

VI SESSIONE COMUNICAZIONI - IPERTENSIONE - DIABETE SALA GIOVANNETTI

Lunedì, 8 Ottobre 2007 - ore 10.00-11.00

RELAZIONE TRA INFIAMMAZIONE ED IPERTENSIONE NELL'UOMO: EVIDENZE DA STUDI NELLA SINDROME DI BARTTER/GITELMAN

Calò LA, Pagnin E, Schiavo S, Semplicini A, Pessina AC
Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Clinica Medica 4, Università di Padova, Padova

Introduzione. L'infiammazione viene sempre più riconosciuta come svolgere un ruolo critico nell'ipertensione arteriosa e nell'aterosclerosi come evidenziato dall'aumentata espressione e produzione nell'ipertensione arteriosa di mediatori proinfiammatori. La relazione tra infiammazione, Angiotensina II (Ang II) ed il suo signaling ha attratto notevole attenzione ma pochi dati sono disponibili nell'uomo. I pazienti con sindrome di Bartter/Gitelman (BS/GS) non sviluppano ipertensione, rimodellamento cardiovascolare ed aterosclerosi nonostante elevati livelli di Ang II ed attivazione del sistema RAA rendendo quindi BS/GS un utile modello umano per lo studio di meccanismi coinvolti nella regolazione del tono vascolare e del rimodellamento cardiovascolare. Recentemente abbiamo dimostrato che BS/GS hanno livelli di markers proinfiammatori come VCAM ed ICAM, TNF α , Proteina C reattiva, SAA ed IL-6 non differenti da quelli di soggetti sani di controllo (NDT 2006).

Scopi. Questo studio esplora in BS/GS lo stato infiammatorio attraverso la valutazione di alcuni fattori inclusi nel signaling dell'Ang II e coinvolti nell'infiammazione come la Extracellular signal-regulated kinase (ERK), la I κ B (subunità inibitoria di NF κ B) e la p66^{shc}, una proteina adattatoria coinvolta nella risposta allo stress ossidativo.

Pazienti e Metodi. Abbiamo valutato in cellule mononucleate di 12 pazienti BS/GS il livello di ERK fosforilata e di I κ B attraverso il Western Blot e l'espressione genica di p66^{shc} utilizzando la RT-PCR. 10 soggetti sani sono stati usati come gruppo di controllo.

Risultati. Il rapporto ERK fosforilata/ERK e l'espressione genica di p66^{shc} in pazienti con BS/GS non erano differenti rispetto ai controlli (9.8 \pm 9.3 vs 8.4 \pm 12.8 e 0.65 \pm 0.08 vs 0.64 \pm 0.09 rispettivamente) mentre il livello di I κ B era aumentato (1.75 \pm 0.69 vs 0.67 \pm 0.31, p<0.02) indicando quindi una inibizione di NF κ B.

Conclusioni. I risultati di questo studio stressano il ruolo critico svolto da Ang II nel controllo di processi di biologia vascolare, incluso quelli correlati all'infiammazione, quindi supportando un legame tra infiammazione ed ipertensione e, poiché BS/GS sono l'immagine speculare dell'ipertensione arteriosa, sottolineano l'utilità di BS/GS come modello umano utile per lo studio di meccanismi biochimici cellulari che potrebbero essere coinvolti in questo legame.

1

APOPTOSI GLOMERULARE (PODOCITARIA) IN RATTI CON DIABETE DA STREPTOZOTOCINA: RUOLO NELLO SVILUPPO DELLA GLOMERULOPATIA DIABETICA

Pugliese G¹, Menini S¹, Iacobini C¹, Oddi G¹, Ricci C¹, Scipioni A¹, Simonelli P¹, Grattarola M², Pesce C², Pugliese F¹

¹Dipartimento di Scienze Cliniche, Università "La Sapienza", Roma; ²DISTBIMO, Università di Genova, Genova

Introduzione. La perdita di podociti per apoptosi, oltre che un importante fattore di progressione nella nefropatia diabetica o di altra origine, è stata di recente proposta come un evento precoce nella storia naturale della malattia, capace anche di iniziare il danno renale.

Scopi. Questo studio aveva lo scopo di valutare il tasso di apoptosi glomerulare nel diabete sperimentale ed i suoi rapporti con funzione e struttura renali ed espressione di proteine podocitarie e molecole correlate al ciclo cellulare.

Materiali e metodi. Ratti Sprague-Dawley maschi sono stati resi diabetici (D) mediante streptozotocina (60 mg/kg) e sacrificati al tempo 0 e dopo 2, 4 o 6 mesi, insieme ai controlli non diabetici (ND). Oltre al tasso di apoptosi e all'identificazione del tipo cellulare, sono stati determinati glicemia e AGE sierici, contenuto di carbosimetililina (CML), RAGE e galectina-3, proteinuria e albuminuria, morfometria renale ed espressione glomerulare di p21^{CIP1/WAF1}, un inibitore della chinasi ciclina-dipendente che induce arresto di crescita ed ipertrofia, e p53, un fattore pro-apoptico.

Risultati. L'apoptosi cellulare glomerulare era significativamente aumentata nei ratti D vs. ND solo a 4 mesi (0.42 \pm 0.22 vs. 0.16 \pm 0.10, P<0.025) e soprattutto 6 mesi (1.46 \pm 0.44 vs. 0.29 \pm 0.08, P<0.001) di malattia, con i podociti che costituivano il 70% delle cellule apoptotiche. L'aumento dell'apoptosi era preceduta da un aumento dei livelli sierici di AGE, del contenuto glomerulare di CML, RAGE e galectina-3, di proteinuria ed albuminuria e dell'area glomerulare e mesangiale e, in particolare, da una riduzione della densità cellulare glomerulare (6.52 \pm 0.35 vs. 8.04 \pm 0.60 1/mm² x 10³, P<0.001) e dell'espressione glomerulare di proteine podocitarie sinaptopodina (24.7 \pm 2.3 vs. 31.5 \pm 3.1 %, P<0.05) e WT-1 (21.53 \pm 2.07 vs. 26.03 \pm 1.91, P<0.05). L'incremento dell'apoptosi coincideva con lo sviluppo di espansione mesangiale (area frazionale del mesangio: 30.73 \pm 3.12 vs. 18.43 \pm 1.35 %, P<0.001) e sclerosi glomerulare (indice di SG: 0.53 \pm 0.16 vs. 0.32 \pm 0.08, P<0.001) e l'espressione/attivazione differenziale di p21^{CIP1/WAF1} e p53. Infatti, il contenuto glomerulare di p21^{CIP1/WAF1} mostrava un picco a 4 mesi (13.5x) e diminuiva successivamente, mentre i livelli di mRNA di p53 aumentavano a 4 e soprattutto 6 mesi (+65%), quando la presenza di p53 attivata (fosforilata in Ser15) veniva riscontrata nei glomeruli dei ratti D, ma non ND.

Conclusioni. L'apoptosi cellulare glomerulare, soprattutto podocitaria non è un fenomeno precoce in corso della glomerulopatia diabetica sperimentale, in quanto è preceduta dall'ipertrofia glomerulare, che diminuisce la densità cellulare fino al punto da indurre una sequenza di modificazioni ipertrofiche dei podociti, associate con proteinuria e ridotta espressione di proteine podocitarie, che esitano in perdita di podociti per apoptosi, che sembra favorire la progressione dell'iniziale ipertrofia glomerulare verso l'espansione mesangiale e la sclerosi.

3

SINDROME METABOLICA ED INDICE AMBULATORIALE DI RIGIDITÀ ARTERIOSA IN PAZIENTI CON IPERTENSIONE ARTERIOSA ESSENZIALE NON DIABETICI

Falqui V, Leoncini G, Ratto E, Viazzi F, Parodi A, Conti N, Tomolillo C, Deferrari G, Pontremoli R
Dipartimento di Cardio-Nefrologia, Azienda Ospedaliera Universitaria San Martino, Genova

Introduzione. La sindrome metabolica e la rigidità vascolare sono due predittori indipendenti di eventi cardiovascolari nei pazienti con ipertensione arteriosa essenziale.

Scopi. Analizzare la relazione tra sindrome metabolica ed un indice di rigidità vascolare, proposto di recente, ottenuto a partire dai valori registrati durante il monitoraggio pressorio ambulatoriale non invasivo delle 24 ore.

Pazienti e metodi. Sono stati studiati 156 pazienti con ipertensione arteriosa essenziale, non diabetici, non trattati. La sindrome metabolica è stata definita secondo i criteri dell'American Heart Association, utilizzando l'indice di massa corporea al posto della circonferenza dei fianchi. L'indice ambulatoriale di rigidità arteriosa è stato ottenuto a partire dai valori registrati durante il monitoraggio pressorio ambulatoriale non invasivo delle 24 ore ed è stato definito come 1 - il coefficiente angolare della retta di regressione della pressione diastolica in funzione della pressione sistolica.

Risultati. La prevalenza di sindrome metabolica era pari al 23%. I pazienti con sindrome metabolica erano prevalentemente maschi (0.0291) e mostravano maggiori livelli di acido urico (P=0.0005), proteina C reattiva ad alta sensibilità (P=0.0259), creatinina (P=0.0342), colesterolo totale (P=0.0374) e colesterolo LDL (P=0.0350) rispetto ai pazienti senza sindrome metabolica.

L'associazione tra sindrome metabolica e indice ambulatoriale di rigidità arteriosa era statisticamente significativa (ANCOVA, P=0.0439). Inoltre, la prevalenza di aumentato indice ambulatoriale di rigidità arteriosa (terzo tertile, i.e. >=0.550) era maggiore nei pazienti con sindrome metabolica (P=0.0156). Dopo correzione per sesso, acido urico, proteina C reattiva ad alta sensibilità, creatinina, colesterolo totale e colesterolo LDL, la presenza di sindrome metabolica comportava un aumento di più di tre volte del rischio di avere un aumentato indice di rigidità vascolare (P=0.0067).

Conclusioni. La sindrome metabolica è associata ad un aumentato indice ambulatoriale di rigidità arteriosa in pazienti non diabetici con ipertensione arteriosa essenziale. Questi dati sottolineano l'importanza di questo nuovo indice come marcatore di rischio cardiovascolare e possono, in parte, spiegare l'aumentata morbilità e mortalità cardiovascolare osservata nei pazienti ipertesi con sindrome metabolica.

2

IL TRATTAMENTO CRONICO CON Ac-SDKP RIDUCE IL CONTENUTO DI TESSUTO CONNETTIVO A LIVELLO RENALE E CARDIACO NEL RATTO DIABETICO

Castoldi G¹, Di Gioia C², Mancini M², Bombardi C¹, Perego L¹, Travaglini C², Zerbini G³, Stella A¹

¹Clinica Nefrologica, Az. Osp. San Gerardo, DIMEP, Università Milano-Bicocca, Milano; ²Dipartimento di Medicina Sperimentale, Università La Sapienza, Roma; ³Unità di Fisiopatologia Renale del Diabete, Medicina, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano

Introduzione. La somministrazione in acuto di ACE inibitori aumenta la concentrazione plasmatica di N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline (Ac-SDKP), un tetrapeptide fisiologicamente presente nel plasma e idrolizzato dall'ACE, con un potenziale effetto antifibrotico. Abbiamo recentemente dimostrato che Ac-SDKP riduce l'escrezione urinaria di albumina nel ratto diabetico (1). Attualmente sono poco noti gli effetti del tetrapeptide sul tessuto renale e cardiaco del ratto diabetico.

Scopo. Valutare l'effetto della somministrazione cronica di Ac-SDKP a livello del tessuto connettivo renale e cardiaco nel ratto diabetico.

Metodi. A 11 ratti SD è stato indotto diabete mellito con un'iniezione di streptozotocina (75 mg/kg i.p.). A 6 ratti SD (gruppo controllo) si somministrava soluzione tampono. Dopo 2 mesi dallo sviluppo di diabete, a 6 ratti si somministrava Ac-SDKP (1 mg/kg/die s.c.) per due mesi tramite minipompa osmotica. Nei due mesi precedenti l'impianto della minipompa e per tutto il periodo sperimentale si misuravano ogni 15 giorni la pressione arteriosa sistolica (PAS, tail cuff) e la glicemia. Al termine della fase sperimentale i ratti venivano sacrificati, si raccoglieva un campione di plasma per il dosaggio di Ac-SDKP, e si prelevavano i reni ed il cuore. Da entrambi gli organi, fissati in formalina, sono state allestite sezioni in paraffina (spessore 5 μ m - sezione del rene a tutto spessore lungo il suo asse maggiore e sezioni coronariche del ventricolo sinistro). L'esame morfometrico è stato eseguito su sezioni colorate con il Sirius Red. La quantità (frazione di volume) di tessuto connettivo renale (distinto in glomerulare e perivascolare) e cardiaco è stata valutata tramite un sistema automatico di analisi di immagini (MetaMorph. 6.2, Universal Imaging Corporation) ed espressa in valori percentuali.

Risultati. I risultati ottenuti al termine della fase sperimentale sono riportati nella tabella:

	CONTROLLO	DIABETE	DIABETE + Ac-SDKP
PAS (mmHg)	111.9 \pm 4.7	116.3 \pm 7.3	115.0 \pm 8.9
Glicemia (mg/dl)	80.3 \pm 2.9	412.2 \pm 35.1*	358.5 \pm 53.2*
Ac-SDKP(nmol/l)	2.3 \pm 0.1	1.7 \pm 0.2	3.9 \pm 0.4*
Tessuto connettivo (%)			
- glomerulare	5.6 \pm 1.3	10.6 \pm 1.4*	6.5 \pm 0.7
- perivascolare	31.5 \pm 3.7	77.4 \pm 15.4*	35.5 \pm 7.5
- miocardico	0.32 \pm 0.09	0.49 \pm 0.08*	0.18 \pm 0.03§

*p \leq 0.01 vs. gruppo di controllo; ° = p=0.05 vs. controllo; (ANOVA); § p=0.01 vs. diabete

Conclusioni. I nostri risultati dimostrano che la somministrazione cronica di Ac-SDKP in questo modello sperimentale di diabete mellito riduce il contenuto di collagene a livello renale e cardiaco suggerendo un effetto protettivo di Ac-SDKP sullo sviluppo di fibrosi. Questi dati suggeriscono che Ac-SDKP potrebbe intervenire nel ruolo protettivo degli ACE inibitori nei confronti della nefropatia e cardiopatia diabetica.

1. Castoldi G et al. Hypertension 2006; 48: 776.

4