

Modulazione dell'apoptosi indotta da ciclosporina da parte di ACE-inibitori e antagonisti recettoriali dell'angiotensina II

G. Conti¹, A. Amore¹, P. Cirina¹, R. Chimenz², L. Peruzzi¹, B. Gianoglio¹, M.G. Porcellini¹, C. Fede², R. Coppo¹

¹ Divisione Nefrologia e Dialisi, Ospedale Infantile Regina Margherita, Torino

² Servizio di Nefrologia, Istituto di Pediatria Medica Preventiva e Sociale, Università di Messina, Messina

Riassunto

Premessa. Il più importante effetto collaterale della terapia con Ciclosporina (CsA) è la nefrotossicità cronica con progressiva sclerosi. Oltre ad aumentare la produzione di TGF- β e alterare il turnover della matrice extracellulare, la CsA può influenzare direttamente la sopravvivenza cellulare. Abbiamo dimostrato recentemente che la CsA, modulando la forma inducibile dell'enzima NO sintetasi (iNOS), induce apoptosi delle cellule renali attraverso la neo-trascrizione della proteina tumor suppressor p53. Questo lavoro è stato rivolto a valutare la possibilità di modulare farmacologicamente l'apoptosi indotta da CsA. Poiché l'angiotensina II potenzia la tossicità da CsA sono stati utilizzati ACE-inibitori (ACE-I) e Antagonisti Recettoriali dell'Angiotensina II (AT1-RA).

Metodi. Cellule endoteliali immortalizzate incubate con CsA (250, 500, 1000 e 2000 ng/ml) sono state trattate con ACE-I e AT1-RA (800 ng/ml). L'apoptosi è stata valutata in TUNEL, in gel elettroforesi del DNA ed in citofluorimetria con l'espressione della proteina tumor suppressor p53.

Risultati. La CsA determinava un significativo incremento della percentuale di cellule endoteliali apoptotiche rispetto alle condizioni basali ($p < 0.01$). La coincubazione con CsA ed ACE-I e AT1-RA inibiva significativamente il fenomeno con riduzione nel numero di cellule endoteliali apoptotiche ($p < 0.01$). Risultati sovrapponibili erano ottenuti con la valutazione della frammentazione del DNA in gel elettroforesi e la neo-espressione di p53 in FACS ($p < 0.01$).

Conclusioni. ACE-I e AT1-RA riducono l'attività iNOS e l'apoptosi indotta da CsA, con meccanismo potenzialmente favorevole sulla tossicità renale da CsA.

PAROLE CHIAVE: Apoptosi, Ciclosporina, ACE-Inibitori, NFkB

Modulation of cyclosporin A-induced apoptosis by ACE inhibitors and AT1-receptor antagonists

ABSTRACT: Background. Chronic nephrotoxicity with progressive sclerosis and acellularity is the most important side effect of cyclosporin A (CsA). Beside increased production of TGF- β and altered matrix turnover, CsA may directly influence cell survival. We recently demonstrated that CsA by modulating the inducible form of NO synthase induces apoptosis of renal cells by inducing the neo-transcription of the death factor p53 (tumor suppressor protein). The aim of this work was to verify the possibility of modulating CsA-induced apoptosis by drugs interfering with Angiotensin II (Ang II) activity, ACE-inhibitors (ACE-I) and AT1-receptor antagonists (AT1-RA).

Methods. Endothelial cells (EC) conditioned with CsA at concentrations of 250, 500, 1000 and 2000 ng/ml were treated with ACE-I and AT1-RA (800 ng/ml). Apoptosis was evaluated by TUNEL methods and as DNA fragmentation in gel electrophoresis. In addition we considered the expression of the tumor suppressor protein p53 by cytofluorimetry.

Results. CsA at the graded concentrations induced a significant dose-dependent increase in percentage of apoptotic EC in

comparison to unconditioned cells ($p < 0.01$). The coincubation of EC with CsA and ACE-I and AT1-RA significantly blunted the phenomenon ($p < 0.01$). Superimposable results were obtained by evaluating the DNA fragmentation in gel electrophoresis and the neo-expression of p53 in FACS ($p < 0.01$).

Conclusions. *ACE-I and AT1-RA limit the activation of iNOS and the consequent EC apoptosis induced by CsA. A similar inhibitory effect was obtained by blocking NOS activity with L-NAME, a NOS agonist.*

We conclude that ACE-I and AT1-RA may reduce the apoptosis of renal cells induced by CsA, potentially acting as factors slowing down the progressive sclerosis induced by CsA. (Giorn It Nefrol 1999; 16: 540-4)

KEY WORDS: *Apoptosis, Cyclosporin, ACE-inhibitors, NFkB*
