

PROGETTO VINCITORE 2

Coordinatore scientifico:

Nicola Bassi, Assegnista post-doc, Università degli Studi di Padova, Scienze Mediche e Chirugiche, Divisione di Reumatologia, nicola.bassi@unipd.it

Titolo del progetto:

Anticorpi anti-pentrassina 3 (PTX3) nella modulazione della glomerulonefrite nel modello murino di lupus NZB/NZWF1.

Elenco delle Unità di Ricerca):

1. Università degli Studi di Padova, Scienze Mediche e Chirugiche, Divisione di Reumatologia, Coordinatore Scientifico Dott. Nicola Bassi

Riassunto (max 2.000 caratteri)

La pentrassina 3 (PTX3) è stata ritrovata negli interstizi renali di pazienti con lupus eritematoso sistemico (LES), in cui sono stati recentemente descritti gli anti-PTX3, con livelli significativamente più bassi nei pazienti con glomerulonefrite rispetto a quelli senza l'impegno renale.

Lo scopo del progetto sarà di valutare se gli anti-PTX3 (aPTX3) possono avere un ruolo protettivo e/o terapeutico nei confronti della glomerulonefrite lupica.

Dieci topi NZB/NZWF1, un modello murino che sviluppa spontaneamente una glomerulonefrite simile a quella lupica dell'uomo a 5-7 mesi d'età, saranno iniettati 2 volte con PTX3/allume e una volta con PTX3/PBS e altri 10 saranno iniettati 3 volte con PBS, come controllo. Cinque del gruppo di controllo, verranno iniettati 2 volte con PTX3/allume dopo lo sviluppo di proteinuria. Tutte le iniezioni saranno effettuate intraderma sulle zampe posteriori a partire da 11 settimane di età, a 3 settimane di distanza l'una dall'altra.

Le urine saranno raccolte settimanalmente per misurare i livelli di proteinuria, al fine di monitorare nel tempo l'impegno renale, mediante i multistix reagent. Il sangue verrà prelevato dalla vena caudale, mensilmente, prima di ogni iniezione e dopo l'ultima iniezione, fino alla morte naturale dei topi, momento in cui verranno prelevati da ciascuno il sangue e i reni.

Dal siero ottenuto dal sangue si valuteranno i livelli circolanti di aPTX3, sottoclassi di IgG aPTX3, PTX3, anti-nDNA e anti-C1q mediante tecniche ELISA home-made standardizzate. Brevemente, le piastre verranno coartate con l'antigene diluito in PBS (5µg/ml), i sieri saranno diluiti 1:100 in 3% albumina sierica bovina (BSA) in PBS, le IgG saranno identificate con anti-mouse IgG in 1% BSA/PBS.

I reni verranno utilizzati per effettuare analisi immunoistologiche per IgG, PTX3, analisi istologiche e analisi dell'espressione dell'mRNA della PTX3, mediante retrotrascrizione.

I risultati che ci attendiamo sono: un ritardo nell'insorgenza di proteinuria, livelli circolanti più elevati di aPTX3 e più bassi di PTX3, anti-nDNA e anti-C1q nei topi trattati; una maggiore deposizione e una maggiore espressione di PTX3 e danno renale istologico maggiore nei topi di controllo; valori intermedi nei cinque topi di controllo che verranno trattati successivamente

Breve descrizione del contributo specifico di ogni Unità di Ricerca

L'unità di ricerca si occuperà della preparazione e dell'utilizzo dei campioni di sangue, di effettuare tutte le analisi delle urine, di svolgere tutti i test ELISA per la valutazione dei livelli circolanti degli autoanticorpi di interesse, delle analisi istologiche ed immunistochimiche dei campioni renali e dello studio dell'espressione dell'mRNA della PTX3 a livello renale.

La stabulazione e il controllo giornaliero dei topi verrà effettuato dal Centro di Servizi Interdipartimentali di Chirurgia Sperimentale, nel pieno rispetto delle good laboratory practice (GLP) in tema di animal care e nell'applicazione del protocollo sperimentale previsto dai locali servizi veterinari.

Costo orientativo del Progetto

Durata: 2 anni

Budget complessivo: 25000 euro

Budget parziale:

1. Acquisto e stabulazione dei topi: 7000 euro
2. Attività sperimentale e terapeutica: 6000 euro
3. Kit immunoenzimatici e altri reagenti di laboratorio: 9000 euro
4. Consulenza statistica: 3000 euro.