

GENETICA E OMICHE

445 CO

CARATTERIZZAZIONE DEL PROFILO TRASCRITTO-MICO NEI LINFOMONOCITI PERIFERICI DI TRAPIANTATI RENALI CON RIGETTO CRONICO ANTICORPO-MEDIATO (RCAM)Rascio F.¹, Accettura M.¹, Tataranni T.¹, Pontrelli P.¹, Zito A.¹, Zaza G.¹, Schena F.P.¹, Gesualdo L.¹, Grandaliano G.²¹DETO, Sez. di Nefrologia, Dialisi e Trapianti, Univ. di Bari A. Moro, Bari; ²Dip. di Scienze Biomediche, Sez. di Nefrologia, Univ. di Foggia, Foggia

Introduzione. Il RCAM rappresenta la principale causa di insuccesso del trapianto renale. Nonostante, il quadro istologico di questa condizione sia ormai ben definito, i meccanismi molecolari alla base del RCAM non sono ancora completamente noti. Scopo del nostro studio è identificare, attraverso un approccio high-throughput, specifici marcatori per lo studio del RCAM.

Materiali e Metodi. Il profilo di espressione genica (4x44 microarray, Agilent) è stato valutato nei linfomonociti periferici isolati da 10 pazienti con RCAM accertato biopsicamente e da 10 pazienti con normale funzione e morfologia del graft (gruppo controllo). I risultati ottenuti sono stati valutati mediante analisi statistica (T test non appaiato, correzione per test multipli Benjamini-Hochberg) e analisi funzionale delle pathway (Ingenuity Pathway Analysis e Gene Set Enrichment Analysis).

Risultati. Dal confronto fra il gruppo dei pazienti con RCAM e il gruppo controllo, utilizzando un FDR <5% e un fold-change ≥2, sono risultati differenzialmente espressi 67 probet. Nel 97% (65 su 67) dei casi l'espressione genica era aumentata nel gruppo RCAM. La principal component analysis dimostrava la capacità di questo gruppo di geni di distinguere il RCAM. Le pathway canoniche che rappresentavano in modo statisticamente significativo questi geni sono risultate quella del complemento (p=8.49*10⁻⁷) e dell'Interferone alfa (p=6.0*10⁻⁵). Le principali funzioni biologiche emerse dall'analisi di questi geni riguardavano la risposta immunologica (p<0.04) e la risposta infiammatoria (p<0.04), mentre l'analisi dei network ha evidenziato che più del 40% dei geni differenzialmente espressi (22 su 53) regola o è regolato dall'interferone alfa (IPA score=52).

Conclusioni. I nostri dati suggeriscono un ruolo chiave dell'interferone alfa nel modulare la risposta immunitaria in corso di RCAM. Questa osservazione potrebbe aprire nuove prospettive nel campo della diagnosi non invasiva di RCAM e permettere di definire nuovi target terapeutici per prevenire questa temibile complicanza del trapianto renale.

446 CO

URINE PROTEOME ANALYSIS: AN ATTEMPT TO BIOMARKER DISCOVERY FOR THE NON-INVASIVE DIAGNOSIS OF IgA NEPHROPATHYRocchetti M.T.^{1*}, Papale M.^{1*}, Di Paolo S.², Vocino G.¹, Suriano I.V.¹, Grandaliano G.¹, Gesualdo L.³Centro di Ricerca Interdipartimentale BIOAGROMED - Università di Foggia, Foggia
*These Authors equally contributed to this study

Background. IgA nephropathy (IgAN) is the most common type of glomerulonephritis worldwide and is diagnosed only with a renal biopsy. We generated urine proteomic profiles from IgAN patients by surface-enhanced laser desorption/ionization-time of flight/mass spectrometry (SELDI-TOF/MS) with the aim to recognize a set of potential biomarkers for the non-invasive diagnosis of the IgAN.

Methods. Urine proteins from 49 biopsy-proven IgAN patients, 42 patients with non-IgA biopsy-proven chronic nephropathies (16 Diabetic Nephropathy, 12 Benign Nephroangiosclerosis and 14 Membranous Nephropathy) and 36 healthy individuals (CTRL) were run on CM10 chromatographic surface and the mass spectra were analyzed on SELDI-TOF/MS. Mass peaks in the range between 3000 and 30000 m/z were identified through ProteinChip DataManager software. The dataset was managed by univariate (clustering) analysis and supervised statistical analysis (Classification and Regression Tree-CART) by dividing urine samples into a training set and a testing set to construct and to validate the classification tree, respectively. The independent testing set was scored using the classification tree to evaluate the classification power on a blinded dataset.

Results. Univariate analysis identified 11 mass peaks which discriminate IgAN from non-IgAN patients. Among them, 8 of 11 mass peaks also discriminated IgAN patients from CTRL. CART analysis allowed to build up a classification tree based on three main predictors (9769, 3446 and 5562 m/z) that was able to correctly classify, in the blinded testing set, IgAN and non-IgAN with 88% sensitivity and 72% specificity. Further, a second classification tree based on two main predictors (21596 and 4171 m/z) was able to correctly classify IgAN and CTRL with 90% sensitivity and specificity. Mass peaks of 21596 m/z was isolated by two-dimensional gel electrophoresis and identified by MALDI-TOF-MS/MS analysis.

Conclusions. Urine proteome analysis can help to identify non-invasive biomarkers to distinguish IgAN from non-IgAN nephropathies.

447 CO

UNA VARIANTE DEL GENE DDAH-1 PREDICE GLI EVENTI CARDIOVASCOLARI NELLA MALATTIA RENALE CRONICA

Testa A., Pisano A., Spoto B., Sanguedolce M.C., Parlono R.M., Tripepi G., Leonardi D., Mallamaci F., Postorino M., Enia G., Zoccali C., a nome del Gruppo di Lavoro dello Studio Mauro: Maimone I., Parisi R., Plutino D., Santoro O., Grandinetti F., Natale G., Chiarella S., Pinciaroli A., Audino A., Mannino M., Caridi G., Marino F., Parlono G., Pugliese A., Garozzo M., Caruso A., Fatuzzo P., Rapisarda F., Papalia T., Caglioti A., Reina A., D'Anello E., Bruzzese V., Fabiano F., Guido A., Gullo M., Fersini S., Pinna M., Campo S., Palma L., Tramontana D., Mancuso F.

CNR-IBIM & Div. di Nefrologia, Reggio Calabria

Introduzione. L'ADMA è un inibitore endogeno dell'ossido nitrico sintetasi che è stato implicato nella disfunzione endoteliale e nell'aterosclerosi nella malattia renale cronica (MRC), ma non vi è ancora alcuna evidenza che l'ADMA sia un fattore di rischio causale per gli eventi cardiovascolari (CV) in questi pazienti. Questo amminoacido è degradato dall'enzima dimetilarginina dimetilamminoidrolasi (DDAH) e una variante (rs7521189) nel gene che codifica un'isoforma di questo enzima, DDAH1, provoca un aumento dei livelli di ADMA. Poiché la Randomizzazione Mendeliana, cioè la trasmissione casuale dei gameti, consente di utilizzare i geni come variabili strumentali per testare ipotesi di casualità, abbiamo testato la relazione tra il polimorfismo nel gene DDAH-1 e il tasso d'incidenza di eventi cardiovascolari fatali e non fatali in una coorte di pazienti con MRC.

Materiali e Metodi. La coorte includeva 791 pazienti (età: 61±11 anni; M: 61%) con MRC allo stadio 2-5 (37% diabetici), seguiti prospetticamente per un periodo medio di 30 mesi (range: 0.3-48 mesi). Il filtrato glomerulare (FG) basale, stimato con la formula MDRD175, era in media 30±15 mL/min/1.73 m² (range 5-102 mL/min/1.73 m²) e il 52% dei pazienti aveva proteinuria >0.5 g/24 h.

Risultati. La distribuzione genotipica del polimorfismo rs7521189 risultava in equilibrio di Hardy-Weinberg. Durante il follow-up si sono verificati 100 eventi CV. All'analisi univariata di Cox, l'allele di rischio di questo polimorfismo (allele G) era associato ad un eccesso di rischio del 36% per eventi cardiovascolari (HR: 1.36, 95% CI: 1.03-1.80). Dopo aggiustamento dei dati per fattori di rischio di Framingham, comorbidità cardiovascolari, emoglobina e albumina, il valore predittivo del polimorfismo (HR: 1.40, 95% CI: 1.05-1.87, p=0.02) non si modificava e questo si confermava anche dopo correzione per FG, proteinuria delle 24 h e proteina C-reattiva (HR: 1.40, 95% CI: 1.05-1.87, p=0.02).

Conclusioni. L'allele G del polimorfismo rs7521189 predice la mortalità cardiovascolare nei pazienti con insufficienza renale cronica. Questi risultati offrono una base genetica per l'ipotesi che alti livelli di ADMA siano causalmente implicati nel rischio CV di questa popolazione.

448 CO

JAK3 MUTATIONS PREDICT POOR SURVIVAL IN PATIENTS WITH CLEAR CELL RENAL CARCINOMA

Gigante M., De Martino M., Cormio L., Praticchizzo C., Cavalcanti E., Gigante M., Ariano V., Netti G.S., Montemurro E., Mancini V., Battaglia M., Gesualdo L., Carriero G., Ranieri E.

Department of Biomedical Sciences, Section of Clinical Pathology, University of Foggia, Foggia

Background. Clear Cell Renal Carcinoma (ccRCC) is an immune-responsive tumour, with T-lymphocytes being the main mediators of such response. The tyrosine kinase protein Janus Kinase 3 (JAK3) plays a major role in the cytokine signalling mediating T-lymphocytes activation in human haematopoietic tumours, but its role in ccRCC has never been tested.

Methods. Fifty patients with pure ccRCC and a control group of 100 healthy blood donors were studied. JAK3 gene mutational analysis was carried out on genomic and tumoral DNA. The effects of JAK3 mutations on interleukin-2-stimulated peripheral T-cells were analyzed by confocal laser-scanning microscopy and immunoprecipitation assay.

Results. Mutational analysis showed three JAK3 germline mutations (p.Gln13Lys; p.Arg925Ser; p.Ala677Thr) and a rare variant (p.Val722Ile) in 7 (14%) ccRCC patients and none of controls (p=0.006), as well as a novel somatic change (p.Tyr238Cys) in the neoplastic tissue of the patient harbouring the p.Gln13Lys germline mutation. Confocal microscopy and immunoprecipitation assay showed abnormal pJAK3 tyrosine phosphorylation and a marked reduction of JAK3/STAT5 interaction in the cases of p.Arg925Ser and p.Ala677Thr changes, with a mild effect in the case of the p.Val722Ile variant. Patients with mutations were more likely to present with nodal or distant metastasis (42.9% vs 2.3%; p=0.007) and have poorer survival (Kaplan-Meier estimates: p=0.049), than those without mutations.

Conclusions. Our study shows that JAK3 is mutated in a subset of ccRCC patients with advanced tumor and poor prognosis, suggesting that mutational analysis of JAK3 gene may be useful in predicting the outcome of this disease.

449 CO

I POLIMORFISMI DEL GENE CASR INCREMENTANO LA SUSCETTIBILITÀ ALLA NEFROLITIASI PER RIDUZIONE DELL'ESPRESSIONE DEL CASR NELLA MIDOLLARE RENALE

Rainone F., Soldati L., Aloia A., Terranegra A., Dogliotti E., Arcidiacono T., Vezoli G.

Unità di Nefrologia e Dialisi, IRCCS San Raffaele, Milano

Introduzione. Il calcium-sensing receptor (CaSR) è un gene candidato per la genesi della nefrolitiasi calcica idiopatica. In un nostro studio precedente abbiamo trovato un'associazione tra i polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs) rs7652589 e rs1501899 della regione promotrice del CaSR e la nefrolitiasi calcica. L'allele minore a questi due SNPs è risultato più frequente nei calcolotici rispetto ai sani (rispettivamente $p=0.0009$ e $p=0.0004$) e nei pazienti con iperparatiroidismo primitivo affetti da calcolosi rispetto a quelli non affetti da calcolosi.

Metodi. Dopo questi studi, abbiamo eseguito un mapping della regione promotrice del CaSR, genotipizzando 312 calcolotici idiopatici e 213 controlli abbinati per età (rispettivamente 42 ± 0.6 e 41 ± 0.6) e sesso (rispettivamente 174/138 e 118/95).

Risultati. In questi individui, abbiamo identificato uno SNP (rs6776158), localizzato nel promotore 1, fortemente associato alla calcolosi. Il suo allele minore ha mostrato una frequenza più elevata nei calcolotici rispetto ai controlli (37.8% vs 26.4%, $p=0.005$). Poiché gli SNPs rs7652589, rs1501899 e rs6776158 non generano cambio aminoacidico, abbiamo ipotizzato che possano influenzare l'espressione del CaSR nella papilla renale favorendo la litogenesi. Al fine di testare l'espressione renale del CaSR abbiamo quantificato l'mRNA del CaSR mediante real time PCR in 109 campioni di midollare renale prelevati da soggetti nefrectomizzati per cancro (prelievo della parte non neoplastica del rene). I livelli di espressione del CaSR sono stati normalizzati su quelli del gene housekeeping GAPDH e sono quantizzati come ratio CaSR/GAPDH. Ciascun paziente nefrectomizzato è stato genotipizzato per gli SNPs rs7652589, rs1501899 e rs6776158. Nelle midollari dei soggetti omozigoti per l'allele minore allo SNP rs6776158 sono state osservate quantità inferiori di mRNA del CaSR ($n=12$, 1.69 ± 0.33) rispetto agli omozigoti o agli eterozigoti per l'allele ancestrale ($n=97$, 2.75 ± 0.22 , $p=0.016$). Una quantità inferiore di mRNA è stata osservata nei soggetti che presentano varianti alleliche agli SNPs rs6776158 e rs1501899 nel loro aplotipo (2.70 ± 0.21 vs 1.28 ± 0.32 ; $p=0.0062$).

Conclusioni. I nostri risultati suggeriscono che l'espressione del CaSR sia diminuita nelle midollari renali dei soggetti con varianti alleliche agli SNPs testati. Poiché tali SNPs sono situati nella regione del promotore del CaSR, ipotizziamo che possano essere legati ad una riduzione dell'attività del CaSR condizionante: 1) una riduzione del riassorbimento di fosfati nel tubulo prossimale e una maggiore delivery distale; 2) un ridotto effetto diuretico e acidificante nel dotto collettore. Una ridotta espressione del CaSR nella midollare renale potrebbe aumentare la suscettibilità alla nefrolitiasi di fosfato calcico favorendo la precipitazione Ca-P nel lume tubulare e a quella di calcio ossalato predisponendo la formazione della placca di Randall.

450 PO

OSSERVAZIONE DI UN GRUPPO FAMILIARE AFFETTO DA NEFROPATIA DI BERGER ED ANALISI MOLECOLARE DELLA REGIONE CANDIDATA SUL CROMOSOMA 6

Staffolani E., Nicolais R., Galli D., Miani N., Borzacchi M.S., Naticchia A., Sturniolo A., Di Daniele N.

Nefrologia e Dialisi, Università Tor Vergata, Roma

La nefropatia di Berger è la glomerulonefrite più frequentemente diagnosticata al mondo. Nosologicamente è classificata tra le glomerulonefriti primitive mesangiali proliferative ad eziologia immunomediata. Essa è caratterizzata da episodi ricorrenti di macro/microematuria, associata o meno a proteinuria, e da depositi mesangiali di IgA. Sebbene la nefropatia a depositi di IgA non sia tradizionalmente considerata una malattia ereditaria, l'osservazione di un'ampia variabilità di incidenza regionale ed etnica, di ricorrenza in popolazioni isolate, di diffusione in aggregazioni familiari e di linkage specifico con definite regioni cromosomiche induce oggi a considerare questa patologia come un'entità complessa in cui fattori ambientali e predisposizione genetica ne determinano insorgenza e progressione. Abbiamo studiato una famiglia, nella quale questa patologia segrega con la modalità mendeliana di un tratto autosomico dominante, utilizzando un approccio di tipo "gene candidato posizionale", scegliendo la regione 6q22-q23 (IGAN1). Abbiamo analizzato quattro generazioni di un gruppo familiare caratterizzato da alta incidenza di nefropatie nel suo pedigree (15/40 casi) e da grande natalità. L'obiettivo è stato di intraprendere una valutazione clinico-laboratoristica e molecolare al fine di confermare: 1) la presenza di una regione genomica responsabile della nefropatia; 2) l'associazione tra precocità di insorgenza e maggiore gravità di espressione con il progredire generazionale. Il DNA dei 30 pazienti è stato genotipizzato con 5 marcatori microsatelliti (D6S408; D6S1958; D6S1075; D6S262 e D6S457) della regione genomica 6q22-23. L'analisi di Linkage è stata condotta mediante l'utilizzo del programma LIPED 1993 per il two-point (fenotipo/locus marcatore). L'intervallo fra i loci analizzati è stato così limitato di circa 6 megabasi. L'analisi di linkage two-point ha mostrato valori massimi di 2.107 a frazione di ricombinazione

0 per i marcatori D6S1705 e D6S262. Inoltre, in questo pedigree si presenta anticipazione genetica, ovvero del fenomeno per cui di generazione in generazione il rischio di manifestare una glomerulonefrite, come di una sua più rapida progressione, aumenta progressivamente.

451 PO

CHILDREN WITH ISOLATED CONGENITAL RENAL ANOMALIES; ABSENCE OF SIX1 GENE MUTATIONSArtifoni L.¹, Negrisola S.¹, Centi S.¹, Benetti E.², Ghirardo G.², Della Vella M.¹, Murer L.²¹Laboratorio di Immunopatologia e Biologia Molecolare del Rene; ²Unità Operativa di Nefrologia, Dialisi e Trapianto, Dipartimento di Pediatria "Salus Pueri", Università di Padova, Padova

Introduction. The mammalian Six transcriptional factors genes family comprises six members (Six1-6). Their products share two highly conserved domains, the Six domain and the homeodomain. The SIX domain (SD) is responsible for protein-protein interaction, while the homeodomain (HD) is essential for protein-DNA binding. Six genes are widely expressed in many tissues in mammalian organogenesis, including developing ear, branchial arch, and kidney. Six1, homologous to the *Drosophila sine oculis* is a crucial regulator of renal development expressed in the metanephric mesenchyme (MM) before the initiation of ureteric bud (UB) branching morphogenesis. The human SIX1 gene maps to chromosome 14q23.1 and consists of 2 exons coding for a transcription factor of 284 amino acids that belongs to six/sine oculis homeobox family. Mutations in human SIX1 gene cause branchiootorenal (BOR) or branchiootic (BO) syndrome. Six1^{-/-} mice exhibit renal agenesis. To our knowledge, SIX1 gene has never been examined in humans with nonsyndromic congenital anomalies of the kidney and urinary tract (CAKUT).

Materials and Methods. We investigated whether mutations or deletions of this gene are associated with congenital renal disorders. 30 unrelated children and young adults with CAKUT (hypo/dysplasia with or without associated primary vesicoureteral reflux, renal agenesis) were retrospectively recruited for SIX1 sequence variations analysis. All patients did not have hearing loss or branchial arch defects. SIX1 coding sequence was screened by HRMA and direct sequencing. A quantitative comparative Real-time was performed in order to detect the presence of SIX1 gene deletion.

Results and Discussion. We did not find mutations or deletions in SIX1 coding regions in our population. Our findings suggest that alterations in the SIX1 coding sequence of gene are probably not a major cause of nonsyndromic CAKUT. Further studies are needed, both to increase the number of patients to be tested, both for analyzing non-coding regulatory regions of SIX1 gene.

452 PO

MUTAZIONI DEL GENE HNF1B ASSOCIATE AD ANOMALIE RENALI CONGENITECaridi G.¹, Dagnino M.¹, Lugani F.¹, Bodria M.¹, Giachino D.², De Marchi M.², Amoroso A.³, Scolari F.⁴, Rampoldi L.⁵, Ghiggeri G.M.¹, a nome del "Consorzio Italiano Malattia Cistica della Midollare"¹Lab. di Fisiopatologia dell'Uremia e U.O. di Nefrologia, Dialisi e Trapianto, Istituto G. Gaslini, Genova; ²Dip. di Scienze Cliniche e Biologiche; ³Dip. di Genetica, Biologia e Biochimica, Università di Torino, Torino; ⁴Div. di Nefrologia, Ospedale di Montichiari, Brescia; ⁵Dulbecco Telethon Institute, Div. di Genetica e Biologia Cellulare, IRCCS San Raffaele, Milano

Introduzione. Il gene HNF1B (Hepatocyte Nuclear Factor 1-beta), è un fattore trascrizionale fondamentale per lo sviluppo e la differenziazione del pancreas e del rene. Mutazioni del gene HNF1B sono associate nell'uomo ad anomalie congenite del rene e del tratto urinario, atrofia pancreatica, Maturity-Onset Diabetes of the Young di tipo 5 (MODY5) e malformazioni genitili.

Disegno e Metodi. Scopo del presente lavoro è stato la caratterizzazione molecolare del gene HNF1B in nuclei familiari (n° 37 per un totale di 109 individui) e singoli casi sporadici (n° 170) con fenotipo clinico quale reni iper-ecogeni con dimensioni non superiori a +2.5 SD, reni multicistici, agenesia renale monolaterale, ipoplasia renale, rene a ferro di cavallo, displasia cistica o nefropatia tubulointerstiziale iperuricemica non associata a mutazione del gene UMOD.

Risultati. Sono state identificate 33 mutazioni del gene HNF1B comprendenti 1 duplicazione e 11 delezioni complete del gene, 7 piccole delezioni/inserzioni, 6 mutazioni missense, 6 nonsense e 2 mutazioni a carico di sequenze di splicing, in 17 nuclei familiari (46%) e in 16 casi sporadici (9.5%). I fenotipi clinici associati a mutazione di HNF1B comprendono alterazioni renali quali ipoplasia e/o displasia renale cistica (96%) associate talvolta a malformazioni del tratto urinario (30%). Iperuricemia e ipomagnesemia sono frequentemente associate (86%) mentre le alterazioni del metabolismo glucidico sono presenti con minore frequenza (5.5%). È stata osservata variabilità fenotipica intra e inter-familiare associata all'età di insorgenza dell'insufficienza renale cronica.

Conclusioni. Questo studio ha dimostrato che la severità della malattia renale associata a mutazione del gene HNF1B è estremamente variabile ma non è correlata al tipo di mutazione identificata o al nucleo familiare.

453 PO

MARCATORI GENETICI DI INSULINO RESISTENZA, RIMODELLAMENTO CONCENTRICO E DISFUNZIONE DIASTOLICA DEL VENTRICOLO SINISTRO E MECCANISMI DI CONTROLLO DELLA FIBROSI MIOCARDICA NEI PAZIENTI IN DIALISI

Spoto B., Testa A., Parlono R., Pizzini P., Cutrupi S., Pisano A., D'Arrigo G., Tripepi R., Tripepi G., Zoccali C., Mallamaci F.
CNR-IBIM & Div. di Nefrologia, Dialisi e Trapianto, Reggio Calabria

L'ipertrofia ventricolare sinistra (IVS) è una complicanza pervasiva dell'insufficienza renale cronica e recentemente è stato documentato uno stretto rapporto tra due polimorfismi (rs1974201 e rs9402349) di un marcatore genetico di insulino-resistenza, il gene ENPP1, e l'ipertrofia e la geometria concentrica del VS nei pazienti in dialisi. Poiché la resistenza insulinica, oltre a promuovere l'IVS, genera fibrosi miocardica, abbiamo analizzato l'interazione tra rs1974201 e rs9402349, un enzima ad attività pro-fibrotica, il TIMP-1, e lo spessore relativo della parete del VS (RWT), il rapporto massa/volume del VS (RMI) e la funzione diastolica (rapporto E/A) in un gruppo di 223 dializzati. All'analisi univariata, i livelli circolanti di TIMP-1 erano direttamente correlati al rapporto E/A ($r=0.17$, $P=0.014$) ma non alla RWT e all'RMI ($P=NS$). In un'analisi stratificata per il polimorfismo rs1974201 (modello recessivo), il TIMP-1 si associava significativamente alla RWT ($r=0.25$, $P=0.01$), all'RMI ($r=0.24$, $P=0.02$) e al rapporto E/A ($r=0.28$, $P=0.005$) nei pazienti con genotipo GG ma non in quelli con genotipo CG o CC ($P=NS$), suggerendo che rs1974201 modifica il rapporto tra il TIMP-1, la geometria del VS e la funzione diastolica. In accordo con l'ipotesi, in modelli di regressione multipla, un aumento di TIMP-1 (100 ng/mL) si associava ad un incremento del 22% di RWT, del 14% di RMI e del 29% del rapporto E/A esclusivamente nei pazienti GG ma non in quelli con altri genotipi. Il polimorfismo rs9402349 non modificava il rapporto tra il TIMP-1 e la geometria e la funzione del VS. Nei pazienti in dialisi, il polimorfismo rs1974201 del gene ENPP1 modifica il rapporto tra il TIMP-1 e le alterazioni di geometria e funzione diastolica del VS. Questi risultati sono in linea con l'ipotesi che la resistenza insulinica sia implicata non solo nell'IVS ma anche nella fibrosi miocardica, un'alterazione di primaria importanza nell'alto rischio dei pazienti in dialisi.

454 PO

ADPKD NON PKD-1, NON PKD-2?

Marras R., Pisanu G., Rum I., Carta E., Aresu S., Satta A.E.
Unità Operativa Patologia Medica, Università degli studi di Sassari, Sassari

Introduzione. La ADPKD è una malattia genetica a trasmissione autosomica dominante caratterizzata da una graduale trasformazione cistica del parenchima renale che conduce a IRC in un periodo di tempo abbastanza variabile a seconda della mutazione genetica coinvolta (la quinta decade nella forma PKD1 e 60-70 aa nella forma PKD2). La mutazione della PKD1 determina un'alterata codifica della proteina Policistina1 e la mutazione della PKD2 determina la codifica della Policistina2, due proteine fondamentali per la normale struttura dell'apparato ciliare delle cellule tubulari. Queste alterazioni causano una grave disfunzione endoteliale con riduzione della NO, una perdita delle Aquaporine (nello specifico la 2) e un'alterazione della regolazione dell'acqua a livello renale. Le manifestazioni extrarenali principali sono l'ipertensione arteriosa, gli aneurismi intracranici e le cisti epatiche ed, in minor misura, a livello tiroideo, pancreatico e splenico. Marker precoce di disfunzione renale è l'ipertensione arteriosa, dovuta all'attivazione del sistema RAS a causa della ridotta produzione di NO e per compressione ischemica del parenchima renale da parte delle cisti che, a sua volta, stimola il sistema RAS.

Materiali e Metodi. Riscontro occasionale di una famiglia di pazienti affetti da ADPKD con diagnosi ecografica da circa 10 aa, normotesi, non proteinurici e con normofunzione renale. All'anamnesi padre deceduto all'età di 55 aa per causa non renale, figli di 35 aa, non in trattamento antipertensivo e renoprotettivo, in apparente stato di buona salute e in assenza di complicanze infettivo-emorragiche delle cisti e assenza di manifestazioni cistiche extrarenali.

Risultati. I pazienti sono stati sottoposti ad esame clinico, misurazione della pressione arteriosa, prelievo di sangue per lo studio della funzionalità renale, ecografia addominale ed estrazione del DNA per ricercare una verosimile nuova mutazione genetica che giustifichi l'assenza di ipertensione ed il decorso benigno della ADPKD. Quest'ultimo esame è tuttora in corso.

Conclusioni. Sono descritti i casi clinici dei componenti di una famiglia sarda da almeno 4 generazioni, affetta da malattia policistica autosomica dominante del rene diagnosticata ecograficamente, che presenta una clinica particolarmente benigna e sui generis rispetto alla letteratura internazionale. L'insieme delle evidenze obiettive e della storia clinica raccolta ci permette di ipotizzare una diversa mutazione genetica che non evolve in IRC.

455 PO

FENOTIPI ATIPICI DI MALATTIA DI DENT: È POSSIBILE UNA EREDITÀ DIGENICA?

Addis M.¹, Tosetto E.², Meloni C.¹, Melis M.A.¹, Ceol M.², Vercelloni P.³, D'Angelo A.², Marra G.³, Anglani F.²

¹Dip. Scienze Biomediche e Biotecnologie, Università di Cagliari, Cagliari; ²Dip. Scienze Mediche e Chirurgiche, Clinica Nefrologica, Università di Padova, Padova; ³Nefrologia e Dialisi, IRCCS Ca' Grande, Milano

Introduzione. La malattia di Dent (DD) è una nefropatia ereditaria, caratterizzata da LMW proteinuria, ipercalcemia, nefrocalcinosi/nefrolitiasi e causata da mutazioni del gene CLCN5 nel 65% dei casi (DD1), del gene OCRL1 nel 15% (DD2) e da alterazioni in altri geni ancora da scoprire. L'eterogeneità genetica si accompagna a quella fenotipica interfamiliare e intrafamiliare. Sono stati descritti casi di DD1 associati a segni atipici quali, Barter-like, cecità notturna, deficienza di GH e FSGS. Inoltre, i pazienti con DD2 possono mostrare un fenotipo associato a caratteristiche, seppur lievi, della sindrome di Lowe quali anomalie oculari, bassa statura e lieve ritardo mentale. È indubbio che la presenza di geni modificatori possa essere chiamata in causa.

Materiali e Metodi. Presentiamo due casi di DD1 con fenotipo inusuale: dimorfismo facciale, anomalie oculari, ritardo di crescita, rachitismo e ritardo mentale lieve, quadro sindromico più accentuato in uno dei due. L'analisi del DNA aveva rivelato la presenza di due mutazioni, entrambe ereditate, troncanti la proteina Clc-5 in posizione 268 (A249SfsX268) l'una e in 600 (Q600X) della catena aa l'altra. La mutazione Q600X era già stata trovata in un altro paziente con classico fenotipo DD, l'altra è una nuova mutazione. L'ipotesi avanzata è stata quella della presenza di un forte effetto modificatore da parte di un secondo locus e OCRL1 ci è sembrato il candidato di eccellenza.

Risultati. Il sequenziamento diretto delle regioni esoniche e delle regioni introniche adiacenti di OCRL1 ha identificato nel paziente con quadro sindromico più accentuato la presenza di una alterazione del sito di consenso donatore di splicing, la mutazione IVS 6 +3A >G. Questa mutazione non è mai stata descritta nei pazienti con sindrome di Lowe né in DD2, e analisi in silico predicono la sua patogenicità. Lo studio del mRNA dei leucociti del paziente ci permetterà di confermare questo dato.

Conclusioni. I risultati ottenuti depongono per la prima volta anche in DD per la presenza di un effetto additivo epistatico da parte di un secondo locus modificatore.

456 PO

TRPC6 MUTATIONS IN CHILDREN ARE ASSOCIATED WITH STEROID RESISTANT NEPHROTIC SYNDROME AND ATYPICAL PHENOTYPES

Gigante M., Caridi G., Montemurro E., Soccio M., D'Apolito M., Aucella F., Schirinzi A., Emma F., Massella L., Messina G., De Palo T., Ranieri E., Ghiggeri G.M., Gesualdo L.

Department of Biomedical Sciences, University of Foggia, Foggia

Background. Mutations in the TRPC6 gene have been recently identified as the cause of late-onset autosomal-dominant focal segmental glomerulosclerosis (FSGS). In order to extend the screening, we analyzed TRPC6 in 33 Italian children with sporadic early-onset SRNS and 13 Italian families with adult-onset FSGS.

Methods. TRPC6 mutation analysis was performed through PCR and sequencing. The effect of the detected amino acid substitutions were analyzed by bioinformatics tools and functional in vitro studies. The expression levels of TRPC6 and nephrin proteins were evaluated by confocal microscopy.

Results. Three heterozygous missense mutations (c.374A>G_p.N125S; c.653A>T_p.H218L; c.2684G>T_p.R895L) were identified. The first new mutation, p.H218L, was found in a 18 year-old boy who presented a severe form of FSGS at the age of 8 years. The second, p.R895L, a new de novo mutation, was identified in a girl with collapsing glomerulosclerosis at the age of 2 years. The former mutation, p.N125S, was found in 2 siblings with early onset SRNS at the age of 4 and 14 years. Renal immunofluorescence revealed up-regulated expression of TRPC6 and loss of nephrin in glomeruli. The intracellular calcium concentrations were significantly higher in the cells expressing all mutant TRPC6 channels compared with cells expressing wild type TRPC6.

Conclusions. Our findings suggest that TRPC6 variants can also be detected in children with early onset and sporadic SRNS (4/33). Moreover, in one case a new de novo TRPC6 mutation was associated with a rare severe form of childhood collapsing glomerulosclerosis with rapid progression to uremia.

457 PO

IL PROTEOMA URINARIO NELLA MALATTIA DI DENT: STUDIO IN UNA FAMIGLIA A TRE GENERAZIONISantucci L.¹, Anglani F.², Tosetto E.², Familiari A.², Del Prete D.², Bruschi M.¹, D'Angelo A.², Candiano G.¹, Ghiggeri G.M.¹¹Laboratorio Fisiopatologia dell'Uremia Istituto Giannina Gaslini, Genova; ²Clinica Nefrologica, Dipartimento Scienze Mediche e Chirurgiche, Università di Padova, Padova

Introduzione. I polipeptidi presenti nel filtrato glomerulare vengono quasi completamente riassorbiti nel primo segmento del tubulo prossimale per mezzo di endocitosi recettore-mediata. Nella malattia di Dent (DD) questo meccanismo risulta alterato a causa di mutazioni di CLC5 e OCRL1.

Materiali e Metodi. È stato confrontato il proteoma urinario in individui mutati (DD n° 4), eterozigoti (HE n° 4) normali (N n° 4), appartenenti ad una famiglia a tre generazioni dove DD segrega con mutazione G260V di CLCN5. Sono state utilizzate tecniche di elettroforesi mono-dimensionale (ME), bi-dimensionale (2-DE) e 2-DE dopo trattamento con ProtoMiner, una nuova metodologia preparativa utile alla compressione del range dinamico delle concentrazioni proteiche.

Risultati. ME ha rivelato che UMOD è sotto espressa in DD, contrariamente a quanto avviene per le LMWP e all'albumina. Le urine HE presentano un profilo intermedio dove UMOD è sotto espressa come nelle urine DD, ma le LMWP sono quasi assenti. L'analisi 2-DE ha mostrato che nelle urine DD ci sono LMWP non espresse nelle urine N (tra queste 11 proteine non note) e che nelle urine N ci sono proteine assenti in quelle DD, tra le quali chininogeno, amilasi pancreatica e ubiquitina. Le urine HE hanno un profilo LMWP intermedio. L'analisi Western Blot di proteine marcatori di tubulopatia prossimale ha evidenziato che la retinol binding protein è il marcatore più utile perché assente nelle urine N e HE. Al contrario, 1-microglobulina e α 2-microglobulina sono presenti nelle urine di tutti gli individui anche se in diverse quantità.

Conclusioni. Sono state evidenziate differenze qualitative e quantitative non solo delle LMWP ma anche di proteine non ancora identificate, di cui è necessario chiarire il ruolo nel riassorbimento tubulare. Lo studio ha altresì evidenziato che l'albumina ed altre proteine a medio-alto peso molecolare sono over-esprese in pazienti DD, suggerendo così di riconsiderare il meccanismo di filtrazione glomerulare-riassorbimento tubulare di queste proteine.

458 PO

QUEGLI STRANI RENI POLICISTICI

Pastori G., De Silvestro L., Tarroni G., Tessarin C.

U.O. Di Nefrologia e Dialisi, Ospedale San Martino, Belluno

Prefazione. Nella storia clinica dei pazienti con malattia policistica (ADPKD) dell'adulto sono frequenti gli episodi di emorragia cistica, spesso associati a ematuria. Rare sono le emorragie sottocapsulari o retroperitoneali. Riportiamo il caso di una paziente a cui è stata inizialmente posta la diagnosi di ADPKD che ha però mostrato uno strano andamento clinico con il ripetersi di emorragie sottocapsulari.

Materiali e Metodi. Nel 2003 (34 anni) la paziente ha manifestato una emorragia sottocapsulare e retroperitoneale sinistra che ha motivato la nefrectomia totale d'urgenza. In tale sede veniva riscontrata la presenza di numerosissime cisti con alcuni angioliomi renali bilaterali. Veniva posta la diagnosi clinica di ADPKD. Nel 2011 (42 anni) la paziente ha manifestato un nuovo sanguinamento sottocapsulare a carico del rene superstito trattato con successo tramite embolizzazione selettiva di un ramo polare inferiore. La presenza di angioliomi renali e di lesioni nelle regioni sebacciose del viso ci ha indotto a considerare la diagnosi di sclerosi tuberosa (TSC).

Risultati. Sulla scorta del nuovo sospetto diagnostico è stata eseguita una valutazione dermatologica che ha confermato la presenza di angioliomi del volto, un fibroma periungueale al 1° dito del piede sinistro, fibromi gengivali, due chiazze acromiche ed una chiazza zigrinata lombare paravertebrale. Una RNM ha evidenziato lesioni cortico-sottocorticali ed ependimali dei ventricoli laterali suggestive per sclerosi tuberosa. È in corso uno studio genetico atto a confermare definitivamente la diagnosi.

Conclusioni. Nella sclerosi tuberosa le manifestazioni renali sono le più frequenti. Patognomica è la presenza di angioliomi multipli bilaterali associati o meno a cisti e raramente a carcinoma a cellule renali. Talvolta la severa degenerazione renale cistica può erroneamente indirizzare la diagnosi verso ADPKD, come nel caso da noi riportato. Sanguinamenti sottocapsulari con anemizzazione, non tipici di ADPKD ma frequenti nella TSC, dovrebbero indurre a riconsiderare la diagnosi a favore di quest'ultima patologia, ricercandone le altre tipiche caratteristiche cliniche.

459 PO

ALTERAZIONI MORFOLOGICHE E FUNZIONALI RENALI NELLA ROKITANSKY-KUSTER-HAUSER SYNDROME: PRESENTAZIONE DI DUE CASIRivera R.F.¹, Trombini P.², Torti G.¹, Pieruzzi P.^{1,3}, Piperno A.^{2,3}, Stella A.^{1,3}¹Clinica Nefrologica; ²Clinica Medica - AO San Gerardo, Monza; ³Dipartimento Medicina Clinica e Prevenzione Università Milano-Bicocca, Milano

Introduzione. La Sindrome di Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser (MRKH) è una malattia congenita caratterizzata dall'assenza o alterazione delle strutture Mulleriane. La frequenza delle anomalie renali nella MRKH è del 30-40%. Si presentano due casi di MRKH tipo II (cariotipo con 46 XX) con agenesia e alterazioni funzionali renali. Caso 1: F: 37 aa con diagnosi di MRKH tipo II dall'età di 18 aa. Diversi episodi di infezioni delle vie urinarie (IVU) in età pediatrica, in adolescenza e nell'età adulta. A 22 aa riscontro strumentale (ecografia addome e RM) di agenesia del rene sinistro con rene destro a dromedario in sede pelvica. Funzione renale normale, proteinuria assente ed emoglobinuria (1 o 2 +). Iperferritinemia. Recente riscontro di ipertensione arteriosa (IA): 130/90 mmHg e di lieve riduzione del filtrato glomerulare (GFR): pCreat: 1.15 mg/dL, eGFR: 68 mL/min, minima proteinuria non selettiva (0.2 g/L) ed emoglobinuria 1+. Viene intrapresa terapia con ramipril 2.5 mg/die con beneficio pressorio e impostato follow-up nefrologico. Caso 2: F: 58 aa seguita da 10 anni presso l'ambulatorio nefrologico dell'HSG Monza. A 18 aa diagnosi di MKHS tipo II. Diversi episodi di IVU. A 30 aa riscontro di epatite cronica persistente HBsAg positiva. Riscontro di IA a 42 aa trattata con Calcioantagonista. Riscontro ecografico di agenesia renale sinistra. A 44 aa: inizia follow-up per insufficienza renale cronica (IRC) dove si assiste al progressivo deterioramento della funzione renale. Riscontro di versamento pericardico non emodinamicamente significativo ritenuto non associato all'entità dell'IRC né ad altre cause secondarie. Da un anno inizia trattamento con dialisi peritoneale e attualmente è in lista di attesa per il trapianto renale.

Conclusioni. I pazienti affetti da MRKH tipo II hanno un elevato rischio di sviluppare insufficienza renale. In questi pazienti è auspicabile un'attenta sorveglianza della funzione renale.

460 PO

SINDROME RENE COLOBOMA: UNA RARA SINDROME GENETICAPrandini R.¹, Centofanti F.¹, Martelli D.¹, Scorolli L.², Frasca G.M.³, Stefoni S.¹¹U.O. di Nefrologia, Dialisi e Trapianto, Policlinico S. Orsola Malpighi, Università degli Studi di Bologna, Bologna; ²U.O. di Oftalmologia, Policlinico S. Orsola Malpighi, Università degli Studi di Bologna, Bologna; ³U.O. di Nefrologia, Dialisi e Trapianto di Rene, Azienda Ospedaliero-Universitaria Ospedali Riuniti Ancona, Ancona

Introduzione. La sindrome rene coloboma è un raro disordine autosomico dominante causato da una mutazione del gene PAX-2. Tale gene è coinvolto nello sviluppo di numerosi organi ed apparati tra i quali l'apparato urogenitale e l'occhio. Clinicamente è caratterizzata da ipodisplasia renale con o senza insufficienza renale ed anomalie del nervo ottico. Descriviamo due casi di pazienti per i quali è stata formulata diagnosi di sindrome rene coloboma.

Casi Clinici. Donna di 36 anni. In anamnesi riscontro di ipertensione arteriosa e pielonefrite acuta. A 26 anni riscontro di insufficienza renale cronica con creatininemia 1.5 mg/dL e proteinuria dosabile (100 mg/dL); reni di dimensioni ecograficamente ridotte, iperecogeni, con spessore corticale ridotto; all'urografia presenti esiti pielonefritici. Test immunologici negativi. Cistografia negativa per reflusso vescico-ureterale. A livello oculare, coloboma bilaterale del nervo ottico, più accentuato a destra. Attualmente funzione renale stabile. Donna di 43 anni. A 30 anni riscontro di proteinuria dosabile (1.2 gr/die) ed insufficienza renale (creatininemia 1.6 mg/dL); all'ecografia addominale reni di dimensioni ridotte (8.5 cm, bilateralmente) con struttura disomogenea e ridotto spessore cortico-midollare. Cistografia negativa per reflussi vescico-ureterali. Test immunologici negativi. Riscontro di atrofia corio-retinica destra e coloboma della testa del nervo ottico a sinistra. Attualmente creatininemia 2.7 mg/dL. In entrambe le pazienti, visto il sospetto clinico di sindrome rene-coloboma, sono state effettuate indagini genetiche, con riscontro di mutazione a carico del gene PAX-2, diagnostica per tale patologia.

Conclusioni. Descriviamo due casi di pazienti affetti da insufficienza renale cronica secondaria ad una rara patologia caratterizzata da ipoplasia renale e coloboma del nervo ottico per i quali la diagnosi clinica di sindrome rene-coloboma è stata confermata anche sulla base dell'indagine genetica risultata positiva per mutazione del gene PAX-2.

461 PO

NUOVA VARIANTE GENETICA DELLA MALATTIA DI FABRY

Dattolo P.¹, Nigrelli S.¹, Michelassi S.¹, Cecchi F.², Simone G.¹, Mehmetaj A.¹, Antognoli G.¹, Pizzarelli F.¹

¹UO Nefrologia e Dialisi, Ospedale SM Annunziata; ²UO Cardiologia Ospedale Careggi, Firenze

La malattia di Fabry, dovuta all'accumulo lisosomiale di globotriaosylceramide (Gb3), è legata al deficit di α -galattosidasi-A (α -GAL-A) lisosomiale, codificata a livello di un gene di 12 kb sul braccio lungo del cromosoma X (Xq22.1). Sono note circa 500 mutazioni che determinano differenti manifestazioni cliniche. La reale prevalenza della malattia è sottostimata in quanto le manifestazioni cliniche nel sesso femminile sono variabili a causa del fenomeno della lyonizzazione del cromosoma X. Per tale motivo spesso nelle donne si assiste ad un "ritardo diagnostico" di molti anni. Presentiamo il caso di una donna di 58 anni in cui la malattia di Fabry è stata diagnosticata con un ritardo di circa 20 anni. La paziente è giunta alla nostra osservazione per incremento della proteinuria, di grado non nefrosico, già nota da oltre 20 anni. All'ecografia dell'addome reni di dimensioni e struttura normali. In anamnesi: rimozione di Schwannoma (2005), reflusso G-E, cardiomiopatia ipertrofica non ostruttiva (SIV 18-20 mm) e impianto di PM per BAV completo. Pur in assenza di altre tipiche manifestazioni cliniche (angiocheratomi, teleangectasie, acroparestesie, ipoidrosi, opacità corneale o lenticolare, intolleranza caldo/freddo, febbre ricorrente, dolori addominali e tinnito), la presenza di IVS con BAV completo e di proteinuria ci ha indotto a richiedere un'indagine genetica che ha evidenziato una nuova variante di sequenza c.728T>C (p.Leu243Ser) a livello dell'esone 5 dell' α -GAL-A, espressa in eterozigosi. Tale variante ha un ruolo patogenetico in quanto determina la sostituzione di un aminoacido altamente conservato con uno di diverse caratteristiche chimico-fisiche. La presenza della stessa mutazione è stata riscontrata anche nella sorella che tuttavia non presenta nessuna manifestazione clinica e di laboratorio della malattia. Il riscontro di questa mutazione, non nota in letteratura, ci ha indotto ad effettuare ulteriori approfondimenti diagnostici. La TC cerebrale ha escluso encefalopatia lacunare; il FO ha evidenziato depositi corneali tipo cornea verticillata in fase iniziale. La PET miocardica è risultata nella norma. Il dosaggio dell' α -galattosidasi leucocitaria è risultato nella norma. La paziente è stata quindi sottoposta a biopsia renale che ha evidenziato alla MO vacuolizzazioni citoplasmatiche dei podociti e delle cellule epiteliali del tubulo distale che apparivano come "corpi zebrati" alla ME. La revisione dei preparati istologici dello schwannoma ha evidenziato accumuli intracitoplasmatici colorabili con blu di toluidina e contenenti Gb3, come confermato da immunoistochimica e ME. La nostra paziente conferma come la malattia di Fabry possa decorrere in modo subclinico. Nelle giovani donne con disturbi elettrici cardiaci (con o senza IVS) sarebbe indicato richiedere un approfondimento genetico anche in assenza delle manifestazioni cliniche patognomiche della malattia. L'interesse del caso sta soprattutto nella scoperta di una nuova variante e nella presenza di Gb3 nelle cellule di Schwann che, pur essendo tipico della malattia, è descritto solitamente in letteratura.

462 PO

IL POLIMORFISMO 620W DI PTPN22 NELLE VASCULITI ANCA-ASSOCIATE

Maritati F., Bonatti F., Alberici F., Oliva E., Sinico R.A., Moroni G., Leoni A., Pavone L., Gregorini G., Jeannin G., Possenti S., Brugnano R., Neri T.N., Buzio C., Martorana D., Vaglio A.

Dipartimento di Clinica Medica e Nefrologia, Università di Parma, Parma

Introduzione. Il polimorfismo 620W del gene che codifica per la proteina PTPN22 coinvolta nel processo di attivazione linfocitaria può comportare la selezione di cellule T autoreattive. Questo polimorfismo è già stato identificato come fattore di rischio per la Granulomatosi di Wegener (GW), ma non per le altre vasculiti ANCA-associate (AAV), la poliangeite microscopica (PAM) e la sindrome di Churg Strauss (SCS). Il presente studio ha lo scopo di valutare il ruolo del polimorfismo 620W in una coorte di pazienti italiani affetti da AAV (GW, PAM e SCS) e la sua influenza sulle loro manifestazioni cliniche.

Pazienti e Metodi. 344 pazienti affetti da AAV (143 con GW, 102 con PAM, 99 con SCS) e 945 controlli sani sono stati genotipizzati per il polimorfismo 620W. Le differenze nelle frequenze alleliche tra pazienti e controlli venivano valutate usando il test χ^2 . La direzione e la forza di queste differenze è stata valutata mediante il calcolo del p-value (P) e dell'odds ratio (OR).

Risultati. La frequenza dell'allele PTPN22 620W era più elevata nei pazienti affetti da GW che nei controlli (P=0.005, $\chi^2=7.858$, OR=1.916). Non si riscontravano differenze statisticamente significative nella frequenza dello stesso allele tra pazienti affetti da PAM o SCS e controlli sani. Analizzando le associazioni tra il polimorfismo e le singole manifestazioni cliniche dei pazienti affetti da GW si riscontrava una significativa correlazione tra l'allele e il coinvolgimento cutaneo (P=0.00006 vs controlli sani), otorinolaringoiatrico (P=0.009), polmonare (P=0.008) e renale (P=0.013). Nei pazienti affetti da GW, inoltre, la frequenza del polimorfismo era maggiormente associata alla positività degli anticorpi anti-proteinasi 3 (PR3) (P=0.023); il polimorfismo risultava correlato alla positività di anti-PR3 anche nei pazienti affetti da PAM (P=0.05).

Conclusioni. Il polimorfismo 620W del gene PTPN22 è un fattore di rischio genetico per la GW, ma non per la PAM e la SCS. La presenza di tale polimorfismo correla in particolare con la positività degli anticorpi anti-PR3 e con il coinvolgimento, da parte della malattia, di cute, orecchio, naso e laringe, polmoni e reni.

463 PO

EOTAXIN/CCL11 NELLA FIBROSI RETROPERITONEALE IDIOPATICA

Mangieri D., Maritati F., Libri I., Palmisano A., Corradi D., Carnevali M.L., Buzio C., Vaglio A.

Dipartimento di Clinica Medica e Nefrologia, Università di Parma, Parma

Introduzione. La fibrosi retroperitoneale idiopatica (FRI) è una rara entità clinica caratterizzata dallo sviluppo di un tessuto fibro-infiammatorio periaorto-iliaco che spesso avvolge e comprime gli ureteri causando insufficienza renale acuta. Istologicamente il tessuto è caratterizzato da una marcata componente sclerotica con un infiltrato linfoplasmocitario ed eosinofilo. Studi sperimentali suggeriscono una stretta correlazione tra infiltrazione eosinofila e fibrosi. Lo scopo di questo studio è indagare il ruolo degli eosinofili nella patogenesi della FRI, analizzando i livelli di mediatori dell'eosinofilia (IL-5, eotaxin/CCL11, G-CSF, RANTES) e della fibrosi (PDGF e FGF) a livello sierico.

Pazienti e Metodi. Sono stati arruolati 24 pazienti non trattati all'esordio della patologia e 14 volontari sani. Il livello sierico delle citochine e dei fattori di crescita sopra menzionati è stato saggiato con un sistema d'analisi basato sulla tecnologia multiplex. In 8 pazienti dei 24 arruolati è stato possibile eseguire indagini biotipiche mirate a valutare il grado di infiltrazione eosinofila mediante colorazione ematossilina-eosina, mentre la presenza di mastociti positivi alla triptasi e l'espressione tissutale di eotaxin/CCL11 è stata valutata mediante immunoistochimica.

Risultati. Il dosaggio delle citochine ha dimostrato un significativo aumento sierico di eotaxin/CCL11 nei pazienti affetti da FRI rispetto ai controlli sani (mediana [range IQ]: 193.1 pg/mL [145.6-266.9] vs 117.2 pg/mL [107.8-125.2]; p=0.009), associato ad un significativo aumento di RANTES (mediana [IQ range], 12004.1 pg/mL [6889.2-24843.7] vs 8355.9 pg/mL [7891.9-8875.4]; p=0.034). È stata inoltre riscontrata una significativa correlazione tra eotaxin/CCL11 e i mediatori PDGF (r=0.50, p=0.03) e FGF (r=0.44, p=0.03). Eotaxin/CCL11, come è noto, è un potente attivatore di eosinofili e mastociti, i quali hanno un ruolo chiave nella genesi di processi fibrotici. Nelle 8 biopsie esaminate si riscontrava una importante infiltrazione di eosinofili e di mastociti in fase di degranulazione, positivi alla triptasi. Eotaxin/CCL11 era fortemente espressa dalle cellule mononucleate negli aggregati infiammatori.

Conclusioni. Questo studio dimostra che i livelli sierici di eotaxin/CCL11 sono particolarmente elevati nei pazienti con FRI e che eosinofili e mastociti, che sono reclutati da eotaxin/CCL11, infiltrano considerevolmente il tessuto periaortico. A livello tissutale è stato dimostrato che una fonte importante di eotaxin/CCL11 è rappresentata dalle cellule mononucleate degli infiltrati infiammatori. Questi dati suggeriscono un possibile ruolo dell'asse eotaxin/CCL11-eosinofili-mastociti nella patogenesi della FRI.

464 PO

INFLUENZA DEL POLIMORFISMO rs6887695 DEL GENE IL12b SUL FENOTIPO DELLA POLIANGITE MICROSCOPICA

Maritati F., Bonatti F., Alberici F., Oliva E., Sinico R.A., Moroni G., Leoni A., Pavone L., Gregorini G., Jeannin G., Possenti S., Brugnano R., Neri T.N., Buzio C., Martorana D., Vaglio A.

Dipartimento di Clinica Medica e Nefrologia, Università di Parma, Parma

Introduzione. È noto che l'attivazione dei linfociti T-helper 1 è coinvolta nella patogenesi delle vasculiti ANCA-associate (AAV). L'interleuchina-12b (IL12b) è una citochina che contribuisce all'attivazione delle risposte mediate dai linfociti T-helper 1. Il polimorfismo rs6887695 C>G del gene per IL12b è già stato identificato come fattore di rischio per numerose patologie autoimmuni come la sclerosi multipla o il morbo di Crohn. Lo scopo del nostro studio è quello di valutare il ruolo di questo polimorfismo nelle AAV.

Pazienti e Metodi. Nello studio sono stati inclusi 344 pazienti affetti da AAV [143 con Granulomatosi di Wegener (GW), 102 con poliangeite microscopica (PAM), 99 con sindrome di Churg Strauss (SCS)] e 945 controlli sani. Tutti i soggetti sono stati genotipizzati mediante la tecnica Real-Time polymerase chain reaction con TaqMan probe e i dati sono stati successivamente confermati mediante Sanger sequencing. Le differenze nelle frequenze alleliche tra pazienti e controlli sono state valutate usando il test χ^2 di Pearson; la direzione e la forza di queste differenze sono state analizzate mediante il calcolo del p-value (P) e dell'odds ratios (OR).

Risultati. Nessuna associazione statisticamente significativa è stata riscontrata tra il polimorfismo e le AAV, valutate insieme o singolarmente. Tuttavia abbiamo riscontrato una correlazione tra il polimorfismo e le forme di PAM limitate al rene, denominate vasculiti limitate al rene (RLV); la frequenza dell'allele minore C era significativamente più elevata nei pazienti affetti da RLV che nei controlli sani (P=0.023, chi-square=5.169, OR=2.112); questo riscontro era ulteriormente

confermato dalla diversa distribuzione genotipica, con una elevata frequenza di soggetti omozigoti CC tra i pazienti con RLV rispetto ai controlli (P=0.023).

Conclusioni. Il polimorfismo rs6887695 del gene IL12b potrebbe essere un fattore di rischio per la PAM limitata al rene, suggerendo che fattori immunogenetici potrebbero contribuire al fenotipo di tale patologia.

465 PO

SINDROME DEL GIUNTO PIELO-URETERALE IN UN PAZIENTE CON DIAGNOSI MOLECOLARE DI RENAL-COLOBOMA SYNDROME

Bianco B.¹, Murtas C.¹, Giberti S.¹, Thomas R.², Sanna-Cherchi S.², Allegri L.¹
¹Unità di Nefrologia, A.O.U. Ospedali Riuniti, Parma, Italia; ²Divisione di Nefrologia, Dipartimento di Medicina, Columbia University College of Physicians and Surgeons, New York, USA

Introduzione. La renal-coloboma syndrome (RCS) è un disordine a trasmissione autosomica dominante caratterizzato da anomalie congenite di reni e vie urinarie (solitamente ipodisplasia/agenesia renale e reflusso vescico-ureterale), coloboma del nervo ottico, sordità, anomalie del sistema nervoso centrale e lassità articolare, causata da mutazioni del gene PAX2. Non è ancora stata riconosciuta una chiara associazione genotipo-fenotipo per le varie mutazioni note del gene PAX2.

Materiali e Metodi. Riportiamo il caso di un paziente italiano maschio di 26 anni giunto alla nostra attenzione per insufficienza renale cronica ed idronefrosi destra di grado severo; anamnesi familiare positiva per insufficienza renale terminale. Altre anomalie associate erano ipospadia e coloboma del nervo ottico sinistro. All'età di 6 anni un esame ecografico aveva evidenziato sindrome del giunto pieloureterale (UPJO) e reni bilateralmente ipoplastici. Una biopsia renale mostrava dilatazione tubulare diffusa, glomeruli di dimensioni aumentate e normalmente rappresentati in numero, quadro compatibile con ostruzione cronica.

Risultati. Il sequenziamento diretto del PAX2 ha identificato una inserzione in-frame di 6 nucleotidi sull'esone 3 del PAX2 risultante nell'inserzione di due aminoacidi, un acido glutammico ed una treonina (p.T74_G75insET). Questa mutazione è stata già riportata in precedenza in pazienti affetti da anomalie ottiche, ipoplasia renale e reflusso vescico-ureterale; nessuno di questi pazienti presentava UPJO. La UPJO non è mai stata riportata prima in letteratura in pazienti con RCS secondaria a mutazioni del gene PAX2.

Conclusioni. Il caso presentato descrive una nuova associazione tra un fenotipo primariamente ureterale con una mutazione patogenetica del gene PAX2, mettendo in luce l'effetto altamente pleiotropico di questo gene sullo sviluppo dell'apparato urinario. Questi dati indicano che mutazioni in geni critici quali il PAX2 possono causare una varietà di fenotipi, da quelli primariamente ureterici (reflusso vescico-ureterale, UPJO) a quelli parenchimali (ipodisplasia/agenesia renale).

466 PO

PREVALENZA DELLE MUTAZIONI DEI GENI ASSOCIATI ALL'EMOCROMATOSI IN PAZIENTI IN DIALISI PERITONEALE

Santorelli G., Pozzi M., Galassi A., Auricchio S., Prolo F., Libardi S., Colzani S., Orani M.A., Pisano L., Dozio B., Scanziani R.
 U.O. Nefrologia e Dialisi, A.O. Desio-Vimercate, Desio (MI)

Introduzione. L'emocromatosi ereditaria è una patologia caratterizzata da un progressivo sovraccarico di ferro e si associa alla mutazione di geni specifici. Vari studi hanno valutato la frequenza di tali mutazioni nei pazienti emodializzati e nei portatori di trapianto renale, ma non esistono al momento in letteratura dati relativi ai pazienti in dialisi peritoneale.

Scopo. Scopo di questo studio è quello di valutare la frequenza delle mutazioni dei geni associati all'emocromatosi in un gruppo di pazienti in dialisi peritoneale.

Materiali e Metodi. Sono stati presi in considerazione 22 pazienti (M/F 10/12) in dialisi peritoneale, seguiti presso il nostro Centro; il 31.8% dei pazienti era in CAPD, mentre il restante 68.2% in APD. Sono stati studiati i seguenti geni: HFE, TFR2 e FPN1. Per il gene HFE sono state valutate le seguenti mutazioni: C282Y, H63D, V53M, V59M, S65C e Q127H. Per il gene TFR2 sono state valutate le seguenti mutazioni: E168Q, E168X, W169X, H63H, Q283P, Y250X. Per il gene FPN1 sono state valutate le seguenti mutazioni: P160delC, E60X, M172K, AVAQ594-597del, N144H, V162del.

Risultati. In questo studio le uniche mutazioni riscontrate erano a carico del gene HFE e sono state evidenziate in 8 pazienti (36.4%); in particolare 3 pazienti (13.6%) erano omozigoti e 4 (18.2%) eterozigoti per la H63D, mentre un solo paziente (4.5%) era eterozigote per la mutazione S65C. Il valore medio di ferritina era inferiore nei pazienti portatori delle mutazioni rispetto a quelli senza mutazioni, sebbene non significativamente (67.5±44.3 vs 201.07±192.5).

Conclusioni. Nella nostra popolazione in studio una percentuale di pazienti era portatore delle mutazioni del gene HFE associato all'emocromatosi ereditaria; i pazienti portatori di tali mutazioni avevano un valore di ferritina inferiore agli altri. Tale dato, al momento non ben spiegabile, dovrà essere confermato in casistiche più ampie; inoltre, in questa categoria di pazienti, la presenza di

mutazioni dei geni associati all'emocromatosi potrebbe costituire un importante regolatore del metabolismo del ferro e della richiesta di eritropoietina.

467 PO

MUTAZIONE DEL FATTORE H (CFH): UN CASO CLINICO DI GLOMERULONEFRITE MEMBRANO PROLIFERATIVA (MPGN) QUALE PRODROMO DI SINDROME EMOLITICA UREMICA ATIPICA (aHUS)

Manenti L., Gnappi E., Buzio C.
 UOC Nefrologia e Dialisi, Azienda Ospedaliera Universitaria di Parma, Parma

Introduzione. L'alterata regolazione della via alterna del complemento (AP) per difetti genetici del CFH è implicata nell'eziopatogenesi di diverse malattie renali tra cui subset di Glomerulonefrite membranosa-proliferativa (MPGN), la CFHR5 nephropathy e la glomerulonefrite C3. La aHUS, caratterizzata dalla comparsa di anemia emolitica, trombocitopenia ed insufficienza renale acuta, è responsabile della maggior parte dei casi di HUS dell'adulto ed è associata nel 50% dei casi ad anomalie del complemento ed in particolare a mutazioni riguardanti i fattori regolatori (CFH, MCP, FI) della AP. A nostra conoscenza questo è il primo caso documentato in letteratura di mutazione del CFH in cui siano stati descritti un esordio con proteinuria nefrosica e diagnosi istologica di GNMP tipo I, in assenza di segni di emolisi, che ha manifestato negli anni successivi una espressione fenotipica dominante di aHUS.

Materiali e Metodi. Un uomo di 19 anni affetto da sindrome nefrosica (Proteinuria 3.6 g/24 h) con MPGN tipo I a C3 sierico ridotto diagnosticata 2 anni prima veniva ricoverato presso la nostra UOC per il peggioramento della sindrome nefrosica (Proteinuria 11 g/24 h), ipertensione, insufficienza renale, anemia, incremento delle LDH, aptoglobina assente e presenza di schistociti circolanti. C3 era ridotto (40 mg/dL). La seconda biopsia renale mostrava GNMP tipo I associata a microangiopatia trombotica. La diagnosi clinica era GNMP tipo I associata ad aHUS. Venivano somministrati boli e.v di metilprednisone 1 g per 3 gg, prednisone 1 mg/kg/die per 3 mesi e 23 sedute di plasmaferesi (PE) con restituzione di plasma fresco congelato. Veniva associata inoltre ciclofosfamide 1.5 mg/kg/die per os per 3 mesi. L'episodio emolitico si risolveva dopo 2 mesi, ma il paziente a 16 mesi di follow up prosegue emodialisi in assenza di recidive di aHUS. L'analisi genetica documentava una mutazione in eterozigosi del CFH in posizione SCR4 (e.Ile216Thr), già riconosciuta in un caso non pubblicato di aHUS.

Risultati. Da una revisione complessiva della letteratura, i casi di MPGN prodromici alla aHUS sono 5 (Tab. I); nessun caso ha eseguito la ricerca di mutazioni del complemento. Rare sono le segnalazioni di concomitante presenza di MPGN e aHUS.

Conclusioni. Il meccanismo attraverso il quale ogni singola mutazione del CFH sarebbe in grado di determinare l'insorgenza di aHUS o di MPGN non è chiarito. La presenza di una deriva fenotipica fra MPGN e aHUS potrebbe essere spiegata da un'eziopatogenesi unificante connessa all'alterata attivazione della via alterna del complemento e quindi potrebbe fornire nuove strategie terapeutiche.

Tabella I - Precedenti casi di MPGN prodromici ad aHUS

Autori (anni)	Nefropatia	Proteinuria 24 h	Terapia	Follow up
Krensky 1981	MPGN	3+ albumina	Aspirina, eparina, dipiridamolo, ciclofosfamide	Dialisi
Krensky 1981	MPGN	3 + albumina	Aspirina, dipiridamolo	Dialisi
Gomez Campdera 1984	MPGN type I	7 g/L	Terapia antiipertensiva	IRC
Mak 2009	MPGN	11.09	PE, prednisolone, ciclofosfamide, Ig e.v, Rituximab	Recupero
Kuppaki 2009	MGN	10.24	Steroidi, PE, Rituximab	Recupero

468 PO

LA NEFROPATIA CISTICA AUTOSOMICA DOMINANTE DA MUTAZIONE DEL GENE HNF1BETA: UNA CAUSA EMERGENTE E ANCORA SOTTOSTIMATA DI INSUFFICIENZA RENALE CRONICA DA "CILIOPATIE"

Izzo C.¹, Lazzarich E.¹, Quaglia M.¹, Airoldi A.¹, Menegotto A.¹, Bizzocchi A.¹, Giordano M.², Corrado L.², Canavese C.¹, Stratta P.¹
¹Azienda Ospedaliera Universitaria "Maggiore della Carità", Nefrologia e Trapianto, Novara; ²Dipartimento di Scienze Mediche, Università del Piemonte Orientale, Novara

Introduzione. La classificazione delle nefropatie cistiche ereditarie, invariata per decenni, è cambiata significativamente grazie alla genomica: dal dibattito decennale su nefronoftisi/malattia cistica della midollare si è passati alla suddivisione

in "malattie del cilio primario" e "malattie associate alla mutazione del gene uromodulina", che si è successivamente arricchita con un'ulteriore categoria secondaria alla mutazione del gene "Hepatocyte-Nuclear-Factor" HNF-1 β fino alla attuale definizione di "ciliopatie", poiché i prodotti di tutti i geni mutati nelle nefropatie cistiche sono espressi nel "cilio primario" delle cellule epiteliali renali.

Casi Clinici. La diagnosi di mutazione di HNF-1 β è stata dimostrata nella nostra esperienza clinica in 4 persone adulte su 30 (13%) indagate per IRC tubulo-interstiziale UMOD-negativa. Sono 4 diverse famiglie con mutazioni e fenotipi differenti, data l'eterogeneità genetica di cui HNF-1 β è "trigger". 1) Nella prima famiglia, dopo aver erroneamente sospettato una malattia uromodulina-associata nella madre e nefronoftisi nella figlia, abbiamo diagnosticato mutazione patogenetica di HNF-1 β in eterozigosi (c.384_390delCATGCAG) in 3 membri (madre e 2 figlie) con associazione nella madre di insufficienza renale, ipomagnesemia e autoimmunopatia, in assenza di MODY, una volta considerato patogenomiconico. 2) Nella seconda famiglia (più di 100 membri in 5 generazioni, 1 trapiantato, 4 dializzati e consanguineità) si è osservata una variazione puntiforme c.73G T con sostituzione amminoacidica Val25Leu. 3) Nella terza famiglia, la diagnosi (variazione puntiforme c.940G A determinante sostituzione amminoacidica Ala314Thr) è stata fatta in un paziente trapiantato con ipoplasia renale, giunto al trapianto con nefropatia basale ignota. 4) Nella quarta famiglia (delezione tra A_16_P20639170 e A_14_P200738) il probando presenta coesistenza di reni multicistici e Rokitsky Syndrome.

Conclusioni. I risultati del nostro studio dimostrano che occorre pensare ad una mutazione del gene HNF-1 β non solo nel contesto di anomalie renali in età pediatrica (iperocogenicità, cisti multiple, ipoplasia, displasia cistica renale), ove ricorre nel 20-30% dei casi, ma anche nelle nefropatie interstiziali microcistiche dell'adulto, seppure in assenza della classica associazione con MODY.

469 PO

BIOPSIA RENALE IN UNA PAZIENTE CON MALATTIA DI FABRY CON MUTAZIONE GENETICA MISCONSCIUTA

Torti G.¹, Di Giacomo A.², Pieruzzi F.^{1,2}, Imbasciati E.², Stellato T.¹, Genovesi S.^{1,2}, Stella A.^{1,2}

¹Clinica Nefrologica, AO San Gerardo, Monza; ²Dipartimento Medicina Clinica e Prevenzione Università degli Studi di Milano-Bicocca, Milano

Introduzione. La malattia di Fabry è un disordine ereditario x-linked caratterizzato da accumulo intracellulare di glicosifingolipidi (GL-3) determinato da deficit di enzima lisosomiale alfa-galattosidasi A (α GalA). Gli organi maggiormente coinvolti nell'età adulta sono cuore, rene e sistema nervoso. La diagnosi si basa sulla storia familiare, sulla presenza di danno d'organo e sul dosaggio di α GalA nei leucociti ed è confermata dall'analisi genetica. La biopsia renale potrebbe avere un ruolo determinante nella gestione clinica e terapeutica nelle pazienti di sesso femminile.

Caso Clinico. Donna di 50 anni osservata in seguito alla diagnosi di Malattia di Fabry nel terzogenito. In anamnesi acro parestesie alle mani e ai piedi, disturbi gastrointestinali e deflessione del tono dell'umore. Alla valutazione basale riscontro di cornea verticillata, ipoacusia bilaterale neurosensoriale e attività enzimatica di α GalA nei leucociti ridotta (26.9 nmol/h/mg). Non erano presenti segni di danno d'organo cardiaco e del sistema nervoso centrale. A livello renale presentava una clearance della creatinina di 160 mL/min, proteinuria 286 mg/24 h ed escrezione urinaria di albumina di 154 mg/24 h. La biopsia renale evidenziava al MO podociti vacuolizzati e sclerosi glomerulare focale e alla ME presenza di numerosi corpi zebra nei podociti, patogenomici per malattia di Fabry. La paziente ha rifiutato la terapia enzimatica sostitutiva e ha iniziato terapia con ACE inibitori a basso dosaggio. Al momento della biopsia renale l'analisi molecolare su sangue periferico non aveva evidenziato mutazioni note del gene GLA. In seguito, nei fibroblasti del figlio affetto e poi sul sangue periferico della paziente, è stata evidenziata una nuova mutazione non-senso C.4C>T che porta ad una sequenza di stop-codon p.GLN2Stop e il polimorfismo g.1170C>T, allo stato di eterozigosi.

Conclusioni. La biopsia renale può svolgere un ruolo molto importante nel percorso diagnostico multidisciplinare della malattia di Fabry nei pazienti di sesso femminile in quanto in grado di dimostrare e stadare il danno d'organo renale, in particolare in presenza di mutazioni non note per coinvolgimento renale, fornendo l'indicazione alla terapia sostitutiva in pazienti che presentano una sproporzione fra gravità del quadro clinico ed istologico.

470 PO

UNA NUOVA MUTAZIONE DEL GENE UMOD RESPONSABILE DI INSUFFICIENZA RENALE TERMINALE IDENTIFICATA NELL'AMBITO DI UN AGGREGATO FAMILIARE AFFERENTE ALL'AMBULATORIO DI NEFROLOGIA DEL NOSTRO OSPEDALE

Foschi A., Costa S., Milani I., Rindi S., Zucchi M., Milanese F.
Unità di Nefrologia e Dialisi - Ospedale Civile di Voghera, Voghera (PV)

La malattia midollare cistica renale (MCKD), la nefropatia iperuricemica giovanile famigliare (FJHN) e la malattia glomerulocistica renale (GCKD) appartengono a un gruppo eterogeneo di nefriti ereditarie tubulo-interstiziali con numerosi segni clinici comuni quali una ridotta capacità di concentrare le urine, iperuricemia

secondaria, a volte presenza di fibrosi tubulo-interstiziale e di cisti nella giunzione cortico-midollare e un'importante riduzione della clearance degli urati fino a progressiva insufficienza renale. Tale spettro fenotipico è riconducibile a due loci che mappano su cromosomi diversi: 1q21 (MCKD1) e 16p12 (MCKP2) dove si trova il gene UMOD che codifica per l'Uromodulina, proteina prodotta principalmente nel tratto ascendente dell'ansa di Henle, che costituisce la componente più importante delle proteine urinarie in condizioni fisiologiche. Sono note modificazioni del gene UMOD che modificano la struttura terziaria della proteina e causano un ritardo del suo trasferimento alla membrana plasmatica e quindi un suo accumulo a livello del reticolo endoplasmatico, correlate alla comparsa delle entità nosografiche sopra definite. L'attuale scoperta risiede nel fatto che nell'ambito di questa famiglia, in seguito a consulenza genetica, si è osservata al momento in tre membri la presenza di una mutazione del gene UMOD che in letteratura non è descritta (è riportata solo una mutazione analoga, c.449G>C, p.Cys150Ser). L'analisi dell'esone 3 e 4 e delle giunzioni introne-esone ha identificato la mutazione puntiforme del gene UMOD c.449G>A che comporta la sostituzione della guanina in posizione 449 con una adenina. La sostituzione c.449G>A nel gene UMOD comporta a livello della proteina la sostituzione dell'aminoacido cisteina con l'aminoacido tirosina (p.Cys150Tyr). La patogenicità della mutazione p.Cys150Tyr è comprovata dalla sua assenza nel DNA di 100 individui sani e dal fatto che, come la maggior parte delle mutazioni del gene UMOD, essa determina la perdita di una cisteina filogeneticamente conservata e importante per la struttura della proteina e quindi per la sua funzione.

471 PO

MALATTIA DI FABRY IN MADRE E FIGLIO: UNA NUOVA VARIANTE NUCLEOTIDICA C.1229 C>T

Somenzi D.¹, Corradini M.¹, Morrone A.², Iannuzzella F.¹, Pasquali S.¹
¹U.O.C. Nefrologia e Dialisi, Dip. di Medicina e Spec. Mediche, A.O. S. Maria Nuova, Reggio Emilia; ²Sez. Malattie Metaboliche e Muscolari Ereditarie, Clinica di Neurologia Pediatrica, A.O.U Meyer, Firenze

Presentiamo il caso di madre e figlio, trattati nella nostra struttura per insufficienza renale terminale (ESRD) associata ad una variante nucleotidica della Malattia di Fabry finora non descritta. Il gene GLA, posto sul cromosoma X, codifica per l'enzima alfa-galattosidasi. Dal suo sequenziamento sono state identificate oltre 200 mutazioni. Una donna di 69 anni era inviata alla nostra attenzione per ESRD, sindrome nefrosica ed ipertensione arteriosa. La paziente era inoltre affetta da artrite reumatoide già trattata con steroidi, metotrexate ed etanercept. La biopsia renale evidenziava diffusi depositi di amiloide ma anche corpi zebra nei citoplasmi di podociti e cellule tubulari. La diagnosi di Malattia di Fabry eterozigote veniva confermata dall'analisi molecolare e dal sequenziamento del gene GLA. La tipizzazione permetteva di caratterizzare inoltre un'amiloide AA1.3. Il figlio, di 47 anni, era già seguito in ambito psichiatrico per deterioramento cognitivo. Durante un ricovero per crisi comiziali venivano riscontrate encefalopatia vascolare con severa ipertensione arteriosa, ESRD con proteinuria di grado moderato e reni ecograficamente grinzosi. Il severo deficit enzimatico portava alla diagnosi di Malattia di Fabry. Il sequenziamento dell'introne IV del gene GLA ha identificato la nuova variante nucleotidica c.1229 C>T. Dalla sostituzione amminoacidica p.Thr410Ile consegue l'anomala presenza di una treonina e l'alterazione dell'idrofobicità di un sito profondo dell'enzima. L'analisi filogenetica ha rivelato come l'aminoacido in posizione 410 sia sempre polare: la mutazione Thr410Ile determinerebbe un cambio di tale polarità, confermando l'interpretazione sopradescritta fornita dal software PolyPhen. La terapia enzimatica ha consentito la stabilizzazione del quadro clinico in entrambi i pazienti, pur con necessità di terapia emodialitica cronica. L'amiloide SAA della madre, non associabile alla Malattia di Fabry, è rimasta clinicamente stabile. La nuova mutazione identificata nei due soggetti ha trovato una conferma patogenetica mediante analisi di simulazione computazionale e studio filogenetico.

472 PO

APPROCCI PROTEOMICI E METABONOMICI NELLO STUDIO DELLA MALATTIA DI FABRY

Cuccurullo M.¹, Beneduci A.², Anand S.³, Petrazzuolo O.¹, Mignani R.⁴, Feriozzi S.⁵, Pisani A.⁶, Bachi A.³, Capasso G.¹

¹Dipartimento di Medicina Interna, Seconda Università degli studi di Napoli, Napoli; ²Dipartimento di Chimica, Università di Calabria, Arcavacata di Rende (CS); ³Fondazione San Raffaele, Milano; ⁴Dipartimento di Nefrologia e Dialisi, Ospedale degli Infermi, Rimini; ⁵Unità Operativa Nefrologia e Dialisi, Ospedale Belcolle, Viterbo; ⁶Dipartimento di Nefrologia, Università degli studi di Napoli Federico II, Napoli

Introduzione. La malattia di Fabry (FD) è una patologia causata da una mutazione nel gene codificante l'enzima lisosomiale α -galattosidasi A (α -GalA) posizionato sul cromosoma X. La conseguente mancanza di attività α -galattosidasi porta ad un accumulo intra-lisosomiale di globotriaosilceramide (Gb3) con conseguente sviluppo di una patologia multi-sistemica le cui manifestazioni ultime sono l'infarto e, più in generale, disfunzione renale e cardiaca la cui diagno-

si è spesso tardiva. La terapia enzimatica sostitutiva (ERT) ottenuta mediante somministrazione dell'enzima ricombinante permette il trattamento specifico dei pazienti affetti da FD, sebbene il monitoraggio di tale terapia sia limitato dalla mancanza di un efficace marker di risposta. In questo studio riportiamo l'uso di due diverse tecniche "omiche" per l'identificazione di specifiche alterazioni molecolari associate alla malattia che possano essere usate sia come marcatori precoci di patologia che nel monitoraggio dell'efficacia della terapia enzimatica.

Materiali e Metodi. A tale scopo, campioni delle seconde urine del mattino sono stati raccolti da una popolazione di 35 soggetti (11 pazienti naïve, 12 pazienti ERT e 12 controlli sani) ed analizzati mediante label free quantification e bio-fluid NMR spectroscopy associata ad analisi statistica multivariata (MVDA).

Risultati e Conclusioni. I risultati ottenuti suggeriscono che sia il profilo urinario proteomico che quello metabolico dei pazienti Fabry naïve sono caratteristici e significativamente diversi rispetto a quelli dei controlli sani. I pathway biologici che risultano principalmente influenzati dalla FD sono tutti relazionati al funzionamento del sistema immunitario ed allo stato infiammatorio, nonché al metabolismo energetico. In particolare, nel pattern di proteine deregolate dalla FD, sono stati identificati un marcatore molto precoce di danno renale a livello tubulare (tutti pazienti in analisi presentavano valori di GFR e creatinina nella norma) ed uno degli attivatori del pathway di sintesi dei glicosfingolipidi che suggerisce un probabile meccanismo di compensazione indotto dalla deficienza di alfa galattosidase. Inoltre, lo studio ha dimostrato che la terapia enzimatica sostitutiva è in grado di ripristinare in maniera significativa la normale omeostasi cellulare, suggerendo in tal modo che risposte temporizzate dei pazienti in trattamento possono fornire importanti informazioni circa l'evoluzione delle disfunzioni metaboliche indotte dalla malattia.