

Valutazione Semeiotico-Biofisica dell'Attività dei PPARs.

INTRODUZIONE.....	1
METODI SEMEIOTICO-BIOFISICI DI VALUTAZIONE DELL' ATTIVITÀ DEI PPARS.	2
DISCUSSIONE E CONCLUSIONE.	3
BIBLIOGRAFIA.....	4

Introduzione.

I recettori attivati dai proliferatori perossisomiali (PPARs) sono notoriamente dei fattori di trascrizione attivati da ligandi, appartenenti alla superfamiglia dei recettori dei fattori nucleari, che influenzano sia le dimensioni sia il numero dei perossisomi, svolgendo numerose funzioni metaboliche (respirazione derivata da perossidi, beta-ossidazione degli acidi grassi, metabolismo colesterologico, ecc.) all'interno delle cellule.

I recettori nucleari sono fattori trascrizionali attivati da specifici ligandi (acidi grassi, LDL, ecc.) che recitano un importante ruolo nell'informazione cellulare. Essi fanno parte della superfamiglia dei recettori steroidei, tiroidei e retinoidei; essi includono recettori per steroidi, ormone tiroideo, ormoni derivati da vitamina A e D ed alcuni acidi grassi.

Finora sono stati identificati tre differenti PPARs (PPAR-alfa, PPAR-beta o-delta, e PPAR-gamma, che recitano un ruolo importante nella sensibilità insulinica) attivati dall'interno dai ligandi appena ricordati: acidi grassi, ormone tiroideo, eicosanoidi, ecc. Notoriamente i PPARs modulano l'espressione genica per vie metaboliche interessate nel metabolismo dei lipidi e glucosio, infiammazione, ciclo cellulare e nella risposta immunitaria (1).

L'evidenza sperimentale con ligandi dei PPARs ha pure dimostrato che essi sono in grado di migliorare il metabolismo glico-lipidico (2) e la fibrosi miocardica (3, 4). In modo simile ad altri recettori nucleari, dopo attivazione mediante ligandi i PPARs si legano a un specifico elemento nella zona pro-motrice dei geni bersaglio. La etero-dimerizzazione dei **PPAR** con **RXR** e la presenza di coattivatori sono necessari per l'attività trascrizionale dell'elemento responsivo dei PPARs nel DNA (1-9).

I PPARs possono essere attivati da piccole molecole come i glitazoni con la conseguenza della diminuzione del livello sierico dei lipidi e glucosio. Questa proprietà dei glitazoni è stata utilizzata nella terapia del diabete tipo 2, i cui benefici sono derivati non soltanto dalla loro capacità di aumentare la sensibilità insulinica, ma di migliorare, contrastandolo, il progresso dell'arteriosclerosi (1).

E' stato dimostrato che l'angiotensina II (Ang II), noto modulatore patologico del rimodellamento cardiaco, aumenta la produzione dei radicali liberi (ROS) mediante la stimolazione della nicotinamide-adenina-dinucleotide-fosfato-ossidasi (NADPH) (5). Pertanto, la stimolazione della produzione dei ROS da parte dell'Ag II potrebbe costituire un modo attraverso cui questo fattore umorale contribuisce allo sviluppo del danno tissutale in vari organi come vasi sanguigni, reni e cuore. Inoltre, l'aumentata produzione dei ROS si osserva anche notoriamente nella iperglicemia e si pensa che intervenga anche nel provocare il danno istantaneo nei diabetici.

Studi sperimentali hanno dimostrato recentemente che alti livelli della glicemia stimolano la produzione di Ag II, indicando indirettamente la possibile esistenza di feed-back positivi per la produzione dei ROS (6).

Di conseguenza, i diabetici non controllati possono essere a rischio elevato di danni di organo mediati dai ROS. I segnali cellulari correlati con i radicali liberi, mediati dalla Ag II,

pertanto, si sono rivelati come una possibile via per realizzare gli effetti di questo fattore umorale anche nel turnover della Matrice Extra Cellulare dei fibroblasti cardiaci (7).

Appare interessante che il cytochromo P450s della sotto-famiglia 4A generalmente catalizza la omega-idrossilazione degli acidi grassi. L'induzione degli enzimi del P450s 4A da parte dei proliferatori perossisomiali o degli acidi grassi è mediata dai recettori attivati dai proliferatori perossisomiali (PPARs), che, come sopra riferito, sono membri della super-famiglia dei recettori nucleari i quali regolano l'espressione di geni che controllano la sintesi degli acidi grassi, l'accumulo dei lipidi, il ciclo cellulare ed il catabolismo.

Ai fini dell'argomento discusso, è veramente importante che i PPARs, sotto forma eterodimerica con un altro membro della famiglia dei recettori nucleari, per es., i recettori dei retinoidi X/O e stimolati pure dalla melatonina, come da noi dimostrato in precedenti ricerche (2, 3), si legano agli elementi della risposta dei proliferatori perossisomiali (PPREs) nei geni del P450 4A1 e 4A6 (8).

Il precoce, rapido e clinico riconoscimento, su larga scala, di questa disfunzione in individui apparentemente sani, ma con costituzione dislipidemica e/o diabetica in evoluzione verso la sindrome Pre-Metabolica (V. il sito www.semeioticabiofisica.it/microangiologia.it) permette di attuare la prevenzione primaria dell'insorgenza di gravi patologie e delle loro complicazioni che si sviluppano anni e decenni prima che queste malattie sono diagnosticate.

Lo scopo di questo articolo è quello di dimostrare che la valutazione clinica semeiotico-biofisica dell'attività dei PPARs, realizzata clinicamente per la prima volta, rappresenta un evento di notevole importanza per la medicina pratica e la ricerca, indicando una alterazione metabolica che precede ed accompagna la sua fenomenologica clinica e sierologica.

Metodi Semeiotico-Biofisici di valutazione dell'Attività dei PPARs.

L'attività dei PPARs può essere valutata mediante due metodi di relativamente semplice applicazione ed ugualmente affidabili, sebbene diversi per difficoltà tecnica ed eleganza, basati sulla stimolazione della secrezione dell'ormone tiroideo e rispettivamente della melatonina:

A) Prima di tutto il medico procede con la valutazione dell'attività microcircolatoria basale, a riposo, del fegato e/o del tessuto adiposo addominale, valutando la durata della *vasomotility* e della *vasomotion* (NN = 7,5 sec. come "Plateau Line", nell'*absorptive* e nel *post-absorptive state*: attivazione microcircolatoria associata, tipo I) (10) (V. anche il sito HONCode 233736 www.semeioticabiofisica.it e www.semeioticabiofisica.it/microangiologia.it) oppure, in modo assai più facile, calcolando il tempo di latenza del riflesso epato- e tessuto adiposo-gastrico aspecifico, provocati dalla pressione digitale medio-intensa applicata sopra la proiezione cutanea del fegato e, ovviamente nel secondo caso, mediante pizzicotto cutaneo del grasso addominale laterale (NN = 12 sec. e rispettivamente 8 sec.).

Successivamente, dopo stimolazione della secrezione di TSH-RH, della durata di 15-20 sec., a mezzo di pressione cutanea medio-intensa, esercitata sopra la proiezione cutanea del centro neuronale del TSH-RH (cioè, 1 cm sopra e 3 cm. anteriormente al meato acustico esterno), il medico valuta una seconda volta i valori parametrici sopra riferiti.

Nel sano, la durata della *Plateau Line* aumenta significativamente, salendo da 7,5 sec. a circa 9 sec., mentre il tempo di latenza dei riflessi epato- e tessuto adiposo-gastrico aspecifico appare incrementato in modo significativo (per es., salendo da 12 sec. a 16 sec. e rispettivamente da 8 sec. a 12 sec.).

Ai fini della corroborazione della teoria semeiotico-biofisica qui sostenuta, appare di notevole valore il fatto che, nel sano, la valutazione dei valori parametrici mediante la contemporanea applicazione delle due stimolazioni ormonali consente di osservare i massimi valori: 18 e 14 rispettivamente.

Al contrario, nell'obeso e/o dislipidemico e/o prediabatico o diabetico con compromissione della funzione dei PPARs, nella seconda valutazione non si osserva alcun aumento dei valori parametrici semeiotico-biofisica, sopra riferiti, in realtà già compromessi nelle prime fasi di evoluzione della sindrome Pre-Metabolica verso la metabolica.

B) Il secondo metodo è basato sulla fisiologica stimolazione dei recettori nucleari provocata dalla melatonina: come illustrato sopra, innanzitutto il medico deve valutare gli stessi parametri basali, cioè, la durata del Plateau Line ed il tempo di latenza del riflesso gastrico aspecifico, causato dalla pressione digitale medio-intensa applicata sopra la proiezione cutanea del fegato oppure pizzicando in modo persistente il tessuto adiposo latero-addominale.

Una seconda indagine è eseguita dopo dopo circa 30 sec. che il soggetto da esaminare ha chiuso gli occhi (= secrezione melatoninica).

Nel sano, ancora una volta si raccolgono gli stessi risultati del primo procedimento, sottolineando la coerenza esterna ed interna della teoria che sottende il metodo.

Al contrario, nei pazienti con compromessa attività dei PPARs, cioè obesi, dislipidemici, prediabatici e diabetici, il valore basale dei parametri non si modifica affatto nella seconda valutazione.

Appare di estremo interesse ai fini della prevenzione primaria il fatto che identici risultati patologici si osservano precocemente in caso di Sindrome Pre-Metabolica in evoluzione verso la sindrome metabolica, rappresentando un dato utile ai fini della prevenzione primaria.

Discussione e Conclusione.

I recettori nucleari sono fattori di trascrizione attivati da specifici ligandi (acidi grassi, LDL, ecc.) che svolgono un importante ruolo nella trasmissione cellulare di segnali. Essi appartengono alla superfamiglia dei recettori steroidei-tiroidei-retinoidi; questi includono i recettori per gli steroidi, l'ormone tiroideo, melatonina, ormoni derivati dalla vitamina A e D ed alcuni acidi grassi.

Dal punto di vista strutturale hanno in comune alcune caratteristiche: il dominio del legame centrale nel DNA (recettore di legame a specifiche sequenze del DNA – Hormones Response Elements, HRE), dominio dell'unione al ligando nella regione terminale COOH- e dominio variabile N-terminale (9).

Recentemente è stata descritta la struttura tri-dimensionale dei domini di legame del DNA di vari recettori nucleari (10). Tuttavia, di alcuni recettori nucleari non è stato identificato il naturale ligando (ormone) e pertanto, una decina di anni or sono, è stato suggerito il termine di recettore "orfano" (OR). La ricerca per questi ligandi (ormoni) ha introdotto il concetto di "endocrinologia inversa" (11).

Un tipico esempio di questo approccio è la scoperta dell'acido 9-cis-retinoico (un metabolita della vitamina A) che rappresenta un ligando ad alta affinità per tre varianti del recettore del retinoide X (RXR).

Al momento, sono state riconosciute cinque distinte famiglie di OR: 1) liver X receptor (recettore X epatico) – LXR, 2) pregnane X receptor (recettore X del pregnano) PXR, 3) constitutive androstane receptor (recettore costitutivo dell'androstano) – CAR, 4) farnesoid X receptor (recettore X del farnesoide) FXR and 5) peroxisome proliferator activated receptors – PPARs.

I recettori attivati dai proliferatori perossisomiali (PPARs) sono stati clonati per la prima volta dal fegato di ratti nel 1990 come recettori nucleari che mediano gli effetti di molti composti sintetici (industriali e farmaceutici) chiamati **proliferatori perossisomiali** (PPs) (12). I PPs influenzano sia le dimensioni sia il numero dei perossisomi, che svolgono varie funzioni metaboliche (respirazione dei derivati perossidi, beta-ossidazione degli acidi grassi, metabolismo del colesterolo, ecc.) all'interno della cellula.

In modo simile ad altri recettori nucleari, dopo l'attivazione da parte di ligandi, i PPARs si legano ad un specifico elemento nella regione promotrice di geni bersaglio. L'etero-dimerizzazione dei **PPAR** con **RXR** e la presenza di co-attivatori sono necessari per l'attività trascrizionale dell'elemento responsivo dei PPARs, la cui attività è compromessa nell'obeso, dislipidemico, diabetico, arteriosclerotico, a partire dagli stadi iniziali pre-clinici.

In conclusione, nel lavoro è descritto per la prima volta un originale metodo per la valutazione clinica e quantitativa dell'attivazione dei PPARs. Questa metodica è utile nella pratica e nella ricerca. Infatti, è possibile impiegarla sia nella diagnostica sia nella prevenzione primaria delle malattie umane più frequenti e gravi, come il diabete, la dislipidemia e l'arteriosclerosi.

Bibliografia.

- 1) Edelman SV. The role of the thiazolidinediones in the practical management of patients with type 2 diabetes and cardiovascular risk factors. *Rev Cardiovasc Med.* 2003;4(suppl 6):S29 –S37.
- 2) Stagnaro S., Stagnaro-Neri M., Le Costituzioni Semeiotico-Biofisiche. Strumento clinico fondamentale per la prevenzione primaria e la definizione della Single Patient Based Medicine. Ediz. Travel Factory, Roma, 2004. http://www.travelfactory.it/semeiotica_biofisica.htm
- 3) Diep QN, Benkirane K, Amiri F, Cohn JS, Endemann D, Schiffrin EL. PPAR alpha activator fenofibrate inhibits myocardial inflammation and fibrosis in angiotensin II-infused rats. *J Mol Cell Cardiol.* 2004;36:295–304.
- 4) Iglarz M, Touyz RM, Viel EC, Paradis P, Amiri F, Diep QN, Schiffrin EL. Peroxisome proliferator-activated receptor-alpha and receptor-gamma activators prevent cardiac fibrosis in mineralocorticoid-dependent hypertension. *Hypertension.* 2003;42:737–743.
- 5) Zafari AM, Ushio-Fukai M, Akers M, Yin Q, Shah A, Harrison DG, Taylor WR, Griendling KK. Role of NADH/NADPH oxidase-derived H₂O₂ in angiotensin II-induced vascular hypertrophy. *Hypertension.* 1998;32:488–495.
- 6) Vidotti DB, Casarini DE, Cristovam PC, Leite CA, Schor N, Boim MA. High glucose concentration stimulates intracellular renin activity and angiotensin II generation in rat mesangial cells. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2004;286:F1039 –F1045.
- 7) Villarreal F J., Asbun J. Peroxisome Proliferator-Activated Receptors Ligands, Oxidative Stress, and Cardiac Fibroblast Extracellular Matrix Turnover 622 *Hypertension* November 2004.
- 8) Johnson EF, Palmer CN, Griffin KJ, Hsu MH. Role of the peroxisome proliferator-activated receptor in cytochrome P450 4A gene regulation. *FASEB J.* 1996 Sep;10(11):1241-8.
- 9) Erhmann J. Jr, Vavrusova N., Collan Y., Kohlar Z Ppars in health and diseases. *Biomed Paper* 146, (2) 11-14, (2002).
- 10) Stagnaro Sergio, Stagnaro-Neri Marina. Introduzione alla Semeiotica Biofisica. Il Terreno oncologico”. Travel Factory SRL., Roma, 2004. http://www.travelfactory.it/semeiotica_biofisica.htm
- 11) Kliewer SA, Lehmann JM, Wilson TM Orphan nuclear receptors: shifting endocrinology into reverse. *Science* 284, 757–760. 1999.
- 12) Isseman I, Green S Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators. *Nature* 347, 645–650, 1990.