

36

Consideriamo, tuttavia, per ora, i nostri risultati solo come preliminari, in quanto ottenuti su un numero ristretto di casi, e tali da non permettere ancora conclusioni definitive; le variazioni riscontrate ci stimolano ad approfondire ulteriormente il problema tramite l'indagine su una casistica più ampia e sulla base di altre prove funzionali.

- <sup>1</sup> Ballabio C. B., Ciria E., Colombo B., Marcolongo R., Pasero G., Vipitone V.: *La gotta e le Iperuricemie*, 1977, Wellcome ed., Pomezia.
- <sup>2</sup> Gutman A. B., Yu T. F.: Renal function in gout. With a commentary on the renal regulation of urate excretion and the role of the kidney in the pathogenesis of gout. *Am. J. Med.*, 1957, **23**, 600.
- <sup>3</sup> Seegmiller J. E., Crayzell A. I., Laster L., Liddle L.: Uric acid production in gout. *J. Clin. Invest.*, 1961, **40**, 1304.
- <sup>4</sup> Fossati P., Prencipe L., Berti G.: Use of 3,5-dichloro-2 hydroxy benzene sulfonic acid 4-amino phenazone chromogenic system in direct enzymic assay of uric acid in serum and urine. *Clin. Chem.*, 1980, **26**, 227.
- <sup>5</sup> Bartels H., Bochmer M.: Microdetermination of creatinine. *Clin. Chim. Acta*, 1971, **32**, 81.
- <sup>6</sup> Wyngaarden J. B., Kelley W. N.: *Gout and Hyperuricemia*, 1976 Grune e Stratton, New York, p. 149.
- <sup>7</sup> Rick W.: *Klinische Chemie und Mikroskopie*, 1977, Springer, Berlin, Heidelberg, New York, p. 326.

Istituto di Chimica Biologica,  
Università degli Studi di Siena  
(Pian dei Mantellini 44, 53100 Siena)  
\*Istituto di Reumatologia,  
Università degli Studi di Siena  
(via del Tufi 1, 53100 Siena)

DANIELA VANNONI  
BRUNETTA PORCELLI  
ANNA DI STEFANO  
MARIA PIZZICHINI  
ROBERTO LEONCINI  
LUCIA TERZUOLI  
ANNA TADDEO\*  
STEFANO MARSINI\*  
GABRIELLA MOROZZI\*  
ROBERTO MARCOLONGO\*

### Dimostrazione immunostochimica del neuropeptide Y nel timo umano normale e nel timoma

IMMUNOHISTOCHEMICAL DEMONSTRATION OF NEUROPEPTIDE Y IN NORMAL HUMAN THYMUS AND IN THYMOMA

The distribution of neuropeptide Y-like immunoreactivity in normal thymic parenchyma and in thymoma was evaluated in order to characterize the typical aspects of the thymic peptidergic pattern of innervation in normal and pathological conditions. The possible role of neuropeptide Y in neuromodulation of the immunological response is discussed.

Il neuropeptide Y (NPY) è un peptide di 36 aminoacidi, ricco in tirosina, isolato nel cervello di maiale nel 1982<sup>1</sup> ed identificato in quantità considerevoli sia nel sistema nervoso centrale che nel sistema nervoso periferico.

Il neuropeptide Y è stato identificato anche nelle arterie e nelle arteriole riccamente innervate da fibre contenenti NPY<sup>2-5</sup>, ed è presente, sia pure incostantemente ed in minime quantità, nelle vene. Tra i principali effetti biologici del neuropeptide Y è da considerare il controllo della vasoco-

strizione, mediato attraverso il simpatico in cooperazione con la noradrenalina<sup>4</sup> e dipendente anche dalla concentrazione del calcio intracellulare<sup>6</sup>. L'NPY è stato identificato anche nella milza e nel timo con metodi immunocitochimici<sup>7</sup>. La possibilità che l'innervazione peptidergica degli organi linfoidi rivesta un ruolo nella neuromodulazione della risposta immune<sup>7</sup> ha negli ultimi anni fatto aumentare l'interesse per l'NPY. Scopo del presente lavoro è quello di valutare morfologicamente la distribuzione dell'immunoreattività per l'NPY nel parenchima timico normale e patologico (timoma), al fine di individuare alcuni possibili aspetti caratteristici della innervazione peptidergica del timo e del controllo che essa può esercitare sulla risposta immune timica in condizioni normali e patologiche.

Campioni di timoma e di parenchima timico normale, provenienti da pazienti sottoposti ad interventi di chirurgia toracica per resezione timica o pericardica, sono stati prelevati immediatamente dopo l'asportazione e processati. Frammenti delle dimensioni di circa 7 × 5 × 5 mm sono stati fissati in Bouin per 36-48 ore ed inclusi in paraffina. Sono state quindi eseguite sezioni dello spessore di 5 µ con automicrotomo Jung 2050 su vetrini gelatinati. Le sezioni sono state processate con la metodica della Streptavidina-Biotina-perossidasi e con l'impiego di anticorpi monoclonali verso l'NPY in diluizione 1 : 100.

Lo studio immunostochimico del parenchima timico normale mediante anticorpi monoclonali anti-NPY ha rilevato la presenza di una intensa immunoreattività per l'NPY (fig. 1) localizzata in cellule sparse. In sezioni di timoma (fig. 2) l'immunoreattività per l'NPY è apprezzabile soprattutto attorno ai vasi di piccolo calibro. L'immunoreattività per l'NPY può essere individuata seguendo le arterie timiche nelle loro ramificazioni all'interno del connettivo interlobulare sino alla loro suddivisione lungo i setti secondari di tessuto connettivo che si estendono in profondità dalla superficie dei lobuli, nei quali esse penetrano a livello della giunzione tra corticale e midollare. Alla periferia della corticale si può osservare una fine rete capillare (che confluisce in seguito in venule postcapillari) in cui l'immunoreattività per l'NPY è apprezzabile.

Il neuropeptide Y è uno dei peptidi più diffusi nel sistema nervoso ed è stato individuato anche nell'apparato cardiovascolare<sup>8</sup> (nel quale esplica numerose funzioni), nelle vie urinarie<sup>9</sup>, ed in diversi altri distretti in cui esso coesiste con neuromediatrici del simpatico<sup>10</sup>. Molte osservazioni concordano nell'attribuire crescente rilievo al controllo che l'NPY esercita sulla neurotrasmissione adrenergica.

L'NPY determina infatti nell'animale una potente vasocostrizione per effetto periferico diretto sull'apparato cardiovascolare (ciò si rileva infatti anche in ratti in cui il nervasse è stato distrutto)<sup>11</sup>. Tale effetto sembra legato ad azione diretta sui vasi mediante un meccanismo endotelio-dipendente<sup>12</sup> forse connesso alla liberazione di un fattore di origine endoteliale che aumenta la responsività vasale alla stimolazione simpatica. Le implicazioni biologiche di queste osservazioni appaiono rilevanti se si considera il possibile ruolo che l'NPY può svolgere in situazione di stress cardiovascolare soprattutto in relazione alla regolazione del flusso sanguigno nei distretti da esso innervati.

Il riscontro di una consistente immunoreattività per il neuropeptide Y nel timo umano normale e nel timoma può suggerire (anche in considerazione dello stretto rapporto fra NPY e strutture arteriolari e capillari) l'esistenza di una modulazione dell'attività immune del timo connessa alla regolazione della microcircolazione timica da parte dell'NPY e di neurotrasmettitori adrenergici. L'importanza di questa neuromodulazione delle strutture vascolari timiche è accresciuta anche dalle peculiari caratteristiche delle pareti capil-

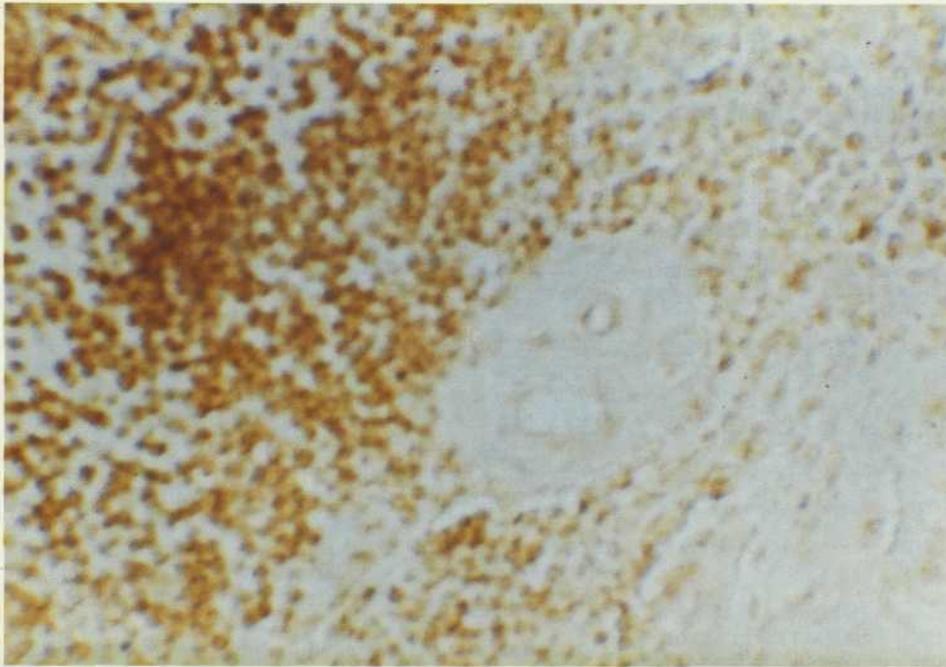


Fig. 1. Timo umano normale. Immunoperossidasi. Microscopia ottica. NPY: si noti l'intensa immunoreattività nella midollare del timo. Al centro, un corpuscolo di Hassal che mostra una debole reazione.

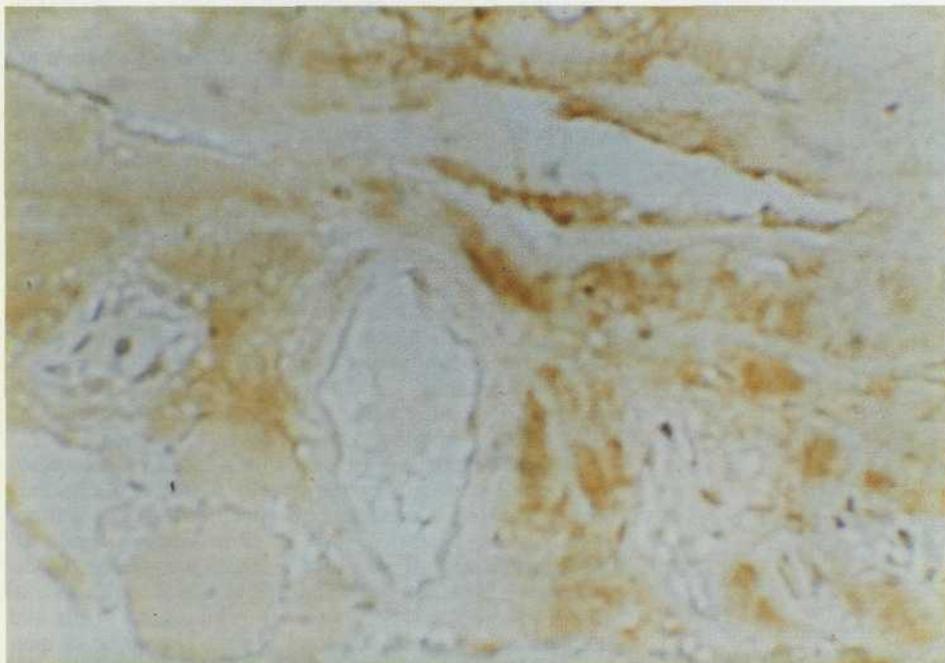


Fig. 2. Timoma umano. Immunoperossidasi. Microscopia ottica. NPY: l'immunoreattività è presente intorno ai vasi.

lari che nella corticale timica sono quasi impermeabili al passaggio di macromolecole dal sangue al parenchima, mentre nella midollare tale passaggio è agevole. La conseguenza di questa particolare organizzazione morfologica è la protezione della popolazione linfocitaria corticale dall'influenza delle macromolecole circolanti e la costituzione della cosiddetta «barriera ematotimica».

Il contributo dell'NPY alla regolazione delle funzioni circolatorie timiche è comunque di difficile interpretazione.

Numerosi studi condotti su vasi cerebrali<sup>13</sup>, su vasi di muscoli scheletrici<sup>14</sup>, su arterie polmonari, gastroepiploiche, femorali e sull'aorta di animali da esperimento hanno rilevato l'esistenza di significative differenze regionali nella risposta all'NPY dipendenti forse da diversità di affinità recettoriale. La possibilità che l'NPY rivesta un ruolo importante nella modulazione della risposta immune timica in condizioni normali e patologiche, benché suffragata dall'esistenza di un intimo rapporto tra l'immunoreattività per

l'NPY e le cellule del parenchima timico (timo normale) e ancor di più attorno ai piccoli vasi in sezioni di timoma, necessità di ulteriori approfondimenti. Infatti se è noto che alterazioni farmacologiche indotte nei confronti di mediatori adrenergici possono indurre alterazioni delle risposte immuni<sup>7</sup> a livello dei tessuti linfoidei, risulta peraltro difficile interpretare il significato e le basi biologiche di queste alterazioni per le complesse interrelazioni tra neurotrasmettitori e sostanze ormonali che differiscono anche a seconda della specie considerata. Inoltre è stato accertato che fibre nervose si riscontrano in tessuti linfoidei non solo sotto forma di plessi attorno ai vasi sanguigni, ma anche tra aggregati di linfociti<sup>7</sup>. L'esistenza di una consistente immunoreattività per l'NPY diffusa tra le cellule del timo normale suggerisce un possibile ruolo di questo neuropeptide in condizioni normali nella regolazione della immunofisiologia timica. D'altra parte il riscontro di una differente distribuzione dell'immunoreattività per l'NPY in frammenti di timoma potrebbe essere correlata all'esistenza di una alterazione della neuromodulazione della risposta immune timica nei pazienti portatori di timoma.

Gli AA. ringraziano il Prof. Carlo Cavallotti, titolare delle III Cattedra di Anatomia Umana Normale dell'Università di Roma "La Sapienza", per gli utili suggerimenti e per la disponibilità dei laboratori di ricerca, e il Prof. Costante Ricci, titolare della Cattedra di Chirurgia Toracica dell'Università di Roma "La Sapienza", per i campioni linfatici intraoperatori.

- 1 Tatemoto K.: Neuropeptide Y. Complete amino acid sequence of the brain peptide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1982, **79**, 5485.
- 2 Edvinsson L., Emson P., Mc Culloch J., Tatemoto K., Uddman R.: Neuropeptide Y: cerebrovascular innervation and vasomotor effects in the cat. *Neurosci. Lett.*, 1983, **43**, 79.
- 3 Ekblad E., Edvinsson L., Wahlestedt C., Uddman R., Håkanson R., Sundler F.: Neuropeptide Y co-exists and co-operates with noradrenaline in perivascular nerve fibers. *Regul. Pept.*, 1984, **8**, 225.
- 4 Lundberg J. M., Terenius L., Hökfelt T., Martling C. R., Tatemoto K., Mutt O., Polak J. M., Bloom S. R., Goldstein M.: Neuropeptide Y - like immunoreactivity in peripheral noradrenergic neurons and effectors of NPY on sympathetic function. *Acta Physiol. Scand.*, 1982, **116**, 477.
- 5 Uddman R., Ekblad E., Edvinsson L., Håkanson R., Sundler F.: Neuropeptide Y - like immunoreactivity in perivascular nerve fibers of the guinea-pig. *Regul. Pept.*, 1985, **10**, 243.
- 6 Wahlestedt C., Edvinsson L., Ekblad E., Håkanson R.: Neuropeptide Y potentiates noradrenaline-evoked vasoconstriction: mode of action. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1985, **234**, 735.
- 7 Felten D. L., Felten S. Y., Carlson S. L., Olschowka J. A., Livnat S.: Noradrenergic and peptidergic innervation of lymphoid tissue. *J. Immunol.*, 1985, **135**, 7555.
- 8 Edvinsson L., Håkanson R., Wahlestedt C., Uddman R.: Effects of neuropeptide Y on the cardiovascular system. *Tips*, 1977, **8**, 231.
- 9 Milner P., Crowe R., Burnstock G., Light J. K.: Neuropeptide Y and vasoactive intestinal polypeptide-containing nerves in the intrinsic external urethral sphincter in the areflexic bladder compared to detrusor - sphincter dyssynergia in the patients with spinal cord injury. *J. Urol.*, 1987, **138**, 888.
- 10 Franco-Cereceda A., Nagata M., Svensson T. H., Lundberg J. M.: Differential effects of clonidine and reserpine treatment on neuropeptide Y content in some sympathetically innervated tissues of the guinea-pig. *Eur. J. Pharmacol.*, 1987, **142**, 267.
- 11 Zukowska-Grojec Z., Marks E. S., Haas M.: Neuropeptide Y is a potent vasoconstrictor and a cardiodepressant in rat. *Am. J. Physiol.*, 1987, **253**, H1234.
- 12 Daly R. N., Hieble J. P.: Neuropeptide Y modulates adrenergic neurotransmission by an endothelium dependent mechanism. *Eur. J. Pharmacol.*, 1987, **138**, 445.
- 13 Edvinsson L., Copeland J. R., Emson P. C., Mc Culloch J., Uddman R.: Nerve fibers containing neuropeptide Y in the cerebrovascular bed: immunohistochemistry, radioimmunoassay and vasomotor effects. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 1987, **7**, 45.
- 14 Pernow J., Ohlen A., Hökfelt T., Nilsson O., Ludberg J. M.: Neuropeptide Y: presence in perivascular noradrenergic

neurons and vasoconstriction effect on skeletal muscle blood vessels in experimental animals and man. *Regul. Pept.*, 1987, **19**, 313.

- |  |  |
|--|--|
| <p>* III Cattedra<br/>di Anatomia Umana Normale,<br/>Facoltà di Medicina e Chirurgia,<br/>I Università di Roma «La Sapienza»<br/>(viale Regina Elena 289,<br/>00161 Roma)</p> <p>** Cattedra di Anatomia Umana,<br/>Facoltà di Farmacia,<br/>I Università di Roma «La Sapienza»<br/>(piazzale Aldo Moro 5, 00185 Roma)</p> | <p>VITO D'ANDREA*<br/>MARCO ARTICO**<br/>LORETO CAPUANO*<br/>LIVIO GALLOTTINI*<br/>VINCENZO AMBROGI*</p> |
|--|--|

### Turbe del ritmo cardiaco in corso di infezione da citomegalovirus nei trapianti di rene

INCIDENCE OF ARRHYTHMIAS IN RENAL ALLOGRAFT RECIPIENTS INFECTED WITH CYTOMEGALOVIRUS

A higher incidence of arrhythmias was observed in 16 renal allograft recipients infected with Cytomegalovirus (CMV), as compared to 26 patients who were transplanted during the same period and did not contract the infection (43.7% vs. 3.8%;  $p < 0.01$ ).

There was a highly significant difference in the incidence of sinus tachycardia (37.5% infected vs. 0% not infected;  $p < 0.005$ ), while the incidences of atrial fibrillation and ventricular ectopic beats were not significantly different.

The arrhythmias always appeared in the early phases of the infection and disappeared after a certain period, lasting from one week to months.

It is proposed that arrhythmias arising during CMV infection may be due to a myocardial CMV involvement.

L'infezione da citomegalovirus (CMV) complica frequentemente il decorso clinico dei trapiantati di rene, con un'incidenza generalmente riportata tra il 40 ed il 90%<sup>1, 2</sup>.

La sintomatologia può essere assente o può comparire un quadro di grave infezione febbrile con coinvolgimento, talora mortale, di polmoni, fegato o reni.

L'interessamento miocardico in corso di infezione da CMV nell'adulto è stato riportato solo sporadicamente ed in modo non univoco in letteratura<sup>3, 4</sup>.

Data l'elevata incidenza di turbe del ritmo cardiaco nei nostri pazienti con infezione da CMV, abbiamo voluto valutarne la significatività, ritenendole un possibile indice di localizzazione miocardica dell'infezione. A questo proposito, abbiamo considerato i 42 pazienti sottoposti ad un trapianto di rene nel nostro centro tra l'1.8.'87 e l'1.8.'88. In tutti i casi la terapia immunosoppressiva consisteva in metilprednisolone, azatioprina e ciclosporina.

La diagnosi di infezione da CMV (sia infezione primaria che reinfezione e riattivazione) veniva posta sulla base della sierconversione o di un aumento di almeno 4 volte del titolo anticorpale (metodo RFC)<sup>2</sup>. Con questo criterio, 16