

Lettera di intenti

Titolo del progetto (max 200 caratteri):

Caratterizzazione di differenti componenti autoimmuni della nefrite lupica umana con analisi proteomica diretta in biopsie renali.

Titolo breve (max 50 caratteri):

Auto-anticorpi glomerulari responsabili della nefrite lupica.

Coordinatore scientifico:

Nome e Cognome: Gian Marco Ghiggeri

Istituzione di appartenenza: IRCCS Istituto Giannina Gaslini, Genova

Qualifica professionale: Direttore UO Complessa Nefrologia, Dialisi, Trapianto

Indirizzo: Largo Gaslini n5, 16148 Genova

Telefono numero: 3475396090

Fax numero: 010395214

E-mail: GMarciGhiggeri@ospedale-gaslini.ge.it

Elenco delle Unità di Ricerca (Istituzione, Dipartimento, Coordinatore Scientifico):

1. Istituto Giannina Gaslini di Genova. U.O.C. di Nefrologia, Dialisi, Trapianto, Laboratorio di Fisiopatologia dell'Uremia. Coordinatore Scientifico Prof. Gian Marco Ghiggeri
2. Università degli Studi di Parma. Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale. Unità di Nefrologia. Coordinatore Scientifico: Prof. Landino Allegri

Collaboratori locali oltre al Responsabile Scientifico:

- 1) Maurizio Bruschi, tecniche di proteomica
- 2) Alice Bonanni, arruolamento pazienti, data-base

Collaboratori di altra sede oltre al Responsabile Scientifico:

- 1) Maricla Galetti. Biologa responsabile della manipolazione su tessuto renale
- 2) Rita Gatti. Biologa responsabile dell'osservazione e fotografia dei risultati alla microscopia confocale

Riassunto (max 2.000 caratteri)

Devono essere presenti le seguenti sezioni: 1. Background; 2. Obiettivi; 3. Metodi; 4. Risultati attesi

1) BACKGROUND

La nefropatia lupica (NL) è una delle complicanze più gravi del LES. Si ritiene comunemente che si sviluppi per una deposizione di auto-anticorpi (Ab) a livello del glomerulo renale, ma non sono noti gli antigeni (Ag) con cui tali auto-Ab interagiscono. E' stato supposto un ruolo essenziale di auto-Ab circolanti anti-DNA a doppia elica i quali, per cross-reazione, interagirebbero con Ag della struttura glomerulare. Tuttavia la deposizione di Ab anti- DNA non è riscontrabile in più del 10-20% dei soggetti affetti dalla malattia. Un recente studio *in vivo* ha dimostrato un ruolo patogenetico di autoanticorpi verso antigeni podocitari di classe IgG2 nella nefropatia lupica umana (rf. 21)

2) OBIETTIVI

Basandoci sull'evidenza che l'eziopatogenesi della NL è multi-autoanticorpale, l'obiettivo dello studio è di proseguire nella ricerca di complessi nefritogeni Ag-Ab, in cui l'Ag non sia più strutturale glomerulare, ma proveniente dal circolo ed impiantato a livello del glomerulo. Quali Ag in esame sono attualmente da noi considerati, tra gli altri, prodotti del DNA quali istoni e nucleosomi e frazioni complementari.

3) METODI

Si procederà alla caratterizzazione di auto-Ab anti Ag impiantati mediante microdissezione laser-guidata di glomeruli provenienti da biopsie renali residue. Tali auto-Ab saranno eluiti dai glomeruli e caratterizzati mediante elettroforesi bidimensionale. Successivamente si procederà alla identificazione e localizzazione di questi stessi auto-Ab e dei rispettivi Ag a livello glomerulare mediante microscopia laser confocale.

4) RISULTATI ATTESI

Ci si attende l'identificazione di auto-Ab reagenti con Ag impiantati a livello glomerulare e la dimostrazione di un loro eventuale ruolo nefritogeno mediante 3 rilievi fondamentali: 1) eluizione di singoli auto-Ab dai glomeruli; 2) dimostrazione mediante immuno-istochimica di una co-localizzazione glomerulare degli stessi auto-Ab con i relativi Ag, 3) riscontro degli stessi auto-Ab in circolo.

Tale caratterizzazione dovrebbe portare a breve termine all'identificazione di markers diagnostici precoci e prognostici a livello sierico della NL; A più lungo termine alla realizzazione di terapie specifiche della NL attualmente del tutto mancanti, mediante inibizione degli auto-Ab riconosciuti patogenetici nel singolo soggetto.

Informazioni relative al Responsabile Scientifico del Progetto

Breve curriculum vitae

ESPERIENZA LAVORATIVA

1977/1981 Assistente medico, Cattedra di Nefrologia , Università di Genova

1981/1988 Assistente medico, Divisione di Medicina Interna e Nefrologia, Ospedale di Lavagna.

1988/2008 Aiuto medico, UOC Nefrologia, Dialisi e Trapianto, Istituto Giannina Gaslini, Genova

Dal 2001 a tutt'oggi: Direttore del Laboratorio di Fisiopatologia dell'Uremia, Istituto Giannina Gaslini, GE

Dal 2008 a tutt'oggi: Direttore UOC Nefrologia, Dialisi, Trapianto

Istituto G.Gaslini, GE

ISTRUZIONE E FORMAZIONE

- Date (da – a) 1977 Laurea in Medicina e Chirurgia, Università di Genova
- 1980 Specializzazione in Nefrologia, Università di Genova
- 1986 Specializzazione in Biochimica, Università di Pisa
- 2005 Specializzazione in Genetica Medica, Università di Genova.

ATTIVITA' DIDATTICA ED ACCADEMICA

- 2005-presente. Insegnamento di Nefrologia Pediatrica, Scuola di specializzazione in Pediatria, Università di Genova.
- 2013- Conseguimento dell'abilitazione scientifica nazionale alle funzioni di professore universitario di I fascia in Nefrologia ed in Pediatria

Pubblicazioni (fino a 5 attinenti all'area tematica del Progetto)

1) Glomerular Autoimmune Multicomponents of Human Lupus Nephritis In Vivo: α -Enolase and Annexin AI.

Bruschi M¹, Sinico RA, Moroni G, Pratesi F, Migliorini P, Galetti M, Murtas C, Tincani A, Madaio M, Radice A, Franceschini F, Trezzi B, Bianchi L, Giallongo A, Gatti R, Tardanico R, Scaloni A, D'Ambrosio C, Carnevali ML, Messa P, Ravani P, Barbano G, Bianco B, Bonanni A, Scolari F, Martini A, Candiano G, Allegri L, Ghiggeri G M.
J Am Soc Nephrol. 2014 May 1. [Epub ahead of print]

2) Rituximab is a safe and effective long-term treatment for children with steroid and calcineurin inhibitor-dependent idiopathic nephrotic syndrome.

Ravani P¹, Ponticelli A, Siciliano C, Fornoni A, Magnasco A, Sica F, Bodria M, Caridi G, Wei C, Belingheri M, Ghio L, Merscher-Gomez S, Edefonti A, Pasini A, Montini G, Murtas C, Wang X, Muruve D, Vaglio A, Martorana D, Pani A, Scolari F, Reiser J, **Ghiggeri GM**.
Kidney Int. 2013 Nov;84(5):1025-33.

3) Circulating antipodocyte antibodies in membranous nephropathy: new findings. Murtas C, Allegri L, **Ghiggeri GM**.

Am J Kidney Dis. 2013 Jul;62(1):12-5.

4) Genetic screening in adolescents with steroid-resistant nephrotic syndrome.

Lipska BS, Iatropoulos P, Maranta R, Caridi G, Ozaltin F, Anarat A, Balat A, Gellermann J, Trautmann A, Erdogan O, Saeed B, Emre S, Bogdanovic R, Azocar M, Balasz-Chmielewska I, Benetti E, Caliskan S, Mir S, Melk A, Ertan P, Baskin E, Jardim H, Davitaia T, Wasilewska A, Drozd D, Szczepanska M, Jankauskiene A, Higueta LM, Ardissino G, Ozkaya O, Kuzma-Mroczkowska E, Soylemezoglu O, Ranchin B, Medynska A, Tkaczyk M, Peco-Antic A, Akil I, Jarmolinski T, Firszt-Adamczyk A, Dusek J, Simonetti GD, Gok F, Gheissari A, Emma F, Krmar RT, Fischbach M, Printza N, Simkova E, Mele C, **Ghiggeri GM**, Schaefer F; PodoNet Consortium.

Kidney Int. 2013 Jul;84(1):206-13.

5) **Lupus nephritis in children and adolescents: results of the Italian Collaborative Study.**

Ruggiero B, Vivarelli M, Gianviti A, Benetti E, Peruzzi L, Barbano G, Corona F, Ventura G, Pecoraro C, Murer L, **Ghiggeri GM**, Pennesi M, Edefonti A, Coppo R, Emma F.
Nephrol Dial Transplant. 2013 Jun;28(6):1487-96.

Breve descrizione del contributo specifico di ogni Unità di Ricerca (max 1.400 caratteri per ciascuna Unità di Ricerca)*

Ogni unità collaborerà al raggiungimento degli obiettivi precedentemente indicati come segue:

1) la presenza a livello glomerulare di un determinato Ab sarà rilevata a partire da glomeruli residui, dopo sezionamento dei frustoli di biopsia renale ed effettuazione della diagnosi clinico-istologica. Tali glomeruli verranno isolati mediante laser disettore presso l'Unità di Nefrologia di Parma (Coordinatore Prof.Landino Allegri).

2) I glomeruli così dissecati verranno in seguito sottoposti a trattamento per l'eluizione degli Ab ivi depositati. Il riconoscimento della specificità di tali Ab presenti negli eluati avverrà mediante immunoelettroforesi bidimensionale. Queste ultime due fasi verranno svolte presso il Laboratorio di Fisiopatologia dell'Uremia di Genova . (Coordinatore Prof. Gian Marco Ghiggeri).

3) la co-localizzazione degli Ab in esame con i relativi Ag vedrà il coinvolgimento dell'Unità di Nefrologia di Parma La co-localizzazione sarà evidenziata mediante crio-sezionamento dei frustoli residui e rivelazione degli Ag ed Ab in esame mediante Ab specifici L'osservazione della reazione sarà eseguita mediante microscopia laser confocale. (Coordinatore Prof. Landino Allegri).

4) la presenza a livello sierico degli Ab di cui esaminare la specificità verrà evidenziata mediante immunoelettroforesi bidimensionale. In tale processo, le due Unità collaboreranno allo stoccaggio dei sieri dei pazienti, mentre l'immuno-elettroforesi bidimensionale verrà effettuata presso il Laboratorio di Fisiopatologia dell'Uremia di Genova. (Coordinatore Prof. Gian Marco Ghiggeri).

Costo orientativo del Progetto			
Spesa	I ANNO richiesto	II ANNO richiesto	Tot richiesto
Contributo per collaboratori tecnici	13.000	13.000,00	26.000,00
Reagenti vari	2.000,00	2.000,00	4.000,00
Totali	15.000,00	15.000,00	30.000,00