

Συσχέτιση μορίων με αποπτωτική και αντιαποπτωτική δράση με τα επίπεδα μικρολευκωματουρίας σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1

Ι. Πρωτοψάλτης
Σ. Κόκκορης
Α. Χαραμής
Ι. Κακάτσος
Δ. Λεβισιανού
Α. Καμαράτος
Λ. Δαδιώτης
Χ. Πουλοπούλου
Α. Μελιδώνης

Περίληψη

Εισαγωγή: Η απόπτωση αποτελεί μοντέλο προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου. Μόρια, όπως τα Fas sFas και η Bcl-2, μια αντιαποπτωτική πρωτεΐνη, ελέγχουν την αποπτωτική διαδικασία. Πρόσφατα δεδομένα υποστηρίζουν ότι η απόπτωση συμβάλλει ουσιαστικά στην εξέλιξη της διαβητικής νεφροπάθειας σε ασθενείς με ΣΔτ2. **Σκοπός:** Ο σκοπός της μελέτης είναι να διερευνηθεί η πιθανή συμμετοχή της απόπτωσης στην εμφάνιση νεφροπάθειας σε ασθενείς με διαβήτη τύπου 1. **Ασθενείς - Μέθοδος:** Σε 29 ασθενείς με ΣΔτ1 καταγράφηκαν: η ηλικία, το φύλο, η διάρκεια του ΣΔ, τα επίπεδα sFas, Bcl-2, HbA1c, ο ρυθμός σπειραματικής διήθησης (GFR) και η μικροαλβουμινουρία, χρησιμοποιώντας το πηλίκο της αλβουμίνης προς την κρεατινίνη ούρων (A/C). **Αποτελέσματα:** Οι ασθενείς εντάχθηκαν σε δύο ομάδες ανάλογα την παρουσία (A/C>30) ή μη μικροαλβουμινουρίας. Οι δύο ομάδες ήταν συγκρίσιμες σε ό,τι αφορά τη διάρκεια του ΣΔ και το επίπεδο γλυκαιμικής ρύθμισης (HbA1c), (14,6 vs 17,41 έτη, 7,7 vs 8,1 % αντίστοιχα). Δεν διαπιστώθηκε καμία στατιστικώς σημαντική διαφορά στα επίπεδα sFas, Bcl-2 και GFR μεταξύ των δύο ομάδων (73,8 vs 70,71 pg/ml), (74,55 vs 65,16 ng/ml), (73,43 vs 88,85 ml/min/1,73 m²) αντίστοιχα. Στους ασθενείς με μικροαλβουμινουρία, υπήρξε στατιστικώς σημαντική συσχέτιση μεταξύ επιπέδων sFas και A/C ($r=0,736$, $p=0,015$). Διαιρώντας αυτούς τους ασθενείς σε δύο υποομάδες (όριο το A/C=150), στατιστικά σημαντική συσχέτιση παρατηρήθηκε στα επίπεδα sFas (60,4 vs 87,2 pg/ml, $p=0,047$) και GFR (113 vs 69,5 ml/min/1,73 m², $p=0,021$). Αντίθετα καμία σημαντική διαφορά δεν αποδείχθηκε για τα επίπεδα του Bcl-2 (77,96 vs 71,13 ng/ml). **Συμπεράσματα:** Σε ασθενείς με μικρού βαθμού μικροαλβουμινουρία, το sFas σχετίζεται θετικά με την παρουσία αλβουμινουρίας. Σε ΣΔτ1 χωρίς μικροαλβουμινουρία, βρέθηκαν υψηλότερα επίπεδα της αντιαποπτωτικής πρωτεΐνης Bcl-2. Τα παραπάνω αποτελέσματα είναι συμβατά με την υφιστάμενη θεωρία περί διαβητικής νεφροπάθειας σε ασθενείς με ΣΔτ1. Ωστόσο, η εδραίωση του παθογενετικού ρόλου της απόπτωσης στη διαβητική νεφροπάθεια, με περαιτέρω μελέτες, μπορεί να παράσχει νέα θεραπευτικά εργαλεία έναντι αυτής της πολύ σοβαρής επιπλοκής.

Εισαγωγή

Η διαβητική νεφροπάθεια (ΔΝ) αποτελεί μια από τις πιο συχνότερες αιτίες νεφρικής ανεπάρκειας τελικού σταδίου. Η επίπτωση της χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας είναι μεγαλύτερη σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 σε σχέση με ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2¹.

Τρεις είναι οι κύριες ιστολογικές βλάβες που επισυμβαίνουν στη νεφροπάθεια του διαβήτη. 1) Η αύξηση του μεσάγγειου, 2) η πάχυνση της σπειραματικής βασικής μεμβράνης και 3) η σπειραματοσκλήρυνση σε όψιμα στάδια.

Η πρώιμη φάση της διαβητικής νεφροπάθειας² χαρακτηρίζεται από μικροαλβουμινουρία και αυξημένο ρυθμό σπειραματικής διήθησης (ΡΣΔ). Η ύπαρξη μακροαλβουμινουρίας σηματοδοτεί εξέλιξη νεφρικής νόσου και συνοδεύεται από συνεχή μείωση του ΡΣΔ. Αν και οι παθολογοανατομικές αλλαγές της διαβητικής νεφροπάθειας έχουν περιγραφεί πολύ καλά, ο ακριβής παθογενετικός μηχανισμός εξέλιξης της παραμένει αδιευκρίνιστος. Αξίζει να τονισθεί ότι η κύρια αιτία έκπτωσης της νεφρικής λειτουργίας^{2,3}, όχι μόνο στη ΔΝ αλλά και σε άλλες νεφρικές παθήσεις (νεοπλασίες, υπερπλαστική σπειραματονεφρίτιδα, νεφρική ατροφία) είναι η διαταραχή της ομοιοστασίας των νεφρικών κυττάρων που οδηγεί σε μία άναρχη αύξηση του μεσάγγειου και κατάλυση της αρχιτεκτονικής του σπειράματος.

Κεντρικό ρόλο σε αυτόν τον ομοιοστατικό μηχανισμό κατέχει η απόπτωση ή αλλιώς προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος, η οποία ρυθμίζεται από ειδικά μόρια και γονίδια⁴⁻⁶. Ο καταρράκτης των αντιδράσεων που οδηγεί στην απόπτωση ρυθμίζεται από πρωτεάσες οι οποίες, δρώντας στα υποστρώματά τους, προκαλούν λύση σε θέσεις καταλοίπων ασπαρτικού οξέος (cysteine aspartyl-specific proteases-caspases). Υπάρχουν δύο οδοί ενεργοποίησης των κασπασών. Η εξωγενής οδός που προάγει την απόπτωση και ξεκινά με την αλληλεπίδραση μεταξύ υποδοχέων της κυτταρικής επιφανείας (μέλη της οικογένειας TNFR-tummor necrosis factor receptor) και του αντιστοίχου συνδέτη. Μεταξύ των TNFRs είναι και ο υποδοχέας Fas. Ο συνδέτης του Fas είναι ο FasL. Η διαλυτή μορφή του υποδοχέα Fas που έχει χάσει το διαμεμβρανικό του τμήμα είναι ο sFas⁵, ο οποίος διατηρεί την ικανότητα σύνδεσης με το FasL. Έτσι αναπτύσσεται ανταγωνισμός μεταξύ sFas-Fas για τον FasL, με αποτέλεσμα να αναστέλλεται η απόπτωση.

Η άλλη οδός που συμμετέχει στη ρύθμιση της απόπτωσης ονομάζεται ενδογενής⁵ και ελέγχεται από τα γονίδια Bcl-2. Τα μιτοχόνδρια, υπό την δράση της αντιαποπτωτικής Bcl-2 πρωτεΐνης, μειώνουν την έκκριση Cyt-c, το οποίο, όταν συνδεθεί με ειδική πρωτεΐνη, την Araf-1 (apoptotic protease activating factor), ενεργοποιείται η κασπάση 9, με αποτέλεσμα την πυροδότηση του καταρράκτη των

κασπασών, προάγοντας έτσι την απόπτωση.

Συνεπώς, η τύχη του κυττάρου καθορίζεται από την αλληλεπίδραση παραγόντων επιβίωσης (αύξηση Bcl-2) και θανάτου (FasL, TNF) στο μικροπεριβάλλον του.

Παρόμοια, σε επίπεδο ιστού, εν προκειμένω νεφρικού, η διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ αποπτωτικής και αντιαποπτωτικής δραστηριότητας οδηγεί σε διαταραχή του αριθμού των κυττάρων και σε εκδήλωση νεφρικής βλάβης. Η απόπτωση μπορεί να είναι επιζήμια ή ωφέλιμη ανάλογα με το στάδιο της νεφρικής βλάβης.

Όσον αφορά στον ρόλο της απόπτωσης στην παθογένεση της διαβητικής νεφροπάθειας δεν υπάρχουν επαρκή ερευνητικά δεδομένα. Πειραματικά δεδομένα υποστηρίζουν ότι αποπτωτικές αλλαγές συμβαίνουν στα εγγύς νεφρικά σωληνάκια σε πολύ αρχικά στάδια του διαβήτη. Ομοίως, υψηλές συγκεντρώσεις γλυκόζης, παρόμοιες με αυτές που βρίσκονται σε διαβητικούς, αυξάνουν την έκφραση της αποπτωτικής πρωτεΐνης Bax και ελαττώνουν την έκφραση της Bcl-2 στα επιθηλιακά κύτταρα των νεφρικών σωληναρίων. Αυξημένα επίπεδα sFas παρατηρήθηκαν σε διαβητικούς ασθενείς με νευροπάθεια. Τέλος, δεδομένα πρόσφατων μελετών συσχετίζουν τα επίπεδα του sFas με την πρόγνωση ασθενών με διαβητική νεφροπάθεια.

Ο σκοπός της μελέτης είναι να διερευνηθεί η πιθανή συμμετοχή της απόπτωσης στην εμφάνιση νεφροπάθειας σε ασθενείς με διαβήτη τύπου 1.

Ασθενείς και μέθοδος

Συνολικά 29 ασθενείς με γνωστό σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 πήραν μέρος στη μελέτη κατόπιν γραπτής συγκατάθεσης. Ασθενείς με υποκείμενες παθήσεις στις οποίες η απόπτωση ενδέχεται να παίζει σημαντικό ρόλο ή ασθενείς με άλλες επιπλοκές του διαβήτη, πλην διαβητικής νεφροπάθειας, αποκλείστηκαν από τη μελέτη. Συγκεκριμένα, ασθενείς με ιστορικό αυτοάνοσων, θυρεοειδικών, ηπατικών παθήσεων, νεοπλασιών, εμφυσήματος ή άλλου νοσήματος στο οποίο υπεισέρχεται η απόπτωση αποκλείστηκαν από τη μελέτη. Επιπλέον, όλοι οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε βυθοσκοπηση με την οποία αποκλείστηκε η διαβητική υπερπλαστική αμφιβληστροειδοπάθεια. Η περιφερική νευροπάθεια αποκλείστηκε με βιοθεσιόμετρο συνεκτιμώντας την ύπαρξη ή μη συμπτωματολογίας. Η ύπαρξη στεφανιαίας νόσου ελέγχθηκε με δοκιμασία κόπωσης⁹. Η ύπαρξη περιφερικής αφορακτικής αρτηριακής νόσου αποκλείστηκε με μέτρηση

Πίνακας 1. Χαρακτηριστικά διαβητικών ασθενών σε σχέση με το μέγεθος της μικρολευκωματουρίας

Παράμετροι	A/C \geq 30 mg/g (MA ομάδα)	A/C<30 mg/g (NA ομάδα)	p-value	A/C<150 mg/g (υποομάδα 1)	A/C \geq 150 mg/g (υποομάδα 2)	p-value
N	10	19		5	5	
Διάρκεια Διαβήτη (έτη)	14,6	17,41	NS	12	17,2	
HbA _{1C}	7,7%	8,1%	NS	8,9%	6,5%	
P.Σ.Δ(ml/min/1.73m ²)	73,43	88,85	NS	113	69,5	0,021
sFas (pg/ml)	73,8	70,71	NS	60,4	87,2	0,047
Bcl-2 (ng/ml)	74,5	65,16	NS	77,96	71,13	NS

του κνημοβραχιονίου δείκτη. Τέλος, κανένας ασθενής δεν λάμβανε φαρμακευτική αγωγή για υπέρταση. Σε κάθε ασθενή προσδιορίστηκαν οι παρακάτω παράγοντες: το φύλο, η διάρκεια νόσου, η κρεατινίνη ορού, το sFas και Bcl-2 (ELISA), η HbA_{1C}, ο ρυθμός σπειροματικής διήθησης, η ηλικία και η λευκωματουρία με προσδιορισμό του λόγου λευκωματίνης προς κρεατινίνη ούρων- ACR χρησιμοποιώντας DCA 2000® kit⁷.

Η αιμοληψία διενεργήθηκε μέσω περιφερικών φλεβών αργά και το αίμα μεταφέρθηκε σε σωλήνα που περιέχει αντιπηκτικό Na₂EDTA (1,5 mg/ml). Εν συνεχεία με φυγοκέντρηση (1.500 g για 20 min) στους 4°C ελήφθη ορός που αποθηκεύθηκε στους -80°C. Τα επίπεδα πλάσματος του s-Fas και Bcl-2 μετρήθηκαν χρησιμοποιώντας εμπορικά kit ELISA (Bender).

Ο ρυθμός σπειροματικής διήθησης (PΣΔ) υπολογίστηκε με βάση την εξίσωση της μελέτης MDRD (Modification of Diet in Renal Disease) η οποία βασίζεται στην κρεατινίνη ορού, την ηλικία του ασθενούς, τη φυλή και το φύλο⁸.

Οι ασθενείς κατηγοριοποιήθηκαν σε δύο ομάδες σύμφωνα με τον λόγο A/C, σε μικροαλβουμουρικούς (MA) (A/C \geq 30 mg/g) και νορμοαλβουμουρικούς <30 mg/g (NA).

Οι MA κατηγοριοποιήθηκαν περαιτέρω ανάλογα με τη μέση τιμή A/C σε 2 υποομάδες: 1) A/C \leq 150 mgr/g, και 2) A/C>150 mgr/g¹⁰.

Στατιστική ανάλυση έγινε χρησιμοποιώντας τις παραμετρικές στατιστικές δοκιμασίες Student's t-test, συντελεστή συσχέτισης Pearson και πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση. Το επίπεδο της στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε ως p<0,05.

Αποτελέσματα

16 (55,2%) από τους ασθενείς ήταν γυναίκες έναντι 13 (44,8%) ανδρών.

11 (37%) των ασθενών ήταν μικροαλβουμι-

νουρικοί (MA: A/C \geq 30 mg/g) έναντι 18 (63%) που ήταν νορμοαλβουμουρικοί (NA: A/C <30 mg/g). Κανένας από τους ασθενείς που συμμετείχε στη μελέτη, δεν παρουσίασε μακρολευκωματουρία.

Η ηλικία (38 vs 28,3 έτη, p=0,025), η διάρκεια νόσου (17,41 vs 14,6 έτη, NS) και η HbA_{1C} (8,1% vs 7,7%, NS) ήταν μεγαλύτερες στους NA σε σχέση με τους MA.

Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των MA και NA όσον αφορά στά sFas: (73,8 pg/ml vs 70,71 pg/ml αντιστοίχως), Bcl-2: (74,55 ng/ml vs 65,16 ng/ml αντιστοίχως) και PΣΔ: (73,43 ml/min/1.73 m² vs 88,8543 ml/min/1,73 m² αντιστοίχως) (Πίν. 1).

Αντίθετα, στην ομάδα των MA, στατιστικά σημαντική συσχέτιση παρατηρήθηκε μεταξύ sFas και A/C ratio (r=0,736, p=0,015).

Κατηγοριοποιώντας τους ασθενείς με αλβουμουρία σε 2 υποομάδες, σύμφωνα με τη διάμεση τιμή του A/C σε α) <150 mg/g και β) >150 mg/g, παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στο sFas (60,4 vs 87,2 pg/ml αντίστοιχα, p=0,047) και στον PΣΔ (113 vs 69,5 43 ml/min/1,73m² αντίστοιχα, p=0,021). Οι τιμές της Bcl-2 ήταν μεγαλύτερες στους διαβητικούς με A/C<150 mg/g (77,96 vs 71,13 ng/ml NS).

Από την πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση που εφαρμόστηκε στην ομάδα των μικροαλβουμουρικών ασθενών, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση του λόγου A/C (λευκωματουρία), με την Bcl-2 (r: 0,87, p=0,010) και με ηλικία (r: 1,22, p= 0,003).

Συζήτηση

Αρχικές μελέτες οι οποίες έχουν μελετήσει την παθογένεση της διαβητικής νεφροπάθειας έδειξαν αυξημένη αποπρωτική και μειωμένη αντιαποπρωτική δραστηριότητα¹¹⁻¹⁴. Στη μελέτη αυτή παρατηρείται αυξημένη αντιαποπρωτική δραστηριότητα, ήδη

από τα πλέον πρώιμα στάδια διαβητικής νεφροπάθειας σε ασθενείς με διαβήτη τύπου 1.

Στη μελέτη αυτή διαπιστώθηκε σημαντική συσχέτιση του sFas ($r: 0,736$) με τη λευκοματινουρία, (λόγος A/C), η οποία δείχνει ότι υπάρχει διαταραχή στη ρύθμιση της απόπτωσης στους διαβητικούς τύπου 1 ασθενείς με μικροαλβουμινουρία. Σύμφωνα με τον Shimizu και συν.¹⁵, η απόπτωση αποτελεί τον κύριο αντιρροπιστικό μηχανισμό στον πολλαπλασιασμό των μεσαγγειακών κυττάρων, που είναι, όπως προαναφέρθηκε, η κύρια παθολογοανατομική βλάβη στη διαβητική νεφροπάθεια. Η παρουσία αυξημένων επιπέδων sFas ισοδυναμεί με διαταραγμένη ρύθμιση απόπτωσης, δηλαδή αυξημένη αντιαποπτωτική δραστηριότητα, που οδηγεί έτσι σε μη ελεγχόμενη ομοιοστασία του αριθμού των μεσαγγειακών κυττάρων, τα οποία συνεχίζουν να πολλαπλασιάζονται. Αποτέλεσμα του μειωμένου ρυθμού απόπτωσης είναι ο στραγγαλισμός των τριχοειδών του σπειράματος από τον άναρχο πολλαπλασιασμό του μεσαγγείου, που οδηγεί αρχικά σε υπερδιήθηση και τελικά σε μείωση του ΡΣΔ. Τα αποτελέσματά μας επιβεβαιώνουν την τάση προοδευτικής μείωσης του ΡΣΔ καθώς η λευκοματινουρία επιδεινώνεται. Η επιδείνωση δε αυτή συμβαίνει παράλληλα με την αύξηση των επιπέδων του sFas στην υποομάδα β των ΜΑ. Η αύξηση της αντιαποπτωτικής δράσης, στην ανάλυσή μας, (μείωση της αποπτωτικής), που αποδόθηκε στα αυξημένα επίπεδα του sFas, συνοδεύεται όχι μόνον από αύξηση λευκοματινουρίας αλλά και από μείωση του ΡΣΔ, αποτελέσματα συμβατά με φυσική ιστορία της εξέλιξης της διαβητικής νεφροπάθειας.

Η συσχέτιση του sFas με την εξέλιξη της λευκοματινουρίας σε νεφρικές παθήσεις (A/C ratio) έχει επιβεβαιωθεί και από άλλες μελέτες^{13,14,16-18}, οι οποίες όμως συμπεριέλαβαν κατά κύριο λόγο ασθενείς με διαβήτη τύπου 2, με οψίμου σταδίου νεφρική νόσο. Κάποιοι¹⁶ ερευνητές έχουν προτείνει και τη χρήση του sFas ως προγνωστικού παράγοντα εξέλιξης της νεφρικής νόσου, δεδομένου ότι αυξημένες τιμές του παρατηρούνται σε προχωρημένα στάδια νεφρικής νόσου. Δεδομένου ότι τα επίπεδα sFAS αυξάνονται συνήθως στα τελικά στάδια διαβητικής νεφροπάθειας¹⁶, τα χαμηλά επίπεδα του sFas σε απόλυτο αριθμό στους ασθενείς της ανάλυσής μας ερμηνεύονται, αφού οι συμμετέχοντες διαβητικοί παρουσίαζαν στην πλειοψηφία τους μικροαλβουμινουρία. Πρέπει να σημειωθεί ότι αυτή είναι η πρώτη μελέτη η οποία διερευνά τον ρόλο της απόπτωσης στα αρχικά στάδια της

ΔΝ σε ασθενείς με ΣΔ τύπου 1. Η αυξημένη αντιαποπτωτική δραστηριότητα οφείλεται επίσης στα αυξημένα επίπεδα Bcl-2, τα οποία αυξάνονται, όσο επιδεινώνεται η λευκοματινουρία. Αν και η διαφορά στα επίπεδα Bcl-2 είναι μη σημαντική (65,16 ng/ml vs 74,55 ng/ml νορμοαλβουμινουρικοί και μικροαλβουμινουρικοί ασθενείς αντίστοιχα), μεταξύ όλων των παραγόντων που μελετήθηκαν (διάρκεια διαβήτη, φύλο, sFas, Bcl-2 ηλικία, ΡΣΔ), η αντιαποπτωτική πρωτεΐνη Bcl-2 συσχετίστηκε σημαντικά με τη μικροαλβουμινουρία σε ασθενείς με διαβήτη τύπου 1 ($r: 0,87$, $p=0,010$).

Συνεπώς η μη στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των μέσω τιμών Bcl-2 στις διάφορες υποομάδες αποδίδεται στο μικρό μέγεθος του δείγματος. Ωστόσο, αξίζει να σχολιασθεί¹⁹, δεδομένου ότι η σχέση Bcl-2 και νεφροπάθειας σε ΣΔ δεν έχει μελετηθεί. Το μικρό μέγεθος του δείγματος ήταν απόρροια των κριτηρίων εισαγωγής των ασθενών, δεδομένου ότι στα περισσότερα νοσήματα η απόπτωση εμπλέκεται ως παθογενετικός μηχανισμός.

Υποθέσαμε ότι οι αντιαποπτωτικές δράσεις της Bcl-2 ευθύνονται κύρια για την αύξηση του μεσαγγείου σύμφωνα με πρόσφατες μελέτες που έδειξαν ότι ο πολλαπλασιασμός των μεσαγγειακών κυττάρων ελέγχεται από τον VEGF (vascular endothelial growth factor) στη ΔΝ²⁰. Όμως ο VEGF αποτελεί έναν γνωστό αυξητικό, αντιαποπτωτικό παράγοντα ο οποίος ασκεί τη δράση του μέσω της Bcl-2, όπως έχει φανεί από σειρά μελετών^{21,22}. Επιπλέον, η έκφραση του VEGF καθορίζεται από τον TGF- β_1 το οποίο ελέγχει την έκφραση του ισόμορφου VEGF164 μέσω της MKK3-p38 MAPK οδού²³.

Επίσης, η αυξημένη έκφραση TGF- β_1 ερμηνεύεται από την αλληλεπίδραση AGE-RAGE στα ποδοκύτταρα, οδηγώντας σε αύξηση των ενδοκυττάρων ROS, οι οποίες ενεργοποιούν μεταγραφικούς παραγόντες όπως NF κ B, που προάγει την έκφραση γονιδίων που κωδικοποιούν τελικά την κυταροκίνη TGF- β_1 ²⁴.

Σε διάφορα όμως στάδια εξέλιξης νεφρικής νόσου, οι αποπτωτικοί μηχανισμοί επίσης ενεργοποιούνται επιταχύνοντας την επιδείνωση της νεφρικής λειτουργίας στη ΔΝ. Για παράδειγμα απόπτωση συμβαίνει²⁵ όταν η μείωση της νεφρικής ενεργοποιεί την προαποπτωτική πρωτεΐνη Bad, οδηγώντας σε ποδοκυττοπενία και πρωτεϊνουρία.

Συμπερασματικά, στα αρχικά στάδια της ΔΝ σε ασθενείς με ΣΔ τύπου 1 υπάρχει δυσλειτουργία του μηχανισμού απόπτωσης καθώς και αυξημένα

επίπεδα sFas, αλλά πιθανά κεντρικός παθογενετικός ρόλος ανήκει στην Bcl-2.

Παρόλο που ο ρόλος της απόπτωσης στη ΔΝ δεν έχει πλήρως κατανοηθεί, η συνεχής απόπτωση-αντιαπόπτωση φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο σε διάφορα στάδια της ΔΝ και νέες θεραπείες που βασίζονται στον ρόλο των VEGF, TGF-β και νεφρίνης έχουν ήδη εμφανιστεί.

Κατανοούμε ότι η μελέτη μας έχει αρκετούς περιορισμούς, οι σημαντικότεροι από τους οποίους είναι:

1. Το μικρό μέγεθος του δείγματος της ανάλυσης μας, που αποδίδεται στα αυστηρά κριτήρια εισαγωγής που έπρεπε να πληρούν οι ασθενείς, δεδομένου ότι η απόπτωση είναι κοινός παθογενετικός μηχανισμός εμφάνισης πολλών νόσων.

2. Δεν υπάρχει ιστολογική επιβεβαίωση της προέλευσης των Bcl-2 και sFas, δεδομένου ότι οι ασθενείς είχαν αρχόμενη νεφροπάθεια και οι περισσότεροι αρνήθηκαν βιοψία.

Abstract

Protopsaltis J, Kokkoris S, Charamis A, Kakatsos J, Levisianou D, Kamaratos A, Dadiotis L, Pouloupoulou Ch, Melidonis A. Relation of with apoptotic and non-apoptotic molecule, with the levels of microalbuminuria on patients with Diabetes Mellitus type 1. Hellen Diabetol Chron 2006; 4: 300-305.

Introduction: Apoptosis is a model of programmed cell death. Molecules such as Fas and sFas (soluble) as well as an anti-apoptotic protein, Bcl-2, control the apoptotic process. Recent data supports that apoptosis substantially contributes to the evolution of diabetic nephropathy in type 2 diabetic patients. **Aim:** If microalbuminuria in type 1 diabetic patients is associated with increased renal cells apoptosis. **Material-Methods:** In 29 type 1 diabetic patients the following variables were determined: age, sex, diabetes duration, sFas, Bcl-2, HbA1c, glomerular filtration rate (GFR) and microalbuminuria, using urine albumin to urine creatinine ratio (A/C). **Results:** The two groups were comparable with regard to diabetes duration and glycemic control level (17.41 years vs 14.6 and 8.1% vs 7.7 HbA1c, respectively). No statistical significance (SS) was remarked in sFas, Bcl-2 and GFR between non-microalbuminuric patients and microalbuminuric (70.71 vs 73.8 pg/ml), (65.16 vs 74.55 ng/ml) and (88.85 vs 73.43 ml/min/1.73m²), respectively. In microalbuminuric patients (A/C >30), there was SS between sFas and A/C ratio ($r=0.736$, $p=0.015$). Dividing patients into two subgroups [mild vs severe (A/C >150) microalbuminuric patients], SS was remarked

in sFas (60.4 vs 87.2 pg/ml, $p=0.047$) and GFR (113 vs 69.5 ml/min/1.73m², $p=0.021$). On the contrary, no SS was proved for Bcl-2 levels (77.96 vs 71.13). **Conclusions:** In mild microalbuminuric patients sFas is positively associated with the presence of albuminuria. In non-albuminuric patients, higher levels of anti-apoptotic protein Bcl-2 were found. The above mentioned results are compatible with the current theory about diabetic nephropathy in type 1 diabetics. However, the establishment of the pathogenetic role of apoptosis in diabetic nephropathy by further investigation could provide new therapeutic tools against this very serious complication.

Βιβλιογραφία

1. Anderson AR, Christiansen JS, Andersen JK, Kralner S, Dockert K. Diabetic nephropathy in type I (insulin-dependent) diabetes: An epidemiologic study. *Diabetologia* 1985; 25: 496-501.
2. Steffes MW, Osterby R, Chavers B, Mauer SM. Mesangial expansion as a central mechanism for loss of kidney function in diabetic patients. *Diabetes* 1989; 38: 1077-81.
3. Ortiz A, Lorz C, Justo P, Catalán MP, Egado J. Contribution of apoptotic cell death to renal injury. *J Cell Mol Med* 2001; 5: 18-32.
4. Zeiss CJ. The apoptosis-necrosis continuum: insights from genetically altered mice. *Vet Pathol* 2003; 40: 481-95.
5. Reed JC. Mechanisms of apoptosis. *Am J Pathol* 2000; 157: 1415-30.
6. Barker AJ, Mooney A, Hughes J, et al. Mesangial cell apoptosis: the major mechanism for resolution of glomerular hypercellularity in experimental proliferative nephritis. *J Clin Invest* 1994; 94: 2105-16.
7. Poulsen PL, Mogensen CE. Clinical evaluation of a test for immediate and quantitative determination of urinary albumin to creatinine ratio. *Diabetes Care* 1998; 21: 97-98.
8. National Kidney Foundation: National Kidney Foundation Kidney Disease Outcomes Quality Initiative. Available from: http://www.kidney.org/professionals/kdoqi/gfr_page.cfm
9. Molitch ME, DeFronzo RA, Franz MJ, et al. Nephropathy in diabetes. *Diabetes Care* 2004; 27(suppl 1): s79-s83.
10. Altman DG. Categorizing Continuous Variables. In *Encyclopedia of Biostatistics*. Armitage P, Colton T (Eds).
11. Ortiz A, Lorz C, Justo P, Catalán M, Egado J. role and regulation of apoptotic cell death in the kidney. *Front Biosci* 2000; 5: d735-749.
12. Kikutsi et al. Regulation of the apoptosis related genes, Bax and Bcl-2, in the early stage of diabetes mellitus. *Nephrology* 2002; 7: 294-302.
13. Guilot AF, Bringuier B, Porokhov PJ, Guillausseau G, Feldman J. Increased levels of soluble Fas in serum from diabetic patients with neuropathy. *Diabetes Metab* 27: 315-321, 2001.
14. Haas CS, Schöckmann HO, Lang S, Kralewski M, Sterzel RB. Regulatory mechanism in glomerular mesangial cell proliferation. *J Nephrol* 1999; 12: 405-15.

15. Shimizu A, Kitamura H, Masuda Y, Ishizaki M, Sugisaki Y, Yamanaka N. Apoptosis in the repair process of experimental proliferative glomerulonephritis. *Kidney Int* 1995; 47: 114-21
16. Baba K, Minatoguchi S, Sano H, et al. Involvement of apoptosis in patients with diabetic nephropathy: A study on plasma soluble Fas levels and pathological findings. *Nephrology* 2004; 9: 94-9
17. Cheng J, Zhou T, Liu C, et al. Protection from Fas mediated apoptosis by a soluble form of the Fas molecule. *Science* 1994; 263: 1759-62.
18. Cascino I, Papoff G, Eramo A, Ruberti G. Soluble FAS/APO-1 splicing variants and apoptosis: *Front Biosci* 1996; 1: d12-8
19. Goodman SN. Toward evidence based medical statistics. 1: The P Value Fallacy. *Ann Intern Med.* 1999; 130: 995-1004.
20. Onozaki A, Midorikawa S, Sanada H, et al. Rapid change of glucose concentration promotes mesangial cell proliferation via VEGF: inhibitory effects of thiazolidinedione. *Biochem Biophys Res Commu* 2004, 317: 24-9.
21. Gerber HP, Dixit V, Ferrara N. Vascular endothelial growth factor induces expression of antiapoptotic proteins Bcl-2 and A1 in vascular endothelial cells. *J Biol Chem* 1998; 273: 1313-6.
22. Nor JE, Christensen J, Mooney DJ, Polverini PJ. Vascular endothelial growth factor (VEGF)-mediated angiogenesis is associated with enhanced endothelial cell survival and induction of Bcl-2 expression. *Am J Pathol* 1999; 154: 375-84.
23. Wang L, Kwak JH, Kim SI, He Y, Choi ME. Transforming growth factor-1 stimulates vascular endothelial G.
24. growth factor 164 via mitogen activated protein kinase 3-p38 and p38 mitogen-activated protein kinase-dependent pathway in urine mesangial cells. *J Biol Chem*; 2004; 279: 33213-9.
25. Mason R, Wahab N. Extra cellular matrix metabolism in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 1358-73.
26. Wolf G, Chen S, Ziyadeh F. From the periphery of the glomerular capillary wall toward the center of disease. Podocyte Injury comes of age in diabetic nephropathy. *Diabetes* 2005; 54: 1626-34.

Λέξεις κλειδιά:

Απόπτωση
Νεφρική ανεπάρκεια

Key words:

Apoptosis
Renal failure