

XVIII SESSIONE COMUNICAZIONI - EMODIALISI DI BASE

SALA MIGONE

Martedì, 9 Ottobre 2007 - ore 16.00-17.30

L'INFIAMMAZIONE IN DIALISI PUÒ INDURRE UNO SBILANCIAMENTO NELLA PRODUZIONE DELLE BONE MORPHOGENETIC PROTEINS (BMPs) 2 E 7 A LIVELLO ENDOTELIALE E FAVORIRE LA PROGRESSIONE DELLA MALATTIA ATROSCLEROTICA: RISULTATI DI UNO STUDIO IN VIVO ED IN VITRODalfino G¹, Porreca S¹, Simone S¹, Zaza G¹, Corciulo R¹, Pietanza S¹, Ciccone M², Schena FP¹, Grandaliano G¹, Pertosa G¹¹U.O.C. di Nefrologia, Dialisi e Trapianto, DETO, Università degli Studi di Bari, Bari;²Divisione di Cardiologia, Università degli Studi di Bari, Bari

Introduzione. La microinfiammazione nell'uremia cronica può favorire i fenomeni di calcificazione vascolare (CV) giustificando il più alto rischio di mortalità cardiovascolare osservata nei pazienti in dialisi. Esistono numerose evidenze sul ruolo della BMP-2 e della BMP-7 nei processi di CV, ma resta da chiarire quale sia il ruolo dell'uremia e dello stato di infiammazione cronica nella regolazione dell'espressione di queste proteine a livello endoteliale.

Scopi. Lo scopo di questo studio è stato di analizzare la relazione tra BMP-2 e BMP-7, la Proteina C Reattiva ad alta sensibilità (PCRhs) e la Fetuina-A nella progressione del danno aterosclerotico, valutato come spessore intima-media carotideo (IMTc), in una popolazione di uremici cronici (UC).

Pazienti e Metodi. Lo studio è stato condotto su 50 UC, in emodialisi (ED) [25 pz, età anagrafica media 60.5 anni; età dialitica media 49.5 mesi] o in peritoneodialisi (PD) [25 pz, età anagrafica media 59.1 anni; età dialitica media 45.4 mesi]. BMP-2 (R&D e RayBiotech, rispettivamente) e Fetuina-A (Biovendor) sono state valutate con metodica ELISA. Gli effetti dello stato infiammatorio e/o ossidativo sulla espressione delle BMPs sono stati analizzati *in vitro* su una linea di cellule endoteliali immortalizzate (Eahy926) mediante Real-time PCR e microscopia confocale.

Risultati. I livelli sierici di BMP-2 sono risultati significativamente più alti nei pz in ED rispetto ai pz in PD e ai controlli normali [C] [C 8.1±0.4; ED 65.1±13; PD 28.5±2.4; pg/ml; p<0.002]. Al contrario, le concentrazioni sieriche di BMP-7 [C 451.6±59.9; HD 36.6±6.1; PD 295.6±60.1 pg/ml; p<0.0001] e di Fetuina-A [C 375.0±78.2; HD 243.5±42.0; PD 290.7±58.4 µg/ml; p<0.0001] erano significativamente più basse nei pz in ED rispetto ai pz in PD e ai C. I livelli sierici di BMP-2 erano inversamente correlati con quelli della BMP-7 (r=-0.4; p<0.01) e della Fetuina-A (r=-0.38; p<0.02) e direttamente correlati con quelli della PCRhs (r=0.3; p<0.01) e con i valori dell'IMTc (r=0.4; p=0.003). Al contrario, le concentrazioni sieriche di BMP-7 correlavano direttamente con i livelli di Fetuina-A (r=0.35; p=0.04) ed erano inversamente associate con quelli della PCRhs (r=-0.7; p<0.0001) e con i valori dell'IMTc (r=-0.6; p<0.0001). In un modello di regressione multipla, i valori di IMTc sono risultati indipendentemente correlati con la BMP-2, la BMP-7 e la PCRhs. Infine, *in vitro* è stato rilevato un incremento nella espressione genica e proteica di BMP-2 ed una riduzione della BMP-7 da parte delle cellule Eahy926 poste in incubazione con diversi stimoli infiammatori ed ossidativi (IL-1β e TNF-α, 100U/ml, H₂O₂, 400µM).

Conclusioni. Uno stato di infiammazione e/o di stress ossidativo si associa ad un decremento delle concentrazioni sieriche di Fetuina-A ed indurrebbe a livello endoteliale uno sbilanciamento nella sintesi delle BMPs, favorendo i meccanismi alla base della progressione dell'aterosclerosi nei pazienti in dialisi.

1

RELAZIONE TRA FLUSSO DELLA FISTOLA ARTEROVENOSA E PORTATA CARDIACA NEI PAZIENTI IN EMODIALISILomonte C¹, Vernagione L², Casucci F¹, Antonelli M¹, Losurdo N¹, Marmiro G¹, Giannarola B¹, Basile C¹¹UOC di Nefrologia e Dialisi, Ospedale Generale Regionale Miulli, Acquaviva delle Fonti, Bari; ²UOC di Nefrologia e Dialisi, Ospedale di Manduria, Taranto

Introduzione. I programmi di sorveglianza della fistola arterovenosa (FAV) con Transonic consentono di studiare, oltre al flusso (Qa) della FAV, alcuni parametri emodinamici come la portata cardiaca (CO), l'indice cardiaco (CI) e il rapporto Qa/CO (ricircolo cardiopolmonare - CPR -). Scopo dello studio è stato quello di valutare la relazione tra Qa della FAV e CO nella nostra popolazione dialitica.

Materiale e metodi. La misura del Qa, CO, CI e CPR è stata effettuata con Transonic; per ciascun parametro è stato adoperato il valore medio di due misurazioni consecutive; per differenze > 10% è stata eseguita una terza misurazione. Sono stati arruolati 80 pazienti (37 femmine, 43 maschi) con FAV, di cui 56 radio-cefaliche distali, 19 prossimali e 5 middle-arm. L'età media era 60 ± 10 anni, l'età dialitica 79.6 ± 54.9 mesi e la durata dell'accesso vascolare 64.8 ± 43.2 mesi. Nove pazienti erano affetti da insufficienza cardiaca (classe NYHA III o IV).

Risultati. I valori medi dei parametri studiati sono stati: CO 6.0 ± 1.4 l/min (range 3.6 - 9.8), CI 3.7 ± 0.9 l/min/m² (range 2.0 - 6.1), CPR 17.0 ± 6.1% (range 6.6 - 29.5). I pazienti sono stati stratificati in base ad un valore di cut-off per il CPR di 16.99 (valore della mediana) in due gruppi [A: CPR > 16.99, n = 40 e B: CPR < 16.99, n = 40]. I due gruppi differivano significativamente per il Qa [A: 1522.0 ± 450.0 vs B: 734.4 ± 277.0 ml/min; p < 0.001] e per il CPR [A: 22.2 ± 3.8 vs B: 11.6 ± 3.1%; p < 0.001]. Non si riscontrava invece alcuna differenza per quanto riguarda il CO [A: 6.7 ± 1.4 vs B: 6.2 ± 1.2 l/min] e CI [A: 3.8 ± 0.9 vs B: 3.5 ± 0.8 l/min/m²]. La relazione tra Qa e CO (o CI) non è di tipo lineare e sembra descritta meglio da una curva polinomiale di terzo grado [y=0.578x³ - 2.392x² + 4.359x + 3.862, R² = 0.43]. Secondo i criteri indicati dalle Vascular Access Society Guidelines (FAV ad alta portata sono quelle con Qa di 1000 - 1500 ml/min e CPR > 20%) il Qa era > 1000 ml/min nel 50% (40/80) e > 1500 nel 20% (16/80) dei casi; il CPR era > 20% nel 27.5% (22/80) dei casi.

Conclusioni. Il rischio di insufficienza cardiaca ad alta portata, definito da un CPR > 20%, appare sovrastimato (27.5% dei casi), se rapportato all'evidenza clinica (solo 9 pazienti - 11.2% - presentavano insufficienza cardiaca). Pertanto, ipotizziamo l'esistenza di meccanismi di compenso che limitano gli effetti del Qa della FAV sul CO.

3

RISULTATI DELL'ECOCARDIOGRAFIA TRANSESOFOGEEA (TEE) E TRANSTORACICA (TTE) IN PAZIENTI IN EMODIALISI (HD) SENZA CARDIOPATIE CLINICAMENTE EVIDENTIDavid S¹, Rizzo A², Pastori P², Callegari S², Cantoni S², Marani G², Moruzzi P², Schito F³¹Nefrologia, Dipartimento di Clinica Med. e Nefrologia, Università di Parma, Parma;²UO di Cardiologia, Ospedale di Fidenza, Parma; ³Dialisi, AUSL di Parma, Parma

Introduzione. I pazienti in HD hanno un elevato rischio di malattie cardiovascolari (CVD) indipendente da età, sesso e nefropatia primitiva. È descritta un'alta prevalenza di calcificazioni valvolari, ipertrofia del ventricolo sin. (VS) e placche aterosclerotiche aortiche (AoP), possibili fonte di emboli cerebrali e periferici. Pochi studi descrivono i risultati dell'applicazione della TTE e TEE nei pazienti senza CVD clinicamente evidenti.

Scopi. In questo studio trasversale abbiamo valutato l'incidenza e la gravità delle calcificazioni valvolari (CaV), della rigidità aortica (Ao) e delle AoP in pazienti in HD senza evidenti segni di CVD. È stata inoltre valutata l'associazione con fattori tradizionali e non, di rischio per CVD.

Pazienti e metodi. Sono stati considerati pazienti in HD cronica non malnutriti e in condizioni cliniche stabili. Criteri di esclusione: storia di tachiaritmia atriale o ictus, valvulopatie gravi, disfunzione sistolica del VS, terapia anticoagulante, malattie infiammatorie croniche, presenza di cateteri venosi per HD. TEE e TTE sono state eseguite il giorno dopo la 2° HD settimanale. Il grado di AoP è stato valutato con la classificazione di Montgomery. L'indice di rigidità Ao (AoSI) è stato calcolato a livello dell'Ao ascendente e discendente. Sono stati valutati i dati ematochimici degli ultimi 2 mesi relativi a es. generali, PTH, Colesterolo e LDL, PCR, coagulazione.

Risultati. 21 pazienti (16 maschi) tra 43 selezionati hanno accettato di partecipare allo studio. Età media 56±13 a, età dialitica 88.5±74.4 mesi. Tre erano diabetici e 18 ipertesi. Il colesterolo totale e LDL erano nei limiti in tutti. La funzionalità sistolica del VS era conservata (FE 59%), senza dilatazione (DTD 4.6±0.3 cm). LVMI=160±41g/m². In 20/21 paz. è stato trovato almeno 1 AoP, nel 33.3% dei casi di tipo complesso (spessore>5 mm, presenza di ulcerazione o componente mobile). In 10 paz. le AoP erano situate nell'arco Ao, con rischio di embolia cerebrale, e in 2 c'era una componente mobile. 14/21 paz. avevano CaV dell'Ao o della mitrale (MAC). L'AoSI era aumentato in tutti. Lo spessore delle MAC si correlava con l'età dialitica (p<0.004), con lo spessore di AoP (p<0.004) e col prodotto CaP (CaxP) (p<0.03).

Conclusioni. Nei pazienti in HD è stata trovata una elevata prevalenza di aterosclerosi Ao grave, pur in assenza di evidenti CVD. La gravità delle AoP è direttamente correlata all'età dialitica e anagrafica, al CaxP e al fibrinogeno, ma non alla colesterolemia. È di rilievo l'associazione tra MAC e spessore delle AoP. La TEE può quindi evidenziare condizioni di rischio tromboembolico insospettite e dovrebbe essere eseguita più estesamente nei pazienti a rischio per età, rilevanti MAC alla TTE e CaxP elevato, anche in assenza di dislipidemia.

2

MORTALITÀ E MORBILITÀ IN PAZIENTI IN EMODIALISI ARITMICI E NON ARITMICI

Bernardi LE, Bonforte G, Colantonio G, Martinelli D, Minoretto C, Mangano S, Padovese P, Tettamanzi G, Melfa G, D'Amico M, Giura C, Grillo C

Nefrologia e Dialisi, Ospedale Sant'Anna, Como

Introduzione. Mentre la mortalità cardiovascolare è stata studiata in maniera approfondita nei pazienti in emodialisi, pochi dati sono disponibili sulla variazione della morbilità e mortalità dopo comparsa di eventi aritmici. Allo scopo di valutare ogni eventuale relazione tra la comparsa di aritmia e la mortalità e morbilità, (numero di ricoveri/paziente/anno (nRP/a), giorni di ricovero/paziente/anno (gRP/a), e degenza media (DM)), abbiamo effettuato uno studio storico prospettico dei nostri dati di Registro.

Pazienti e Metodi. Dal 1/3/1990 al 31/8/2005 abbiamo trattato con emodialisi 901 pazienti e abbiamo selezionato per assenza di pregressa aritmia e per completezza dei dati 381 pazienti, per poter studiare l'eventuale comparsa di aritmia e come questa incida sulla mortalità.

Dal 1/1/1997 il nostro database è diventato completo anche per i dati di ospedalizzazione, disponendo così del numero di ricoveri, numero di giorni di ricovero, relative cause di ricovero compresa l'aritmia in 669 pazienti, allo scopo di studiare l'eventuale differenza di morbilità tra pazienti aritmici e non aritmici. I ricoveri sono stati raggruppati in base alla causa seguente: aritmiche, infettive, cardiologiche, chirurgiche, emorragiche, da sovraccarico, ortopediche, altre. Per ciascun anno di follow-up abbiamo pure considerato nRP/a, gRP/a, DM e l'andamento tendenziale per le cause di ricovero. Durante il follow-up ciascun paziente è stato studiato con elettrocardiogramma almeno una volta all'anno e quando richiesto dalle condizioni cliniche. L'analisi statistica di sopravvivenza per dati right censored è stata effettuata con il modello parametrico logistico e di Weibull e con il modello di Cox.

Risultati. Durante il follow up 87/381 pazienti (22.8%) sono diventati aritmici dopo 224±16.9 mesi dall'inizio della dialisi, mentre 294/381 pazienti (77.2%) mantenevano un ritmo sinusale durante tutto il tempo di follow-up. I pazienti aritmici presentavano un maggior rischio globale di mortalità (RR1.28) rispetto ai pazienti in ritmo sinusale (RR=1); la mortalità legata a comorbilità cardiovascolari era pure significativa negli aritmici (p=5.55e-15).

L'impatto delle comorbilità sul tasso di ricovero in entrambe le popolazioni è rappresentato nella tabella sottostante. Non abbiamo riscontrato alcuna differenza nelle cause di ricovero (infettive, cardiologiche, chirurgiche, emorragiche, da sovraccarico, ortopediche, altre) tra i due gruppi.

Anni 1997-2005	Aritmia	Ritmo sinusale
N. Pazienti	70	599
N. Ricoveri	582	2920
N. Giorni di Ricovero	5641	32470
NRP/a	0.92	0.54
GRP/a	8.95	6.02
DM	9.69	11.12

Conclusioni. La comparsa di aritmia aumenta la mortalità. La presenza di aritmia condiziona la morbilità aumentando il numero di ricoveri ed i giorni di ricovero/pz/anno senza diversificare significativamente la degenza media rispetto alla popolazione non aritmica; l'aritmia sembra essere un utile marcatore di rischio nei pazienti dializzati.

4

UROTENSINA II E RISCHIO ATEROGENO NEI PAZIENTI IN EMODIALISI

Gregorini M¹, Rampino T¹, Panichi V², Piotti G¹, Balzano CT¹, Bedino G¹, Gabanti E¹, Esposito P¹, Roscini E¹, Soccio G¹, Dal Canton A¹
¹Unità di Nefrologia Dialisi e Trapianto, Università e IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia; ²Dipartimento di Medicina Interna e Neuroscienze, Università di Pisa, Pisa

Introduzione. L'Urotensina II (UII) è un peptide vasoattivo rilasciato dalle cellule endoteliali, i cui effetti biologici sono ancora poco conosciuti. In uno studio precedente abbiamo dimostrato che la produzione di UII da parte di PBMC di pazienti in emodialisi (HD) è aumentata e che il siero di HD induce il rilascio di UII da parte di cellule endoteliali (HEC). Inoltre l'UII ricombinante e l'UII presente nel siero di HD inducono proliferazione e migrazione di cellule vascolari muscolari lisce (VSMC). Questi risultati, insieme al riscontro di UII nei macrofagi e nelle cellule endoteliali della placca aterosclerotica suggeriscono un ruolo di UII nella patogenesi della aterosclerosi in HD.

Scopo. In questo studio abbiamo valutato *in vivo* la relazione tra livelli sierici di UII e rischio cardiovascolare nei pazienti HD e *in vitro* gli effetti di UII sul rilascio di citochine fibrogeniche da parte di HEC e VSMC.

Metodi. Lo studio *in vivo* era condotto su 220 pazienti in trattamento emodialitico extracorporeo da 8 a 240 mesi (mediana 45). I livelli sierici di UII erano misurati mediante EIA all'inizio della sessione dialitica del periodo interdialitico breve. Lo score di rischio cardiovascolare era calcolato includendo, oltre ai fattori di rischio tradizionale (età, ipertensione, diabete, colesterolo, sesso, fumo, eventi cardiovascolari), fattori di rischio specifici per HD (età dialitica, nPCR, KT/V, PTH, CaxP, fosfatemia, albumina sierica). Nello studio *in vitro* HEC e VSMC erano coltivate in presenza ed assenza di UII (10⁻⁶ M) per 12 e 24 h. Il rilascio di Fibroblast Growth Factor (FGF), Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), Angiotensina II (AII), Platelet Derived Growth Factor BB (PDGF BB) ed interleuchine (IL-1, IL-2, IL-10, IL-1) era misurato nel surnatante, mediante protein arrays.

Risultati. I livelli sierici di UII erano direttamente correlati con lo score di rischio cardiovascolare (r=0,23, p<0,05). Nei pazienti sottoposti a ricostruzione di FAV in seguito a trombosi della prima FAV i livelli sierici di UII erano più alti che nei pazienti non sottoposti a reintervento (11.4±1.2 vs 8.6±0.4 ng/ml, p<0.001). In HEC UII stimolava il rilascio di FGF da 83.7±4.3 (non stimolate) a 477.3±4.7 pg/ml (p<0.001), di AII da 188.2±25.8 a 385.2±29.6 pg/ml (p<0.001), di IL-1 da 6.6±0.4 a 9.4±0.1 pg/ml (p<0.01), e di VEGF da 1447.0±86.6 a 3038.0±103.1 pg/ml (p<0.001). In VSMC UII stimolava il rilascio di FGF da 72.1±2.3 a 88.4±3.9 pg/ml (p<0.05) e di IL-1 da 2.8±0.4 a 6.1±0.3 pg/ml (p<0.05). Al contrario, UII inibiva il rilascio di IL-6 in HEC da 86.8±2.9 a 53.1±3.4 pg/ml (p<0.01), e il rilascio di PDGF BB in VSMC da 17.23±2.9 a 4.5±0.4 (p<0.05). UII non modificava il rilascio di IL-10 e IL-12.

Conclusioni. Nei pazienti in HD alti livelli di UII sono associati ad alto rischio cardiovascolare. UII modula il rilascio di fattori angiogenetici e citochine fibrogeniche nelle cellule endoteliali e cellule vascolari muscolari lisce e può agire sul trofismo della parete vascolare con meccanismo autocrino e paracrino. Resta da stabilire se UII è indotta nella aterosclerosi per proteggere la parete vascolare oppure è un fattore aterogeno.

5

Tabella 1. Caratteristiche cliniche dei pazienti

Characteristics	Terile of Bone Mineral Density T-score			P-Trend
	Terile 1 (<-1.75) N=37	Terile 2 (-1.74 to 0.47) N=38	Terile 3 (≥ 0.48) N=35	
Età, anni	64.8 (12.1)	56.3 (12.6)	46.7 (13.2)	<0.001
% Maschi	56.8	50.0	40.0	0.158
% Neri	29.7	42.1	62.9	0.006
BMI, kg/m ²	25.3 (4.8)	25.1 (4.3)	27.3 (5.9)	0.109
Fumo di sigarette %	14.3	21.1	29.4	0.131
Sevelamer %	52.8	47.4	51.4	0.906
Sali di calcio %	59.5	60.5	40.0	0.104
Statine %	30.6	52.6	28.6	0.879
Beta-bloccanti, %	41.7	52.6	45.7	0.727
ACE-I/ARB, %	46.0	47.4	57.1	0.347
SBP, mmHg	144.6 (27.5)	146.4 (26.3)	149.2 (24.7)	0.454
DBP, mmHg	72.5 (15.6)	79.6 (13.9)	81.0 (13.1)	0.013
Diabete %	67.6	57.9	22.9	0.001
Emoglobina, mg/dl	12.5 (1.3)	12.7 (1.3)	12.4 (1.4)	0.859
Albumina mg/dl	3.75 (0.34)	3.72 (0.34)	3.91 (0.25)	0.038
iPTH, pg/dl	266 (182, 443)	315 (200, 673)	384 (211, 1081)	0.211
Calcio mg/dl	9.1 (0.6)	9.1 (0.7)	8.9 (0.9)	0.485
Fosforo mg/dl	4.8 (1.7)	4.8 (1.3)	5.4 (1.4)	0.066
Prodotto Calcio-Fosforo	43.4 (15.9)	43.4 (13.0)	48.3 (12.3)	0.140
Storia di malattia aterosclerotica, %	35.1	52.6	37.1	0.842
Età dialitica ≥5 anni, %	10.8	18.2	28.6	0.060

Tabella 2. Prevalenza e adjusted odds ratios per valori di PWV ≥9 nei diversi terzili di BMD (†Aggiustata per età, età dialitica, sesso, razza, indice di massa corporea e diabete mellito)

Caratteristica	BMD media, mg/cc			P
	<128	128 - 183	≥184	
% pazienti con PWV ≥9 m/sec	76.5%	61.8%	32.4%	<0.001
Adjusted† Odds ratio (95% CI)	1.00 (ref)	0.38 (0.11, 1.36)	0.22 (0.04, 1.12)	0.048
T-scores				
% pazienti con PWV ≥9 m/sec	<-1.74	-1.74 - 0.47	≥0.48	<0.001
Adjusted† Odds ratio (95% CI)	1.00 (ref)	0.39 (0.11, 1.38)	0.21 (0.04, 1.04)	0.040

6

RIGIDITÀ ARTERIOSA E DENSITÀ MINERALE OSSEA SONO INVERSAMENTE ASSOCIATI NEI PAZIENTI IN TRATTAMENTO DIALITICO CRONICO

Bellasi A^{1,5}, Ferramosca E^{2,3}, Muntner P³, Block GA⁴, Raggi P⁵
¹Cattedra di Nefrologia, Università di Milano, Ospedale San Paolo, Milano; ²U.O. di Nefrologia, Ospedale Malpighi, Bologna; ³Department of Epidemiology, Tulane University, New Orleans, LA, USA; ⁴Denver Nephrology, PC, Denver, CO, USA; ⁵Division of Cardiology and Department of Radiology, Emory University School of Medicine, Atlanta, GA, USA

Introduzione. Le anomalie del metabolismo osseo nei pazienti in dialisi (CKD stadio 5) potrebbero contribuire alla elevata incidenza delle malattie cardiovascolari (CV) nei pazienti in emodialisi (ED). Le tecniche di diagnostica per immagini non invasive possono inoltre aiutare a diagnosticare sia la presenza di alterazioni cardiovascolari che della mineralizzazione ossea.

Scopo. Verificare se esiste un'associazione tra Pulse Wave Velocity (PWV) un indice di rigidità arteriosa, e la densità minerale ossea (BMD).

Pazienti e metodi. In 110 pazienti in trattamento dialitico cronico afferenti a due centri dialisi Nord Americani (New Orleans, LA; Denver, CO) sono state misurate BMD e T-score mediante quantitative tomography (QCT) e PWV mediante applanation tonometry.

Risultati. Dopo stratificazione in terzili di BMD della coorte studiata, età, razza bianca, diabete mellito, bassi valori di pressione arteriosa diastolica e di albumina sierica sono risultati associati a bassi valori di BMD (p<0.05 per ogni variabile) (Tab. I). Inoltre, bassi valori di BMD e T-score risultavano significativamente associati a valori di PWV elevati (>9 m/sec) (Tab. II). Tale relazione restava significativa anche dopo aggiustamento per età, età dialitica, sesso, razza, indice di massa corporea (BMI) e diabete mellito (p-trend<0.05).

Conclusioni. L'associazione tra bassi valori di BMD e alti di PWV supporta la nozione di una stretta associazione tra il sistema CV e il tessuto osseo in pazienti in ED.

(segue)

ATTIVAZIONE DEL COMPLEMENTO MEDIATA DALLA PENTRAXINA-3 NELLA STENOSI DELLA FISTOLA ARTERO-VENOSA (FAV) IN EMODIALISI (ED) E MODULAZIONE CON SIMVASTATINA

Castellano G, Dalfino G, Di Vittorio A, Verrieri R, Marrone D, Simone S, Capobianco C, Schena FP, Pertosa G, Grandaliano G
 U.O.C. di Nefrologia, Dialisi e Trapianto, DETO, Università degli Studi di Bari, Bari

Introduzione. Le pentraxine rappresentano un elemento chiave del braccio umorale dell'immunità innata. Recentemente è stata caratterizzata una nuova famiglia di pentraxine lunghe, differenti dalla proteina C reattiva (PCR), il cui prototipo è la PTX3. PTX3 è prodotta da cellule dendritiche ed endoteliali e può promuovere localmente processi di aterogenesi ed aterotrombosi. La stenosi della FAV rappresenta la prima causa di morbidità ed ospedalizzazione dei pazienti in ED e risulta istologicamente simile alle lesioni aterosclerotiche. Recentemente, le statine hanno mostrato attività immunomodulante sulla sintesi di diverse proteine coinvolte nei processi infiammatori.

Scopi. Valutare il possibile coinvolgimento di PTX3 nel fallimento della FAV e l'eventuale effetto della simvastatina sulla sintesi di PTX3 da parte di cellule endoteliali in cultura.

Pazienti e Metodi. Sono stati analizzati con microscopia confocale (Ab anti-PTX3, CD34, C5b-9) frammenti venosi di FAV provenienti da 8 pazienti (età media 53aa, range 30-76) sottoposti ad intervento per trombosi della FAV, confrontandoli con frammenti di FAV nativa. Si è poi valutata l'espressione genica di PTX3 mediante RT-PCR in cellule endoteliali di aorta (Eahy.926) pre-incubate con simvastatina per 24h (1µM) e successivamente stimolate con TNF-α 200 U/ml o IL-1β 200 U/ml per 24 h.

Risultati. L'analisi di espressione proteica, mediante microscopia confocale, ha mostrato una scarsa presenza di PTX3 nella FAV nativa (intensità media di fluorescenza (MFI) 6.3±1.9), con rare cellule endoteliali CD34⁺/PTX3⁺. Al contrario, l'analisi condotta sulle FAV stenotiche mostrava un'aumentata espressione di PTX3 (MFI 14.7±5.4) con localizzazione prevalente su cellule endoteliali CD34⁺, indicante un'aumentata sintesi di PTX3 da parte dell'endotelio attivato. L'analisi dei depositi del C5b-9 ha mostrato un aumento dei depositi del complesso terminale del complemento nelle FAV stenotiche con chiara co-localizzazione su cellule endoteliali PTX3⁺. Studi *in vitro* su cellule endoteliali hanno mostrato un'aumentata sintesi di PTX3 sotto stimoli pro-infiammatori (TNF-α 8.4 vs. basale 4.1 MFI PTX3/GAPDH ratio, n=5; p<0.05). Al contrario, il pre-trattamento delle cellule endoteliali con simvastatina significativamente limitava la capacità di TNF-α o IL-1β di aumentare l'espressione genica di PTX3 (TNF-α 8.4 vs. SIN+TNF-α 4.5 MFI PTX3/GAPDH ratio, n=3; p<0.05).

Conclusioni. Questo studio dimostra una diffusa presenza di PTX3 a livello delle FAV fallite. PTX3 è rilevabile soprattutto a livello delle cellule endoteliali, dove attiva localmente la via classica del complemento e potrebbe rivestire un ruolo determinante nel fallimento della FAV. I nostri dati indicano, inoltre, nella simvastatina un possibile nuovo strumento terapeutico per contrastare il danno endoteliale amplificato dalla sintesi locale di PTX3, rallentando i processi di trombosi e sclerosi accelerata nei pazienti con segni di malfunzionamento della FAV.

7

INTERLEUCHINA 4 (IL-4) E CALCIFICAZIONI VASCOLARI NEGLI UREMICI CRONICI IN EMODIALISI

Dell'Oglio MP, Zaza G, Dallino G, Porreca S, Schena FP, Grandaliano G, Pertosa G
 Unità di Nefrologia, Dialisi e Trapianto, Dipartimento dell'Emergenza e dei Trapianti di Organo, Università di Bari, Bari

Introduzione. L'aterosclerosi è una malattia sistemica a genesi multifattoriale determinata da un'alterazione della parete vascolare la cui progressione è significativamente accelerata nei pazienti emodializzati. Recentemente, numerosi studi hanno suggerito un ruolo per le calcificazioni vascolari nello sviluppo delle lesioni aterosclerotiche in questa coorte di pazienti. In tale processo l'endotelio vascolare ricopre un ruolo chiave mediando gli effetti del milieu pro-infiammatorio, caratteristico dei pazienti emodializzati, e le altre cellule della parete vascolare. Recenti evidenze suggeriscono un possibile ruolo dell'IL-4 nella patogenesi e progressione delle lesioni aterosclerotiche.

Scopi. Valutare le differenze nel livello di espressione genica dell'IL-4 nei pazienti con insufficienza renale cronica in trattamento conservativo (IRC) rispetto a quelli in emodialisi (ED) e peritoneodialisi (PD). Definire *in vitro* il ruolo dell'IL-4 nella modulazione dei meccanismi molecolari responsabili del processo di calcificazione vascolare.

Pazienti e Metodi. Nel nostro studio sono stati arruolati 10 pazienti con IRC, 20 pazienti in trattamento dialitico (n: 10 PD e n: 10 ED) e 5 soggetti normali. Per tutti i soggetti inseriti nello studio è stato estratto l'RNA da linfociti periferici (PBMC) ed è stato valutato il livello di espressione genica dell'IL-4 mediante RT-PCR. Inoltre, abbiamo valutato *in vitro* l'effetto dell'IL-4 sull'espressione di due proteine coinvolte nella patogenesi delle calcificazioni vascolari, le bone morphogenetic protein (BMP)-2 e -4. A tal fine, cellule endoteliali umane immortalizzate (Eahy926) sono state incubate con l'IL-4 (10 ng/ml) per 3, 6, 12 e 24h. A ciascun tempo l'espressione genica di BMP-2 e -4 è stata valutata mediante RT-PCR.

Risultati. I livelli di espressione genica dell'IL-4 nei PBMC dei pazienti in ED risultavano essere significativamente più alti rispetto a quelli riscontrati nei pazienti con IRC (IRC 0.34 ± 0.11 versus ED 0.51 ± 0.15 ; $p < 0.01$). Non vi erano, invece, differenze significative tra soggetti normali (0.32 ± 0.12) e pazienti con IRC e tra questi ed i pazienti in PD (0.29 ± 0.10 ; $p < 0.4$). L'analisi del modello *in vitro* mostrava che l'IL-4 determinava un significativo aumento tempo-dipendente dell'espressione genica della BMP-2 (Basale 0.16 ± 0.08 ; 3h 0.26 ± 0.05 ; 6h 0.42 ± 0.04 ; 12h 0.45 ± 0.20 ; 24h 0.18 ± 0.10 ; $p < 0.01$). Anche l'espressione genica della BMP-4 era significativamente indotta dall'IL-4, sebbene a tempi più tardivi (Basale 0.97 ± 0.25 ; 12h 1.62 ± 0.57 ; 24h 1.47 ± 0.3 ; $p < 0.01$).

Conclusioni. I risultati del nostro studio dimostrano, per la prima volta, un possibile ruolo dell'IL-4 nell'attivazione endoteliale nei pazienti in trattamento emodialitico sostitutivo, individuando un potenziale legame tra le alterazioni del sistema immune di questi pazienti e lo sviluppo di calcificazioni vascolari.

8

L'APPROCCIO DI STEWART-FIGGE (SF) NELLA VALUTAZIONE DELL'EQUILIBRIO ACIDO-BASE (EAB) NEL PAZIENTE IN EMODIALISI (HD) CRONICA È UNO STRUMENTO UTILE?

Flachi M, Mancini E, Cannarile C, Facchini MG, Zucchelli A, Santoro A
 Unità Operativa Complessa di Nefrologia, Dialisi, Ipertensione, Policlinico S. Orsola-Malpighi, Bologna

Introduzione. Vi sono crescenti segnalazioni in letteratura sull'uso dei parametri di SF come metodo di valutazione dell'EAB alternativo a quello tradizionale basato sull'uso del pH, definito dall'equazione di Henderson-Hasselbach (HH), eventualmente integrato dal gap anionico (GA). L'equazione di SF si fonda sull'analisi di tre variabili: concentrazione di acidi deboli, pCO_2 e Strong Ion Difference (SID), da cui si calcola poi lo Strong Ion Gap (SIG).

Scopo. Noi abbiamo voluto confrontare questi due approcci, quello tradizionale e quello di SF, nella interpretazione dei disturbi dell'EAB in pazienti in HD cronica.

Pazienti e metodi. Abbiamo studiato 82 pazienti (50 M, 32 F; età 67.8 ± 15.2 anni) in HD trisettimale da almeno 6 mesi con: bicarbonato dialisi in 61 pazienti, bicarbonato dialisi priva di acetato in 2, AFB in 4, emodiafiltrazione on-line in 15.

In ogni paziente abbiamo misurato a inizio e fine (ID, FD) di una dialisi di studio: Na^+ , K^+ , Ca^{++} , Mg^{++} , Cl^- , acido lattico, fosforo, albumina, HCO_3^- , pH, pCO_2 , BE. Sono stati poi calcolati il GA e i parametri alternativi SID e SIG.

Risultati. Facendo riferimento agli intervalli di normalità per il pH ($7.35-7.45$), per GA ($8-16$ mEq/L) e per SIG ($6-10$ mEq/L), a ID risultavano in condizione di neutralità il 51.2% dei pazienti in base al pH, l'11% in base al GA e il 24.4% in base al SIG. Acidosi era presente nel 42.7%, 87.8% e 65.8% dei pazienti rispettivamente usando pH, GA e SIG.

La correlazione lineare fra pH e SIG presentava un basso R^2 (0.06), e peggiorava ulteriormente quando eseguita sui dati di FD ($R^2 = 0.158$). Analogamente, le variazioni del pH e del SIG fra ID e FD non risultavano significativamente correlate ($R^2 = 0.195$, $p = NS$). Vi era una buona correlazione fra gap anionico e SIG a ID ($R^2 = 0.625$, $p < 0.05$) ma non a FD ($R^2 = 0.244$).

I valori di SIG non risultavano quindi predittivi dello stato acido-base dei pazienti, essendovi una grande variabilità interpaziente a fronte di uguali valori di pH. I migliori risultati ottenuti correlando AG e SIG potrebbero conseguire al comportamento non univoco di AG che, in presenza di acidosi, è più spesso aumentato ma a volte normale. Questi risultati discordanti possono giustificarsi tenendo conto che, mentre HH deriva il pH solo da due variabili, pCO_2 e HCO_3^- e il GA considera Na^+ , K^+ , Cl^- e HCO_3^- , l'approccio di SF prende invece in considerazione anche gli acidi deboli Lattato, Albumina e Fosfati.

Conclusioni. Nel paziente uremico in HD cronica e clinicamente stabile, l'impiego delle equazioni di SF non sembra fornire un aiuto rilevante nel riconoscere agevolmente le condizioni di acidosi, mentre l'approccio tradizionale tramite HH si conferma di maggiore immediatezza e praticità. Viceversa, nel paziente critico, e in particolare nell'acuto, dato il ruolo non trascurabile degli acidi deboli, albumina e lattato soprattutto, SF potrebbe dimostrarsi di maggior validità sia per una analisi eziopatogenetica sia per l'approccio terapeutico.

9