

# RUOLO DELLE PROTEINE UBIQUITINATE NELLA NEFROPATIA DIABETICA (ND)

Massimo Papale<sup>1</sup>, Grazia Vocino<sup>1</sup>, Salvatore Di Paolo<sup>2</sup>, Paola Pontrelli<sup>3</sup>, Francesca Conserva<sup>3</sup>, Maria Teresa Rocchetti<sup>3</sup>, Giuseppe Grandaliano<sup>1</sup>, Salvatore De Cosmo<sup>4</sup>, Loreto Gesualdo<sup>3</sup>.

1) Patologia Clinica - Dip. Scienze Mediche e Chirurgiche, Università di Foggia; 2) Sez. di Nefrologia, Ospedale Dimiccoli, Barletta; 3) Nefrologia – Dip. D.E.T.O, Università di Bari; 4) Endocrinologia - Ospedale “ Casa Sollievo Sofferenza”, San Giovanni Rotondo (FG), Italia

## INTRODUZIONE

Il danno renale nel diabete mellito (DM), correla con un incremento di ubiquitina libera nelle urine dei pazienti. Inoltre, l'iperglicemia induce, *in vitro*, l'ubiquitinazione di specifiche proteine. L'ubiquitinazione in lisina 48 media la degradazione delle proteine mentre quella in lisina63 regola processi metabolici e trafficking intracellulare. In questo studio, descriviamo un set di proteine ubiquitinate (UBI-prot) indotte dall'iperglicemia ed escrete nelle urine dei pazienti con ND

## METODI

Le UBI-prot totali sono state purificate, mediante immunoprecipitazione, dalle urine di 20 controlli e 60 pazienti DM (20 normo-, 20 micro- e 20 macro-albuminurici). L'analisi parallela con SDS-PAGE seguita da colorazione con Coomassie e/o immunoblotting con anticorpo specifico per le lys63-UBI-prot ha consentito di distinguere le lys63-UBI-prot dalle lys48-UBI-prot. Le lys63-UBI-prot, identificate nelle urine e nelle cellule tubulari cresciute in iperglicemia, sono state confrontate. Le proteine comuni o funzionalmente correlate sono state identificate con MALDI-TOF/MS e validate

## RISULTATI

Le UBI-prot risultano marcatamente più escrete nelle urine dei pazienti ND rispetto ai pazienti normo- e micro-albuminurici. Il confronto tra i dataset urinario e cellulare evidenzia un pattern di marcatori comuni. In particolare, alcune lys63-UBI-prot urinarie presentano origine tubulare e sono coinvolte nel riarrangiamento del citoscheletro (b-actina), nell'espansione della matrice extracellulare (collagene alfa-1) e nei pathways metabolici (istone metil-transferasi)

## CONCLUSIONI

La progressione del danno renale nel DM correla con un significativo incremento dell'escrezione urinaria di ubiquitina libera e di proteine ubiquitinate. La presenza di lys63-UBI-prot di origine tubulare nelle urine dei

pazienti ND suggerisce un coinvolgimento dell'ubiquitinazione in lys63 nel danno tubulare e nella progressione della ND. L'identificazione di tutte le UBI-prot urinarie potrebbe consentire di individuare nuovi biomarcatori di diagnosi precoce e non invasiva della ND.