonali, disprotidemie. Questa categoria include anche la glomerulonefrite in corso di crioglobulinemia mista, che è spesso associata ad infezione da virus dell'epatite C (HCV). In alcuni casi al forte sospetto clinico di vasculite crioglobulinemica non corrisponde il rilievo di crioglobuline circolanti determinante con metodo standard. Tuttavia, usando tecniche più sensibili, è spesso possibile determinare livelli anche molto bassi di crioglobuline circolanti (ipocrioglobuline). Questi pazienti possono presentare una glomerulonefrite, spesso isolata, con pattern membranoproliferativo, non avere infezione HCV, e possono avere normali valori di fattore reumatoide e di componenti complementari. La nefrite ipocrioglobulinemica potrebbe rappresentare una entità nosologica distinta.

PAROLE CHIAVE: Glomerulonefrite membranoproliferativa, Glomerulonefrite C3, Nefrite ipocrioglobulinemica

Introduzione

La glomerulonefrite membranoproliferativa (GNMP) rappresenta il 7-10% delle diagnosi nefrobiptiche [1]. Essa viene diagnosticata sulla base di un *pattern* istologico comune a un gruppo eterogeneo di malattie. Fino a circa dieci anni fa, la GNMP veniva sottoclassificata, sulla base della localizzazione dei depositi nei capillari glomerulari identificabili in microscopia elettronica, in tre tipi [2]: tipo I, la forma più comune, caratterizzata da depositi subendoteliali e mesangiali costituiti da immunoglobuline e complemento (C3 in particolare); tipo II (o malattia da depositi densi), caratterizzata da depositi elettrondensi intramembranosi, costituiti prevalentemente da complemento; tipo III, più rara, caratterizzata da depositi sia subepiteliali che subendoteliali. Questa classificazione non differenziava entità clinico-patologiche a patogenesi molto diversa. Nello specifico, le forme di tipo I e III includevano sia i casi in cui la deposizione di immunocomplessi costituiva l'elemento patogenetico fondamentale che condizioni mediate prioritariamente dal complemento. Nel 2012 la classificazione istologica della GNMP è stata rivisitata [3] mediante l'analisi immunoistochimica della natura dei depositi glomerulari, ciò che consentiva di distinguere forme da immuno-complessi (GNMP-IC) con prevalenza di depositi di IgG da forme a prevalente deposizione di C3 associate a disregolazione della via alternativa del complemento (GN-C3) (Figura 1). L'analisi in microscopia elettronica consentiva di discriminare all'interno del *cluster* complemento-mediato la malattia a depositi densi, osmiofili e ondulati addensati nella membrana basale. Nella pratica clinica l'ovvia criticità dell'impiego di questo nuovo approccio classificativo risiede nella qualità della lettura dell'immunofluorescenza che richiede una consolidata esperienza del patologo.



Fig. 1: Differenze tra classificazione tradizionale e nuova classificazione.

Glomerulonefrite membranoproliferativa complemento-mediata

La GN-C3 è caratterizzata dalla presenza di depositi mesangiali e subendoteliali, talvolta anche subepiteliali e intramembranosi. I dati di microdissezione laser e l'analisi spettrometrica di massa dei glomeruli ottenuti da pazienti con GN-C3 ne suggeriscono una patogenesi sostenuta da un'attivazione continuativa della via alternativa del complemento. Il profilo proteomico è simile a quello dei pazienti con malattia da depositi densi a supportare l'ipotesi che la malattia da depositi densi e la GN-C3 rappresentino un *continuum*. A riprova, sono stati descritti casi con caratteristiche intermedie tra le due forme, con alcune anse capillari che all'esame ultrastrutturale mostrano i depositi intramembranosi tipici della malattia da depositi densi, e altri che mostrano i depositi subendoteliali e subepiteliali caratteristici della GN-C3.

Il ruolo chiave della cascata complementare e delle alterazioni dei sistemi di regolazione

La cascata del complemento ha un ruolo fondamentale nell'immunità innata [4, 5]. I fattori del complemento possono indurre una potente risposta infiammatoria che si traduce in chemiotassi dei fagociti, opsonizzazione e lisi delle cellule inglobanti i microrganismi. L'attivazione del complemento avviene attraverso la via classica, lectinica e alternativa, che convergono a formare la C3 convertasi, responsabile della scissione del C3 in C3a e C3b. Il C3b, in presenza del fattore B e del fattore D, si

associa alla C3 convertasi, generando nuova C3 convertasi e amplificandone l'azione. La C3 convertasi è un punto nodale della cascata del complemento. L'associazione di C3b e C3 convertasi determina la formazione di C5 convertasi che favorisce la formazione del complesso di attacco di membrana (C5b-C9) sulle superfici cellulari con conseguente lisi cellulare. Esistono sistemi di regolazione a diversi livelli della cascata, in particolare a livello della C3 e C5 convertasi. Tali regolatori includono i fattori H e I, le proteine correlate al fattore H. La disregolazione della via alternativa può essere secondaria a mutazioni o alla presenza di autoanticorpi contro le proteine regolatrici del complemento [6, 7]. Anche alcuni polimorfismi genetici dei fattori H, B e C3 possono associarsi a GN-C3. Nonostante i molteplici fattori di rischio genetici, la GN-C3 ha un esordio tardivo, suggerendo la necessità di ulteriori *trigger* per lo sviluppo della malattia. È ad esempio verosimile che a seguito di infezioni che innescano l'attivazione del sistema complementare possano venir soverchiati meccanismi di regolazione compensatoria che normalmente temperano il potenziale di iperattivazione complementare. Questa ipotesi può spiegare gli episodi ricorrenti di ematuria macroscopica associati a infezioni che si osservano in molti pazienti con MPGN. Allo stesso modo la sintesi di autoanticorpi monoclonali diretti contro proteine di regolazione del complemento in pazienti con gammopatia monoclonale potrebbe essere responsabile di una disregolazione della via alternativa con conseguente comparsa di MPGN. Qualunque sia il meccanismo, la disregolazione del percorso alternativo si traduce in una iperattivazione del complemento con conseguente deposizione di prodotti complementari nel mesangio e in sede subendoteliale. Con l'eccezione degli autoanticorpi monoclonali anti proteine complementari delle GNMP in corso di gammopatia monoclonale, le immunoglobuline non sono coinvolte in questo meccanismo, e nelle forme di MPGN complemento-mediate l'immunofluorescenza è negativa per immunoglobuline, ma positiva per C3 (Figura 2).

Glomerulonefrite membranoproliferativa da deposizione di immunocomplessi

La GNMP da deposizione di immunocomplessi può essere associata ad una infezione cronica (virale, soprattutto da virus epatitici C e B, batteriche, fungine e parassitarie), ad una malattia autoimmune (lupus eritematoso sistemico, crioglobulinemia mista e meno frequentemente sindrome di Sjögren, artrite reumatoide e connettivite mista) o paraproteinemica (soprattutto gammopatia monoclonale di significato indeterminato, linfoma a cellule B di basso grado, linfoma linfoplasmocitico, leucemia linfocitica cronica e mieloma multiplo) [8]. La deposizione di immunocomplessi costituisce il *trigger* per l'attivazione della via classica del complemento e per la deposizione di fattori del complemento nel mesangio e lungo le pareti dei capillari (Figura 2).

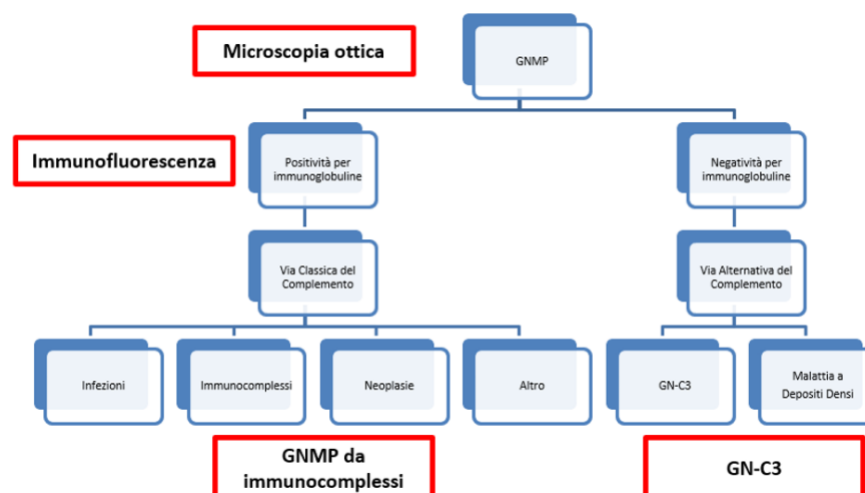


Fig.2: Fisiopatologia delle glomerulonefriti membranoproliferative (GNMP). GN: glomerulonefriti.

La deposizione di immunoglobuline, complemento o entrambi a livello mesangiale e subendoteliale, è responsabile di un danno acuto e una fase infiammatoria “iperplastica” (caratterizzata dalla proliferazione cellulare) e una fase riparativa “ipertrofica”, nella quale l’espansione mesangiale è condizionata dalla produzione di nuova matrice.

La nefrite ipocrioglobulinemica: varietà emergente di glomerulonefrite membranoproliferativa da deposizione di immunocomplessi crioprecipitabili

Si è detto come le condizioni più comuni associate alla deposizione di immunoglobuline includano le infezioni croniche, alcune malattie autoimmuni, alcune gammopatie monoclonali e alcune disprotidemie. Fa parte di questo gruppo la crioglobulinemia mista, caratterizzata dalla presenza nel siero di immunocomplessi crioprecipitabili costituiti da combinazioni di IgM monoclonali e IgG policlonali (cryoglobulinemia di tipo II), o di IgG e IgM policlonali (tipo III).

La crioglobulinemia mista di tipo III è più frequentemente associata a patologie infettive o autoimmuni. Le crioglobulinemie di tipo II, II-III, e un numero considerevole di casi di tipo III si estrinsecano clinicamente in un’entità autonoma, la crioglobulinemia mista, che presenta i caratteri di una vasculite dei piccoli vasi. Nella maggior parte dei casi è rilevabile un’infezione da HCV (anche pregressa). In una proporzione minore di pazienti con elevato sospetto clinico per vasculite crioglobulinemica, le crioglobuline non sono determinabili coi metodi convenzionali o sono presenti in tracce minime non tipizzabili. Alcuni autori americani definiscono questa condizione “crioglobulinemia sieronegativa” perché il quadro istologico di nefrite crioglobulinemica non si associa al rilievo di crioglobuline circolanti [9]. In realtà con metodi di precipitazione in mezzo ipoionico materiale crioprecipitabile è isolabile e tipizzabile nella maggior parte dei casi. Il nostro gruppo ha definito questa condizione “ipocrioglobulinemia” [10]. Nel processo di riconoscimento di questa condizione, che ha impiegato una tecnica di precipitazione in mezzo ipoionico dei crioprecipitati sierici “minimi”, sono stati identificati 237 pazienti con criocrito < 0,5% e sospetto clinico di malattia autoimmune. Di questi 237 pazienti, solo 54 avevano una storia di infezione da HCV, 179 (71%) avevano una malattia di base accertata, mentre 68 pazienti (28,6%) non avevano alterazioni clinico-laboratoristiche orientative di una patologia specifica. Questi 68 casi sono stati definiti come affetti da “ipocrioglobulinemia idiopatica” [10]. Nella maggior parte dei casi le ipocrioglobuline sono di tipo misto policlonale, raramente si associa un’infezione HCV e i livelli di fattore reumatoide e dei componenti complementari possono essere normali. Più tipicamente si tratta di malattie oligoespresse con nefrite spesso isolata. Il pattern istopatologico è virtualmente indistinguibile da una classica glomerulonefrite crioglobulinemica, ancorché i depositi presentino all’esame in microscopia elettronica una minore strutturazione. È stato ipotizzato si possa trattare di un’entità separata (Tabella I).

	Ipocrioglobulinemia idiopatica N=9	Crioglobulinemia mista N=16	P
HCV+ N. (%)	2 (22)	16 (100)	<0.01
Proteinuria > 3.5 g/die – N. (%)	4 (44)	12 (75)	0.12
Ematuria N. (%)	5 (55)	11 (69)	0.5
sCr > 1.5 mg/dl N. (%)	8 (88)	15 (94)	0.6
Coinvolgimento renale isolato – N. (%)	8 (88)	0 (0)	<0.01
Crioglobulinemia N. (%)	Type III (trace amounts) in 9 (100)	Type II in 16 (100)	<0.05

Tabella I: Differenze clinico-laboratoristiche tra ipocrioglobulinemia idiopatica e crioglobulinemia mista.

Con l'introduzione del concetto di ipocrioglobulinemia idiopatica, i risultati di questo studio hanno ridefinito le caratteristiche cliniche e i percorsi diagnostici delle patologie da deposizione di immunocomplessi crioprecipitabili, promuovendo il riconoscimento precoce di un numero di casi altrimenti indagnosticati. Pazienti che presentino un robusto sospetto clinico di vasculite, in particolare di quelli con glomerulonefrite a *pattern* membranoproliferativo, e tuttavia risultino negativi alla ricerca delle crioglobuline con tecniche *standard*, potrebbero richiedere indagini più approfondite anche in assenza di infezione da HCV, attività RF o segni di consumo di complemento. In questi casi la biopsia renale e un'accurata analisi in microscopia elettronica sono irrinunciabili.

BIBLIOGRAFIA

1. Swaminathan S, Leung N, Lager DJ, et al. Changing incidence of glomerular disease in Olmsted County, Minnesota: a 30- year renal biopsy study. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006;1:483-7. <https://doi.org/2215/CJN.00710805>.
2. Kumar V, Abul AK, Fausto N, Aster J. Pathologic basis of disease. 8th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2010.
3. Sethi S, Fervenza FC. Membranoproliferative glomerulonephritis—a new look at an old entity. *N Engl J Med*. 2012 Mar 22;366(12):1119-31. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1108178>.
4. Zipfel PF, Skerka C. Complement regulators and inhibitory proteins. *Nat Rev Immunol* 2009;9:729-40. <https://doi.org/10.1038/nri2620>.
5. Ahmad SB, Bomback AS. C3 Glomerulopathy: Pathogenesis and Treatment. *Adv Chronic Kidney Dis*. 2020 Mar;27(2):104-110. <https://doi.org/10.1053/j.ackd.2019.12.003>.
6. Zipfel PF, Smith RJH, Skerka C. Factor I and factor H deficiency in renal diseases: similar defects in the fluid phase have a different outcome at the surface of the glomerular basement membrane. *Nephrol Dial Transplant* 2009;24:385-7, <https://doi.org/1093/ndt/gfn652>.
7. Kaartinen K, Safa A, Kotha S, Ratti G, Meri S. Complement dysregulation in glomerulonephritis. *Semin Immunol*. 2019 Oct;45:101331. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2019.101331>.
8. Fakhouri F, Le Quintrec M, Frémeaux-Bacchi V. Practical management of C3 glomerulopathy and Ig-mediated MPGN: facts and uncertainties. *Kidney Int* 2020; 98:1135–1148. <https://doi.org/1016/j.kint.2020.05.053>.
9. Javaugue V, Valeri AM, Jaffer Sathick I, Said SM et al. The characteristics of seronegative and seropositive non-hepatitis-associated cryoglobulinemic glomerulonephritis. *Kidney Int*. 2022 Aug;102(2):382-394. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2022.03.030>.
10. Roccatello D, Sciascia S, Naretto C, Barreca A, Solfietti L, Battaglia L, Viziello L, Fenoglio R, Rossi D. Recognizing the new disorder “idiopathic hypocryoglobulinaemia” in patients with previously unidentified clinical conditions. *Sci Rep*. 2022 Sep 1;12(1):14904. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-18427-x>.