



**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PALERMO
FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA**

**DOTTORATO DI RICERCA IN FISIOPATOLOGIA DEL METABOLISMO: LIPIDI E LIPOPROTEINE
XXIII Ciclo**

Coordinatore: Prof. M. Averna

**OSSIDAZIONE LIPIDICA E PROTEICA,
STATO ANTIOSSIDANTE TOTALE
E METABOLITI STABILI DEL NITROSSIDO
IN PAZIENTI CON SINDROME METABOLICA**

**Tesi di Dottorato della:
Dott.ssa DANIELA LUCIDO**

**Tutor:
Prof. GREGORIO CAIMI**

**Co-tutor:
Prof. ROSALIA LO PRESTI**

TRIENNIO ACCADEMICO 2009-2011

INTRODUZIONE

La sindrome metabolica (SM) è una patologia multifattoriale rappresentata dall'associazione di più fattori di rischio cardiovascolare, quali il diabete mellito e l'insulinoresistenza, l'obesità, la dislipidemia e l'ipertensione arteriosa.

Numerosi studi hanno dimostrato che questi fattori di rischio sono frequentemente associati, ma la fisiopatologia delle loro interazioni non è ancora del tutto chiarita.

Inoltre la prevalenza e le interazioni di queste componenti sono spesso diverse nei due sessi, nelle varie fasce di età ed anche nei diversi gruppi etnici.

La definizione di SM nel corso degli anni si è evoluta dalla descrizione originale.

Fin dal 1600 ad opera di un Autore olandese fu descritta l'associazione tra ipertrigliceridemia, obesità e tendenza al sanguinamento, forse attribuibile alla ipertensione (1).

Dopo 250 anni l'associazione fra disordini metabolici in varie combinazioni è stata ripresa da Morgagni, che ha parlato di obesità viscerale, ipertensione, iperuricemia, aterosclerosi e sindrome delle apnee ostruttive notturne (2).

Nel 1923 Kylin ha descritto la coesistenza di ipertensione, iperglicemia ed iperuricemia in alcuni soggetti ipertesi (3).

Negli anni 50 Vague ha suggerito che l'obesità androide porta verso il diabete e l'aterosclerosi. Nei soggetti obesi, infatti, la secrezione di insulina e cortisolo risulta correlata a questo fenotipo di obesità (4).

La scuola padovana negli anni 60 ha introdotto il termine di "sindrome plurimetabolica" per descrivere la coesistenza di anomalie metaboliche come l'iperlipidemia, l'obesità, il diabete e l'ipertensione (5).

Haller e coll. nel 1977 hanno adoperato il termine “sindrome metabolica” e ne hanno descritto l’associazione con l’aterosclerosi (6).

In seguito sono state utilizzate diverse definizioni per indicare l’aggregazione di più disordini metabolici nello stesso individuo: “sindrome X” (Reaven 1988), “quartetto mortale” (Kaplan 1989), “sindrome dell’insulinoresistenza” (De Fronzo e Ferrannini 1991) (7,8).

La prima definizione operativa di SM è data dal World Health Organization (WHO) Working Group on Diabetes nel 1998, e modificata nel 1999: la SM viene definita dalla presenza di diabete di tipo 2 o ridotta tolleranza al glucosio, insieme ad almeno altri due dei seguenti fattori quali ipertensione, iperlipidemia, obesità e microalbuminuria. In caso di normale tolleranza al glucosio, viene considerata l’insulinoresistenza misurata con la valutazione del più basso quartile della misura di insulinosensibilità o dal più alto quartile dell’insulina a digiuno, o dal modello di valutazione omeostatica dell’indice di insulinoresistenza (HOMA). La definizione di obesità è basata sull’indice di massa corporea o sul rapporto della circonferenza della vita/fianchi (9).

Nel 2001, il report del National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III (ATP III) ha suggerito che non c’è sufficiente evidenza scientifica per raccomandare la misura routinaria o la determinazione della glicemia 2 ore dopo stimolazione, ed ha quindi incluso semplicemente la valutazione della glicemia a digiuno rispetto ai criteri del WHO. La definizione di SM secondo l’ATP III, richiede che siano soddisfatti, almeno 3 dei seguenti 5 fattori: aumento della circonferenza della vita (>102 cm nei maschi e >88 cm nelle donne), elevati livelli di trigliceridi (>150 mg/dl o terapia ipotrigliceridemizzante in atto), basso colesterolo

HDL (<40 mg/dl negli uomini e <50 mg/dl nelle donne), elevati livelli di pressione arteriosa (>130/85 mmHg o trattamento antipertensivo in atto), e glicemia a digiuno > 110 mg/dl (o trattamento ipoglicemizzante in atto) (10). In una revisione successiva la soglia della glicemia è stata ridotta a 100 mg/dl (11).

Una peculiarità comune ad entrambe le definizioni del WHO e dell'ATP III è l'inclusione di individui diabetici, mentre la definizione di sindrome da insulino-resistenza adottata dall'American Association of Clinical Endocrinologists (AACE) e dallo European Group for the study of Insulin Resistance (EGIR) (12,13) include individui con ridotta tolleranza al glucosio, ma esclude i diabetici.

Questi ultimi criteri rappresentano una miscela dei criteri del WHO e dell'ATP III e non specificano un numero definito di fattori di rischio per la diagnosi, che dipende quindi dal giudizio clinico.

Gli studi svolti sinora hanno dimostrato che utilizzando le definizioni del WHO e dell'ATP III vi è una buona sovrapposizione nell'identificazione di individui con SM (14).

La più recente definizione di SM risale al 2005 ad opera dell'International Diabetes Federation (IDF) (15), e richiede la presenza dell'obesità addominale con cut-off diversi a seconda del gruppo etnico di appartenenza. Per i pazienti caucasici l'obesità addominale è definita da una circonferenza della vita >94 cm per gli uomini e >80 cm per le donne. Oltre a questo criterio è necessaria la presenza di almeno altri due tra i seguenti fattori: trigliceridi >150 mg/dl o terapia ipotrigliceridemizzante, pressione arteriosa > 130/85 mmHg o terapia antipertensiva, glicemia >100 mg/dl o pregressa diagnosi di diabete tipo 2, livelli di colesterolo HDL <40 mg/dl negli uomini e <50 mg/dl nelle donne o terapia ipolipemizzante.

Lo scopo primario dell'IDF è di fornire criteri facilmente applicabili alla pratica clinica per definire soggetti ad elevato rischio cardiovascolare e di diabete mellito di tipo 2.

Viene ribadita l'importanza dell'insulinoresistenza, ma non ne viene richiesta la presenza, mentre diventa un criterio necessario l'obesità addominale per la sua correlazione con gli altri parametri della SM e l'insulinoresistenza.

Epidemiologia

La prevalenza della SM aumenta con l'aumentare dell'età. Le diverse prevalenze della SM in soggetti anziani di varie popolazioni risentono delle abitudini e degli stili di vita e della esposizione a fattori di rischio metabolici.

La frequenza di sovrappeso e obesità, diabete di tipo 2, insulinoresistenza, ipertensione e alterazioni del profilo lipidico aumenta con l'età, in parte per effetto delle variazioni della composizione corporea, con un incremento della massa grassa e una diminuzione della massa magra (16).

L'incremento dell'insulinoresistenza si registra fino all'età di 80 anni, per ridursi negli ultraottuagenari. Diversi elementi sono coinvolti nell'incremento della insulinoresistenza età correlato, come la riduzione della massa magra e l'aumento della massa grassa addominale, modificazioni che sono più rilevanti nelle donne che negli uomini. La massa magra muscolare è il principale utilizzatore di glucosio e la sua riduzione comporta un suo minor utilizzo.

La circonferenza addominale nei soggetti anziani correla in modo significativo con l'insulinoresistenza (17) e questo determina, come sottolineato dall'International Diabetes Federation, che l'insulinoresistenza è conseguenza dell'obesità viscerale.

Sono inoltre coinvolti nell'aumento dell'insulinoresistenza le variazioni comportamentali, in particolare la riduzione dell'attività fisica e le modificazioni dietetiche quasi sempre riferibili ad un eccesso calorico; le modificazioni neuroormonali legate all'età, tra cui la riduzione di ormoni anabolici, quali l'insulin-like growth factor-1 e il deidroepiandrosterone solfato; l'incremento dei radicali liberi plasmatici, conseguente a una riduzione dei meccanismi antiossidanti (18).

Indipendentemente dal criterio usato per definirla, la prevalenza della SM è elevata negli Stati Uniti e in Europa (20-40%) mentre risulta essere bassa in Asia (10-30%) (19, 20).

Studi di popolazione hanno infatti dimostrato che la prevalenza e le caratteristiche fisiologiche della SM sono diverse tra anziani appartenenti a vari gruppi etnici.

I dati ricavati dal Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III) 1999-2002, studio condotto su popolazione americana in centri distribuiti uniformemente nel territorio statunitense con lo scopo di determinare lo stato nutrizionale e di salute nella popolazione non istituzionalizzata, hanno dimostrato che la prevalenza della SM (utilizzando i criteri ATP III) aumenta dalla classe di età 20-29 anni fino a quella 60-69 anni. La prevalenza della SM tra soggetti di età compresa tra i 60 e i 69 anni è di circa il 44% e mostra una lieve diminuzione negli ultrasettantenni di entrambi i sessi (21).

Da questo studio emerge inoltre che nella popolazione di età superiore ai 50 anni la prevalenza della SM, corretta per età, è associata al controllo glicemico. Infatti, nei soggetti normoglicemici la prevalenza è del 26%, nei soggetti con IGT è intorno al 33%, nei soggetti con alterata glicemia a digiuno è maggiore del 71%, e nei soggetti diabetici è pari all'86%.

I soggetti diabetici con SM sono risultati essere quelli a più elevato rischio cardiovascolare e mostrano una prevalenza di patologia vascolare del 19,2%, maggiore di quella degli altri gruppi: 8,7% in soggetti senza SM e diabete, 7,5% in soggetti senza SM ma con diabete, 9% in soggetti con sola SM (22).

Negli anni '80, lo studio di Kuopio ha valutato 1069 soggetti non diabetici di età compresa tra i 65 e i 74 anni per un periodo di sette anni. Le componenti della SM hanno dimostrato di essere predittori di eventi coronarici negli uomini, e di rappresentare un fattore di rischio per lo sviluppo di patologia coronarica, anche negli anziani affetti da diabete di tipo 2 (23).

Popolazioni asiatiche sono state valutate in diversi studi e hanno contribuito a delineare la necessità di definire cut-off diversi secondo il gruppo etnico in esame.

Studi condotti in Corea, in campioni rappresentativi della popolazione ultrasessantenne, dimostrano che la prevalenza di SM, valutata secondo i criteri dell'ATP III, è intorno al 20% tra gli uomini e superiore al 50% nelle donne. L'obesità addominale è risultata pari al 15% negli uomini e al 55% nelle donne, l'ipertensione arteriosa del 60% tra gli uomini e del 70% tra le donne. La prevalenza di ipertrigliceridemia, è risultata del 30% tra gli uomini e del 35% tra le donne. Tra le donne coreane l'aumento del rapporto della circonferenza vita/fianchi è dovuto soprattutto ad un aumento della circonferenza della vita, mentre negli uomini è causato da una diminuzione non proporzionale della circonferenza dei fianchi rispetto a quella della vita.

La popolazione coreana, è diversa dalla popolazione caucasica per quel che riguarda l'insulinoresistenza e il rischio cardiovascolare. Infatti, da studi di confronto con altre popolazioni è emerso che nella popolazione coreana, tra i fattori eziologici del

diabete mellito prevale l'alterata secrezione insulinica più dell'insulinoresistenza (24, 25).

L'insulinoresistenza rappresenta un fattore di rischio per aterosclerosi e malattia coronarica aterosclerotica nei paesi occidentali, mentre in Corea, sono più diffusi la cardiopatia ipertensiva e l'ictus, specialmente nella popolazione anziana, come confermato anche da studi condotti su coreani immigrati negli Stati Uniti.

Studi condotti nelle Filippine (26), in Giappone (27, 28) e nel Sud-Est asiatico (29), hanno evidenziato che le popolazioni asiatiche sono più soggette allo sviluppo di alterazioni metaboliche, rispetto alle popolazioni caucasiche.

Nell'Honolulu Heart Program sono stati valutati 3562 anziani maschi, di età compresa tra i 71 e i 93 anni, di origine giapponese. I maschi non diabetici con ictus tromboembolico hanno dimostrato una prevalenza doppia di iperinsulinemia rispetto a quelli senza ictus. Lo stato di iperinsulinemia e/o di insulinoresistenza sembra discriminare anziani con diverso rischio cardiovascolare ed essere un marker di stato aterogeno e/o tromboembolico (30).

In letteratura vi sono poche segnalazioni riguardanti la prevalenza della SM nella popolazione generale italiana, ancora meno per quanto riguarda quella anziana. Vi sono inoltre pochi dati riguardanti le relazioni tra la SM e le malattie cardiovascolari nell'anziano.

Si stima che circa il 15 % della popolazione adulta italiana, pari a più di 7 milioni di individui, è affetto da SM.

Miccoli e collaboratori hanno descritto la prevalenza della SM in 2100 soggetti adulti italiani di età superiore a 19 anni, appartenenti alla popolazione generale di Lucca. La prevalenza della SM è risultata pari al 18% nelle donne e al 15% negli uomini.

Tale prevalenza aumentava dal 3% nei soggetti di età compresa fra 20-29 anni fino al 25% nei soggetti di 70 anni e più (31).

Nell'Italian Longitudinal Study on Aging (Studio ILSA) la prevalenza della SM in 5632 soggetti italiani di età compresa tra i 65 e gli 84 anni è diversa tra uomini e donne: 31% tra gli uomini e 59% tra le donne, secondo i criteri dell'ATPIII. Le due componenti che determinano questa differenza sono i bassi livelli di HDL-colesterolo, presenti nel 56% delle donne e nel 23% degli uomini, e l'obesità addominale, presente nel 75% e nel 30%, rispettivamente.

L'obesità viscerale, inoltre, raddoppia il rischio di sviluppare diabete di nuova insorgenza, nei 4 anni di follow-up dello studio ILSA, in entrambi i sessi (32).

La prevalenza di malattie cardiovascolari, in particolare la cardiopatia ischemica, nello studio ILSA, risulta significativamente più elevata nei soggetti con SM rispetto ai soggetti senza SM.

Mentre negli studi epidemiologici condotti su popolazioni giovani-adulti, in genere si trova una prevalenza di SM più elevata negli uomini rispetto alle donne, negli anziani al contrario la prevalenza risulta più elevata nel sesso femminile. Questo potrebbe essere spiegato da una mortalità selettiva dei maschi con SM nelle fasce di età più giovani. Gli uomini con SM hanno, infatti, un rischio di mortalità cardiovascolare significativamente incrementato (32-34).

L'aumentata prevalenza della SM è attribuibile in gran parte all'aumento dell'obesità tra gli adulti. Ma ciò che, in prospettiva, è ancora più rilevante e preoccupante è l'incremento dell'obesità infantile: nella prima età, il sovrappeso infatti è in costante e rapida crescita negli ultimi anni e l'obesità infantile predispone all'obesità in età adulta.

Fisiopatologia

Com'è noto l'obesità è un fattore di rischio maggiore ed indipendente sia per il diabete mellito che per le malattie cardiovascolari e l'aumento della prevalenza della SM sembra essere correlato con l'aumentata prevalenza dell'obesità (35, 36).

La disfunzione del tessuto adiposo svolge quindi un ruolo centrale nell'insorgenza di insulinoresistenza, dislipidemia, steatosi epatica, cardiomiopatia e aterosclerosi (37).

In soggetti predisposti geneticamente essa pare svilupparsi con il contributo di fattori ambientali, quali la dieta e l'attività fisica, determinando l'insorgenza di SM per un insufficiente deposito di lipidi e un'alterata produzione di adipochine e citochine.

Il tessuto adiposo, in particolare quello che circonda i visceri, non è più considerato un semplice deposito di sostanze energetiche, ma un vero e proprio laboratorio biochimico. È ampiamente riconosciuto infatti che il tessuto adiposo sia un organo endocrino capace di produrre una vasta gamma di ormoni e citochine implicate nel metabolismo del glucosio (adiponectina, resistina), dei lipidi (cholesteryl ester transfer protein), dell'infiammazione (TNF- α , IL-6, IL-1), della coagulazione (PAI-1), nella regolazione della pressione ematica (angiotensinogeno, angiotensina 2), nel comportamento alimentare (leptina) e quindi nel mantenimento della composizione corporea. Anche se i meccanismi non sono ancora completamente chiariti, la ricerca pone l'attenzione sull'asse adipociti-cellule endoteliali, dalla cui corretta funzione sembra derivare un importante controllo dell'omeostasi vascolare.

Il tessuto adiposo, fisiologicamente, capta le lipoproteine nel periodo post-prandiale e rilascia lentamente acidi grassi durante il digiuno. Lo switching tra i due stati è regolato da ormoni, quali insulina e catecolamine, e nutrienti, quali glucosio ed acidi grassi (38).

La causa più comune di insufficienza del tessuto adiposo è rappresentata dall'aumentata richiesta di storage di lipidi, correlata a un'eccessiva alimentazione (disfunzione primaria). Altre possibili condizioni associate sono il diabete mellito di tipo 1, la PCOS e la lipodistrofia (39, 40).

Nella SM, le cellule adipose sono resistenti all'azione antilipolitica dell'insulina, il che comporta un innalzamento persistente nell'arco della giornata dei livelli circolanti di acidi grassi liberi (FFA). L'aumento cronico dei livelli plasmatici di FFA stimola la neoglucogenesi epatica, induce insulinoresistenza a livello muscolare ed epatico (ciclo di Randle) e altera la secrezione insulinica. Gli adipociti ipertrofici sono insulinoresistenti ed hanno una ridotta capacità di mettere in riserva altri grassi, si realizza così una deviazione della sintesi di trigliceridi verso le cellule muscolari ed epatiche e probabilmente verso anche verso le beta-cellule pancreatiche, con possibile aumento della resistenza muscolare ed epatica all'azione insulinica e ulteriore alterazione della secrezione insulinica. Per motivi non completamente chiariti, la popolazione macrofagica residente del tessuto adiposo può attivarsi e inviare segnali infiammatori all'endotelio vascolare. L'insulto infiammatorio sbilancia l'emostasi verso uno stato pro-trombotico che predispone ad eventi ischemici coronarici e cerebrali. L'incrementata disponibilità di acidi grassi liberi riduce nei tessuti periferici l'utilizzo di glucosio e stimola la sintesi epatica di apoB-lipoproteine, determinando lo sviluppo di dislipidemia. Nell'obesità la dislipidemia aterogena deregola la produzione del tessuto adiposo delle adipochine, implicate nel dispendio energetico e promuove un circolo vizioso tra stress ossidativo, infiammazione ed alterazione della funzione endoteliale. La dislipidemia rappresenta

la tipica manifestazione clinica dell'insufficienza del tessuto adiposo ed è un fattore di rischio cardiovascolare.

Attualmente si ritiene che la disfunzione endoteliale e l'insulinoresistenza siano due fenomeni paralleli sostenuti da difetti molecolari simili. È ampiamente validato che l'insulinoresistenza e la iperglicemia predispongono l'endotelio ad uno stato protrombotico e proinfiammatorio. In particolare, a livello delle cellule endoteliali, l'iperglicemia causa una riduzione dell'attivazione della via delle fosfatidilinositolo3(P13)-chinasi, della nitrossido sintasi endoteliale (eNOS) ed attivazione della chinasi proteica C (PKC). L'attivazione della PKC, in particolare, stimola la produzione del fattore di crescita endoteliale vascolare ed aumenta la produzione di diverse citochine di matrice extracellulare, dell'inibitore dell'attivatore del plasminogeno ad azione fibrinolitica e dell'endotelina 1 (ET-1). Inoltre il significativo stato ossidativo che si riscontra nella SM supporta una cascata di eventi che comportano, nelle cellule endoteliali, riduzione della biodisponibilità di ossido nitrico (NO) perché convertito in perossinitrito, ulteriore aumento di citochine proinfiammatorie (IL-6, IL-1b e TNF- α), del fattore di crescita endoteliale (VEGF) così come del fattore di crescita trasformante (TGF- β). La contemporanea overproduzione dei prodotti finali della glicazione non enzimatica di proteine intra ed extracellulari (advanced glycation end products, AGEs) amplifica lo stress ossidativo tramite il legame dell'NADPH-ossidasi con recettori specifici per gli AGEs. Viene così modificato il rapporto tra NO ed ET-1, si favorisce la vasocostrizione, aumenta l'interazione tra cellule endoteliali/macrofagi e si predispone la condizione di infiammazione vascolare. L'incremento dello stato ossidativo inoltre facilita i meccanismi di ossidazione delle LDL, con formazione delle ox-LDL, che sono in

grado di penetrare negli strati subendoteliali dove attivano i monociti, trasformandoli in macrofagi e successivamente, in cellule schiumose, contribuendo così alla formazione della placca aterosclerotica.

Le ox-LDL, inoltre hanno effetti citotossici sull'endotelio, stimolano la produzione di diversi fattori di crescita cellulare e di molecole di adesione e favoriscono la trombogenesi attivando e potenziando l'aggregazione piastrinica. Recenti evidenze sperimentali hanno sottolineato che la carenza o i bassi livelli di grelina, peptide orossizzante di derivazione gastrica, che si riscontrano nei soggetti con SM, può essere implicata nel danno endoteliale che si instaura in soggetti affetti da tale sindrome. Si suppone che l'effetto benefico della grelina sull'endotelio vascolare possa essere mediato da un'aumentata disponibilità di NO conseguente sia all'azione prevalentemente antinfiammatoria esercitata dal peptide gastrico sia ad un suo effetto sul segnale insulinico diretto alle cellule endoteliali. È pertanto possibile che strategie volte ad aumentare i livelli circolanti di grelina possano contribuire ad un controllo del processo aterogeno (41).

Stress ossidativo

La SM è caratterizzata da uno squilibrio tra stato ossidante e antiossidante e da una flogosi subclinica, corresponsabili dello sviluppo di aterosclerosi.

Alcuni autori ritengono che lo stress ossidativo (SO) sia implicato nell'etiopatogenesi della stessa SM, in quanto diversi fattori inclusi in essa, quali iperglicemia e stato proinfiammatorio, conducono ad un'aumentata produzione di specie reattive dell'ossigeno (42).

Il principale radicale libero dell'ossigeno è l'anione superossido (O_2^-), prodotto in massima parte dalla NADPH ossidasi. In condizioni fisiologiche la produzione di nitrossido (NO) supera quella di O_2^- e questo viene rapidamente neutralizzato dagli enzimi antiossidanti. In caso di disfunzione endoteliale la produzione di O_2^- è maggiore, motivo per il quale esso reagisce con l'NO per produrre perossinitrito, che induce la cascata di produzione dei ROS e l'ossidazione di glucidi, proteine e lipidi, con conseguente ridotta biodisponibilità di NO (43). I livelli di NO, ridotti in pazienti con disordini metabolici, risultano negativamente correlati con BMI, valori tensivi arteriosi e trigliceridemia (44).

Numerose evidenze suggeriscono che specie reattive dell'ossigeno (ROS) e specie reattive del nitrogeno (RNS) partecipino al processo di invecchiamento e alle patologie età-correlate, come aterosclerosi e malattie neurodegenerative. Le proteine sono il principale target di ROS e RNS perché si trovano in grandi quantità nei sistemi biologici e perché sono responsabili di molti processi funzionali all'interno delle cellule. Si stima che le proteine possano rimuovere la maggior parte (50%-75%) delle specie reattive generate. Gli AOPP, prodotti di ossidazione avanzata delle proteine plasmatiche (soprattutto albumina), non hanno proprietà ossidanti, ma sono considerati markers di stress nitrosativo. L'esposizione delle proteine a ROS e RNS può alterare la struttura proteica ad ogni livello causandone variazioni sia direttamente che indirettamente, ad esempio per reazione con prodotti secondari della perossidazione lipidica.

La perossidazione lipidica genera una varietà di composti finali relativamente stabili, come malonildialdeide (MDA), idrossinonenale (HNE) e isoprostani. Modificazioni degli aminoacidi ad opera delle aldeidi α/β -insature si verificano principalmente a

livello dei residui nucleofili di cisteina, istidina e lisina. Il danno alla struttura proteica può determinare il clivaggio della struttura primaria della proteina, fenomeni di cross-linking o modificazioni della catena di ogni aminoacido. Le modificazioni proteiche ROS-indotte possono essere reversibili (S-nitrosilazione, metossidazione) o irreversibili come la carbonilazione. Vi sono diverse vie di ossidazione attraverso le quali si ottiene l'introduzione di gruppi carbonilici nelle proteine: i ROS possono determinare un'ossidazione diretta dei residui di lisina, arginina, prolina e treonina o possono reagire con glucidi e lipidi generando specie reattive carboniliche (RCS), quali ketoamine, ketoaldeidi, MDA, HNE e ONE, che successivamente interagiscono con le proteine (45). HNE e ONE possono legarsi a proteine nucleofile producendo prodotti che successivamente vanno incontro a reazioni di tautomerizzazione, ossidazione, deidratazione e talora condensazione con una seconda molecola di aldeide, generando i prodotti terminali stabili di lipossidazione avanzata (ALE) (46). Nella maggior parte dei casi il danno alla struttura proteica è irreversibile e tale da comportare un'inibizione dell'attività enzimatica, un'aumentata suscettibilità all'aggregazione e alla proteolisi ed un alterato uptake cellulare. Il principale destino delle proteine ossidate è il catabolismo da parte di proteasomi e lisosomi, ma alcune proteine funzionalmente inattive sono scarsamente degradate, formando aggregati proteici e accumulandosi all'interno delle cellule o nello spazio extracellulare. I prodotti carbonilici si accumulano durante l'aging, l'ischemia/riperfusion, l'infiammazione cronica ed altre malattie età-correlate (45,47,48). In letteratura sono presenti pochi dati riguardanti la carbonilazione proteica in soggetti con SM, mentre è evidente l'associazione tra le varie componenti della SM e i markers di danno ossidativo.

Fisiologicamente le cellule presentano dei meccanismi di difesa nei confronti dello SO, messi in atto dai sistemi antiossidanti enzimatici (superossido dismutasi, catalasi, glutatione perossidasi) e non enzimatici (beta-carotene, alfa-tocoferolo). Quando la produzione di ROS aumenta in modo considerevole questi sistemi divengono insufficienti e l'equilibrio tra fattori ossidanti ed antiossidanti si sposta a favore dei primi.

Nella SM si osserva una significativa riduzione dello stato antiossidante totale (TAS), come risultato di una minore attività enzimatica e di bassi livelli di vitamine C ed E (42, 49). All'aumentare delle componenti della SM si rilevano un progressivo decremento del TAS ed un progressivo incremento dei perossidi e di indicatori di SO (50).

Di seguito vengono presi in esame alcuni parametri dello SO delle componenti (diabete mellito, ipertensione arteriosa, obesità, dislipidemia) che caratterizzano la SM e l'infiammazione.

Diabete

E' stato ipotizzato che l'aumentata variazione delle proteine ad opera di carboidrati e lipidi nel diabete mellito sia dovuta a vie metaboliche coinvolte nella detossificazione delle specie reattive carboniliche formatesi sia per reazioni ossidative che non ossidative (51), distinguendo quindi lo stato ossidativo dallo stress carbonilico.

In modelli animali la somministrazione di una sostanza antiossidante (stobadina) riduce i livelli plasmatici di gruppi sulfidrilici e i livelli di proteine carboniliche e AOPP nel tessuto epatico, lasciando inalterati i valori di N-tirosine. La stobadina non

determina tuttavia alcuna variazione della glicemia e del controllo glicometabolico, il che suggerisce il ruolo pro-ossidante dell'iperglicemia (52).

L'elevata glicemia può aumentare il danno da glicazione ed ossidazione delle proteine plasmatiche e cellulari. La glicazione delle proteine, che porta alla formazione degli AGE, è spesso mediata da agenti prodotti dalla glicazione delle proteine e dalla perossidazione lipidica, come gli α -dicarbonili (gliosale e metilgliosale). Markers di SO a carico delle proteine sono anche la metionina sulfossido e la N-formil-kinurenina, derivati rispettivamente dall'ossidazione di metionina e triptofano (53). Nei soggetti diabetici si osserva una concentrazione di residui modificati mediante glicazione, ossidazione e nitrosilazione tre volte maggiore nelle proteine plasmatiche e doppia nell'emoglobina rispetto ai volontari sani (54). Riducendo l'iperglicemia post-prandiale utilizzando l'insulina lispro è stata osservata una riduzione dei livelli plasmatici dei prodotti di glicazione e della carbossi-metil lisina derivata dal gliosale (53).

AOPP e proteine carbonilate presentano valori elevati in soggetti con scarso compenso glicometabolico rispetto ai diabetici ben controllati (55).

Elevati livelli di AOPP plasmatici si riscontrano soprattutto nei diabetici di tipo 2, direttamente correlati ai livelli di trigliceridi (56) e maggiori in quelli con complicanze cardiovascolari rispetto a senza complicanze (57,58). AOPP e gruppi reattivi carbonilici presentano concentrazioni plasmatiche ed urinarie più elevate in diabetici di tipo 2 nefropatici ed i valori di AOPP risultano correlati all'albuminuria ed alla progressione del danno renale (59).

Il deposito glomerulare di AOPP in modelli animali determina apoptosi dei podociti mediante l'attivazione dell'NADPH ossidasi e della via delle caspasi, favorendo e soprattutto accelerando la glomerulosclerosi (60).

Gli AOPP sono chiamati in causa anche nello sviluppo della retinopatia diabetica (61).

Ipertensione arteriosa

E' stato considerato l'impatto della SM sullo SO e sull'attività degli enzimi antiossidanti in soggetti ipertesi. Sono stati studiati soggetti con SM normotesi e sono stati valutati il rapporto glutazione ossidato/ridotto, i prodotti della perossidazione lipidica ROS-indotti, la MDA, il danno al DNA genomico e mitocondriale ed inoltre l'attività plasmatica della superossido dismutasi (SOD), della catalasi (CAT) e della glutazione perossidasi (GSH-Px) in eritrociti emolizzati (62). Questa ricerca ha evidenziato che lo SO e l'attività degli enzimi antiossidanti non variano in modo significativo se all'ipertensione si aggiungono altre componenti della SM, quali i livelli delle LDL, dei trigliceridi e della glicemia; l'ipertensione costituisce quindi un fattore essenziale nello sviluppo dello SO e della disfunzione endoteliale.

L'ADMA, oggi annoverata tra le adipochine, è un inibitore della NOS e risulta aumentata, oltre che nell'ipercolesterolemia, nell'insulinoresistenza e nel diabete mellito, anche nell'ipertensione arteriosa. È correlata con lo spessore medio-intimale della carotide e la sua somministrazione nell'uomo riduce la compliance vascolare e aumenta la ritenzione di sodio (63).

Un recente studio ha dimostrato che una maggiore concentrazione plasmatica di specie reattive carboniliche si associa allo sviluppo di pre-ipertensione ed ipertensione, con una correlazione significativa tra RCS e valori tensivi arteriosi (64), suggerendo che lo SO ha un suo peso nello sviluppo dell'ipertensione. E' stato ipotizzato inoltre un ruolo delle specie reattive carboniliche e delle tiol-proteine ossidate nella genesi e nel mantenimento dell'ipertensione renovascolare (65-67). Altri autori ritengono invece che lo SO sia una conseguenza dell'ipertensione stessa, legato alla alterata attività dei sistemi enzimatici antiossidanti (68). In soggetti con ipertensione al primo stadio è stato osservato un incremento delle proteine carboniliche plasmatiche associato ad una riduzione delle difese antiossidanti, in particolare del glutatione ridotto (69). Simic e coll. hanno evidenziato un danno ossidativo proteico in tutti gli stadi dell'ipertensione ed una diretta correlazione tra i valori tensivi arteriosi e gli indicatori di SO (68). In soggetti affetti sia da ipertensione arteriosa sostenuta che da "ipertensione da camice bianco" sono stati evidenziati elevati valori di proteine carbonilate, senza differenze tra le due forme (70). Il trattamento con antipertensivi, quali perindopril e idroclorotiazide, ha ridotto nel giro di 45 giorni i livelli di proteine carbonilate in soggetti anziani ipertesi, incrementando parallelamente l'attività di superossido dismutasi e catalasi ed i livelli di NO, con benefici quindi sulla funzione endoteliale (71).

Obesita'

Nei soggetti obesi elevati livelli di AOPP correlano con l'obesità centrale, la trigliceridemia, i lipoperossidi e l'insulinemia e si riducono con la riduzione di peso (72). In un modesto gruppo di soggetti obesi sono state dimostrate elevate

concentrazioni di proteine carbonilate nel tessuto adiposo del sottocute, direttamente correlate con l'adiposità e la concentrazione plasmatica di acidi grassi liberi (FFA) (73). In donne obese sono stati riscontrati valori plasmatici di AOPP assai elevati rispetto ai controlli, e ancora più elevati in quelle affette anche da diabete mellito e correlati ai livelli di resistina, TNF- α ed IL-6, suggerendo una relazione tra insulinoresistenza, SO e infiammazione (74). In adolescenti obesi Atabek e coll. (75) hanno riscontrato valori elevati di AOPP nei soggetti con insulinoresistenza rispetto a quelli non insulinoresistenti, sebbene le differenze non fossero statisticamente significative. Uzun e coll. (76) hanno invece dimostrato una correlazione positiva tra proteine carbonilate plasmatiche, HOMA index e BMI in soggetti obesi ed anche una loro riduzione dopo bendaggio gastrico. Soggetti sottoposti a chirurgia bariatrica mostrano una riduzione dei gruppi carbonilici con la perdita di peso ed il miglioramento dei parametri metabolici (77). Anche la riduzione di peso attraverso la restrizione calorica ed un'attività fisica adeguata si accompagna alla diminuzione di vari parametri dello SO, quali TBARS, nitrotirosine e proteine carbonilate (78). Si è notato che l'assunzione di succo di mandarino, ricco di antiossidanti (flavonoidi, vitamina C e carotene), concorre alla riduzione di gruppi carbonilici e MDA plasmatici in bambini obesi sottoposti a regime ipocalorico (79). Una ricerca su obesi con SM a regime dietetico controllato, ha evidenziato che i pazienti a cui veniva somministrata regolarmente la metformina presentavano dopo un anno riduzione di peso e della circonferenza vita associata ad una riduzione dei metaboliti dello SO/nitrossidante (carbonili, MDA, ditirosine e AOPP) e aumento dell'NO, con effetti favorevoli sulla funzione endoteliale (80).

Soggetti con SM alimentati con una dieta FFS (fast food style) mostrano un incremento postprandiale controllato di TBARS, MDA e HNE (81) mentre una dieta ricca in soia riduce invece i livelli di MDA ed aumenta il TAS, come è stato osservato in donne con SM in post-menopausa (82).

In soggetti con SM sottoposti a carico di grassi si registra l'incremento dei prodotti della perossidazione lipidica e di glutatione ossidato (GSSH), una riduzione di GSH e dell'attività di GSH-Px, GSH-reduttasi e GSH-trasferasi (83).

Anche nei bambini obesi con SM si osserva un decremento di α -tocoferolo e β -carotene, associato a basso TAS (84).

Lo SO nel grasso di deposito è un marker precoce di SM sia nell'uomo che in modelli animali e lo stato ossido-riduttivo del tessuto adiposo può essere considerato un potenziale target terapeutico. Vi è una stretta correlazione tra grasso viscerale e SO valutato in termini di 8-epi-PGF2 α urinaria, anche in soggetti non obesi; il grasso viscerale può essere ritenuto quindi il principale determinante dell'epi prostaglandina F2 α urinaria, seguito da adiponectina e HS-CRP (85).

In soggetti non obesi e non diabetici la perossidazione lipidica correla al BMI, alla circonferenza addominale, ai livelli di TBARS e all'8-epi-PGF2 α (86).

Dislipidemia

L'iperlipidemia, è spesso associata a SO ed infiammazione. Soggetti ipertrigliceridemicici con o senza SM sottoposti ad un carico di grassi presentano elevati livelli di lipoperossidi, proteine carbonilate e GSH ossidato, ma bassa attività di enzimi antiossidanti (87). In soggetti affetti da dislipidemia mista familiare si osservano aumentati markers di SO, quali GSH ossidato e 8-ossi-diidro-2-

deossiguanosina (8-oxo-dG), più elevati nei soggetti insulinoresistenti (88). L'8-oxo-dG è un indicatore di danno genomico ed è correlato in modo diretto con l'insulina e i trigliceridi e negativamente con l'HDL (89).

In soggetti con ipercolesterolemia familiare omozigote sono stati riscontrati livelli di MDA e proteine carbonilate più elevati rispetto a quelli eterozigoti e correlati direttamente con l'LDL-colesterolo, Lp(a) e spessore intima-media, quindi ad un maggiore rischio cardiovascolare (90).

Soggetti ipercolesterolemici presentano un incremento di TBARS e proteine carbonilate, soprattutto se portatori di polimorfismo genetico (Ala16Val) per la superossido-dismutasi (91). Gli AOPP correlano in modo diretto con i trigliceridi (92).

In ratti dislipidemicici a regime ipercalorico si è osservato un incremento di vari parametri di SO, quali MDA, nitrotirosine e proteine carbonilate, che si riducono dopo somministrazione dei derivati dell'acido eicosapentenoico (93). In conigli dislipidemicici, l'atorvastatina riduce i parametri dell'ossidazione proteica (94). Soggetti diabetici e dislipidemicici non trattati con statina presentano valori più elevati di gruppi carbonilici e MDA rispetto a quelli trattati con statina. I gruppi tiolici risultano inversamente correlati con l'apoproteina A-I (95).

Infiammazione

Il perossido d'idrogeno (H_2O_2) si ritrova solamente nel tessuto adiposo, il che suggerisce che esso sia il principale produttore di ROS. Il trattamento con un inibitore dell'NADPH ossidasi (difenileneiodonio o apocinina) riduce la produzione

di ROS, regola l'espressione di citochine e migliora il diabete mellito, l'iperlipidemia e la steatosi epatica (96).

SO e markers di flogosi risultano aumentati in obesi con SM più che in soggetti affetti da sola obesità. Lo SO sembra correlare in modo indipendente con grasso addominale, trigliceridi e LDL (97).

Si ritiene che le LDL ossidate, insieme ad alti livelli di TNF α e perossinitriti, determinino la prematura senescenza e l'apoptosi delle cellule endoteliali, contribuendo all'accelerato sviluppo di aterosclerosi. L'aumentata produzione di perossinitriti nelle cellule endoteliali sembra favorire i processi di invecchiamento cellulare.

La somministrazione di allopurinolo in pazienti con SM migliora la funzione endoteliale riducendo lo SO e lo stato infiammatorio; ciò sembra confermato dalla riduzione dei livelli di MDA e mieloperossidasi (98).

SCOPO DELLA RICERCA

Sulla base delle precedenti considerazioni, abbiamo studiato, in soggetti affetti da SM, la perossidazione lipidica valutata come concentrazione delle sostanze reattive all'acido tiobarbiturico, la carbonilazione delle proteine, lo stato antiossidante totale e i metaboliti dell'ossido nitrico (nitrito e nitrato). Questi parametri sono stati valutati nelle loro interrelazioni e inoltre sulla base della presenza o meno di diabete mellito.

SOGGETTI

Sono stati studiati 106 soggetti (45 F, 61 M) con SM diagnosticata mediante i criteri IDF (15). La casistica comprendeva 43 soggetti con diabete mellito di tipo 2 (14 F, 29 M) e 63 non diabetici (31 F, 32 M). L'età, le caratteristiche antropometriche, i valori della pressione arteriosa sistolica (PAS) e diastolica (PAD), e alcuni parametri metabolici sono riportati nella tabella 1.

Tabella 1

SM totali	Media \pm D.S.	range
Età (anni)	53,5 \pm 8,9	30 - 69
Circonferenza vita (cm)	106,7 \pm 11,2	86 - 135
BMI	32,21 \pm 4,53	22,5 - 45,2
PAS (mmHg)	132,1 \pm 16,3	100 - 210
PAD (mmHg)	81,2 \pm 9,9	50 - 110
Glicemia (mg/dl)	114,3 \pm 44,3	68 - 347
Colesterolo totale (mg/dl)	213,9 \pm 53,0	106 - 390
Colesterolo HDL (mg/dl)	40,4 \pm 10,8	14 - 80
Colesterolo LDL (mg/dl)	133,2 \pm 46,5	52,4 - 292,0
Trigliceridemia (mg/dl)	220,2 \pm 147,8	52 - 759

Il gruppo di controllo comprendeva 54 soggetti (19 F, 35 M) con età media 41,3 \pm 7,4 anni (range 30-63 anni), reclutati fra gli specializzandi e lo staff dell'ospedale.

Tali soggetti non presentavano le caratteristiche cliniche della SM.

METODICHE

I pazienti e i controlli, arruolati nello studio previo consenso informato, sono stati sottoposti ad un prelievo di sangue venoso al mattino a digiuno.

Come parametro della perossidazione lipidica è stata valutata la concentrazione delle sostanze reattive all'acido tiobarbiturico (TBARS). Tali sostanze si generano durante i processi di perossidazione ed includono fra l'altro i perossidi lipidici e la malonildialdeide. La determinazione dei TBARS è stata effettuata mediante fluorometria, utilizzando una curva standard ottenuta idrolizzando 8.2 µl di 1,1,3,3-tetrametossipropano con HCl, secondo la metodica descritta da Di Massimo e coll. (99).

La carbonilazione proteica, indice di perossidazione delle proteine, è stata valutata con metodica ELISA. I campioni contenenti proteine, reagivano infatti con il DNP (Dinitrofenilidrazine) e poi in modo non-specifico venivano lasciati aderire alle pareti dei pozzetti della piastra ELISA del test. Il DNP non legato ed i costituenti non proteici venivano lavati via. La proteina adsorbita è stata evidenziata dal complesso anticorpo anti-DNP-biotina-streptavidina recante una perossidasi che, dopo l'aggiunta del substrato, sviluppava il colore la cui intensità definisce le assorbanze dei singoli campioni. La relazione assorbanza-concentrazione veniva determinata dalla curva standard preparata con concentrazioni crescenti di albumina sierica ossidata con acido ipocloroso.

La produzione di NO è stata valutata mediante un micrometodo che rileva la concentrazione dei due prodotti finali dell'NO in vivo (nitrito e nitrito-NOx). Tale

determinazione si realizza in due tappe. Nella prima si ha la conversione del nitrato in nitrito con l'impiego della nitrato-reduttasi. Nella seconda, il nitrito viene convertito in un azocomposto di color rosso porpora misurabile fotometricamente (100).

La capacità antiossidante totale (TAS) è stata valutata mediante un metodo che si basa sulla capacità degli antiossidanti plasmatici di inibire l'ossidazione dell'acido 2,2-azinobis(3-etilbenzotialin-sulfonico) (ABTS) nel radicale corrispondente tramite una perossidasi. La concentrazione di questo radicale è stata poi ottenuta con lettura spettrofotometrica.

Analisi statistica

I risultati sono stati espressi come medie \pm D.S. Il confronto fra soggetti con SM e controlli, e fra pazienti con SM diabetici e non diabetici, è stato effettuato mediante il test t di Student per dati non appaiati. Il confronto fra controlli, pazienti con SM diabetici e pazienti con SM non diabetici è stato effettuato mediante analisi della varianza (ANOVA), con applicazione successiva del test di Bonferroni per confrontare ciascuna coppia di gruppi. Lo studio delle correlazioni è stato compiuto mediante la regressione lineare semplice.

RISULTATI

Le differenze fra i pazienti con SM affetti da diabete mellito e quelli non diabetici sono indicate nella tabella 2.

Tabella 2

	SM diabetici	SM non diabetici
Età (anni)	58,9 ± 6,0	49,7 ± 8,6 *
Circonferenza vita (cm)	114,4 ± 11,7	102,8 ± 8,8 *
BMI	33,2 ± 5,0	31,5 ± 4,2 #
PAS (mmHg)	136,0 ± 20,5	130,0 ± 13,3
PAD (mmHg)	79,6 ± 11,4	82,2 ± 8,9
Glicemia (mg/dl)	147,5 ± 54,2	92,2 ± 10,3 *
Colesterolo totale (mg/dl)	193,1 ± 53,1	228,0 ± 48,3 *
Colesterolo HDL (mg/dl)	41,4 ± 12,8	39,7 ± 9,3
Colesterolo LDL (mg/dl)	112,8 ± 39,7	147,9 ± 45,8 *
Trigliceridemia (mg/dl)	204,2 ± 150,9	231,0 ± 145,9

p < 0,05 * p < 0,001 vs SM diabetici (Student's t test)

Dall'analisi effettuata confrontando i parametri dello SO da noi considerati, risulta evidente che, rispetto ai volontari sani, nei soggetti con SM considerati in toto si evidenzia un significativo incremento del TBARS, delle proteine carbonilate e del NOx, ed una modesta anche se significativa riduzione del TAS. Tutti questi dati vengono riportati sia nella tabella 3 che nei rispettivi grafici di seguito presentati.

Tabella 3

	Controlli	SM totali
TBARS nmol/ml	5,93 ± 1,21	8,98 ± 0,72 *
PC nmol/mg prot,	0,424 ± 0,139	0,874 ± 0,157 *
NOx µM	28,07 ± 18,83	79,82 ± 29,22 *
TAS mM	0,986 ± 0,238	0,882 ± 0,223 #

p < 0,05 * p < 0,001 vs controlli (Student's t test)

Figura 1

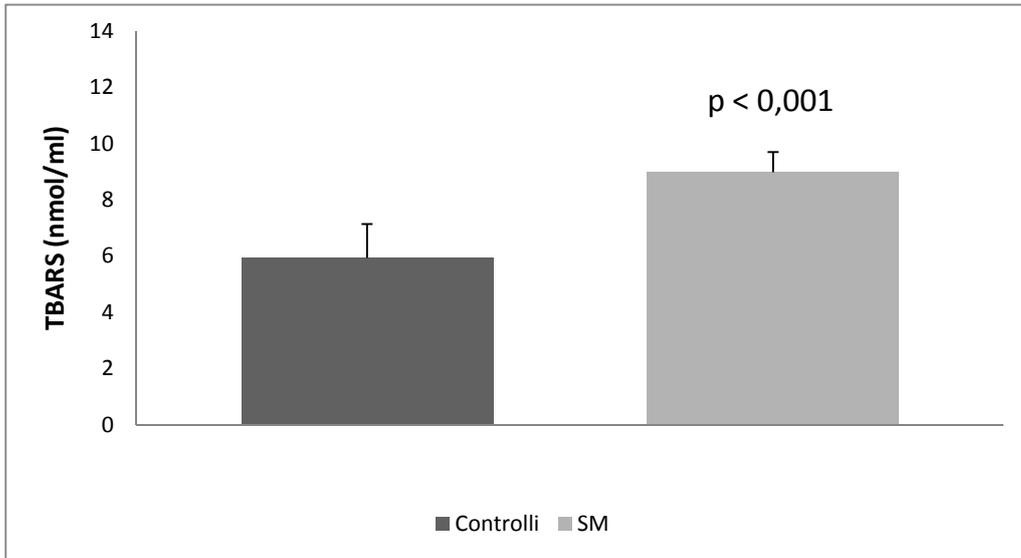


Figura 2

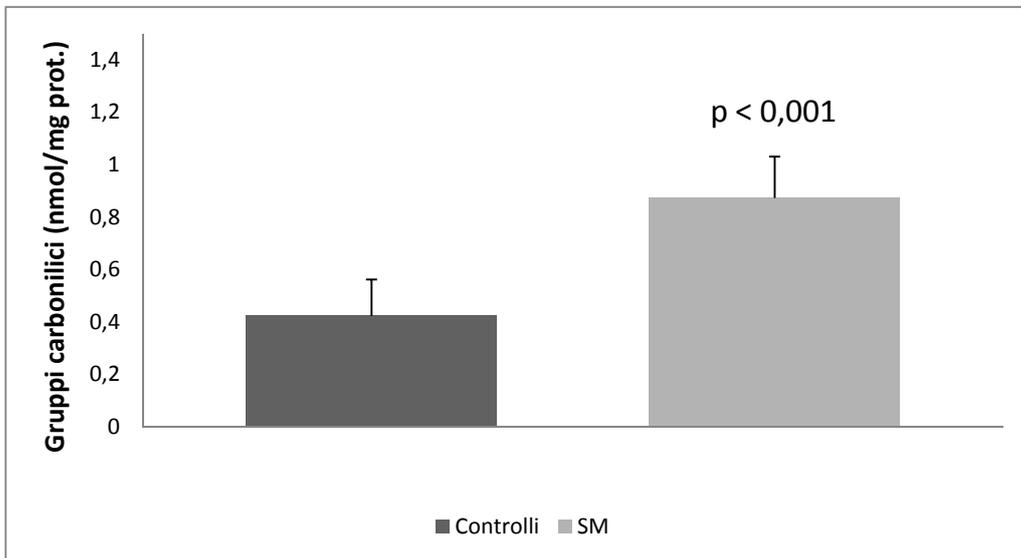


Figura 3

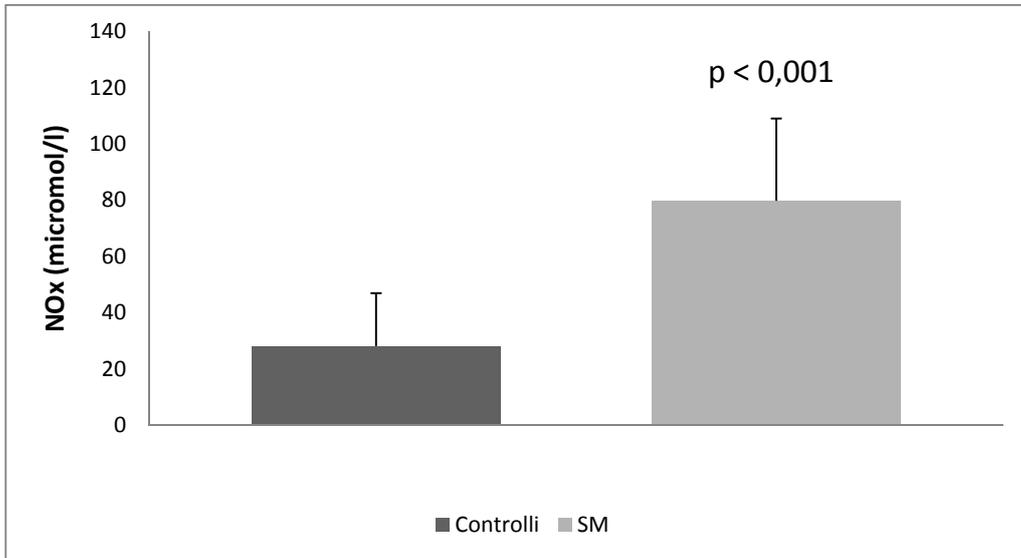
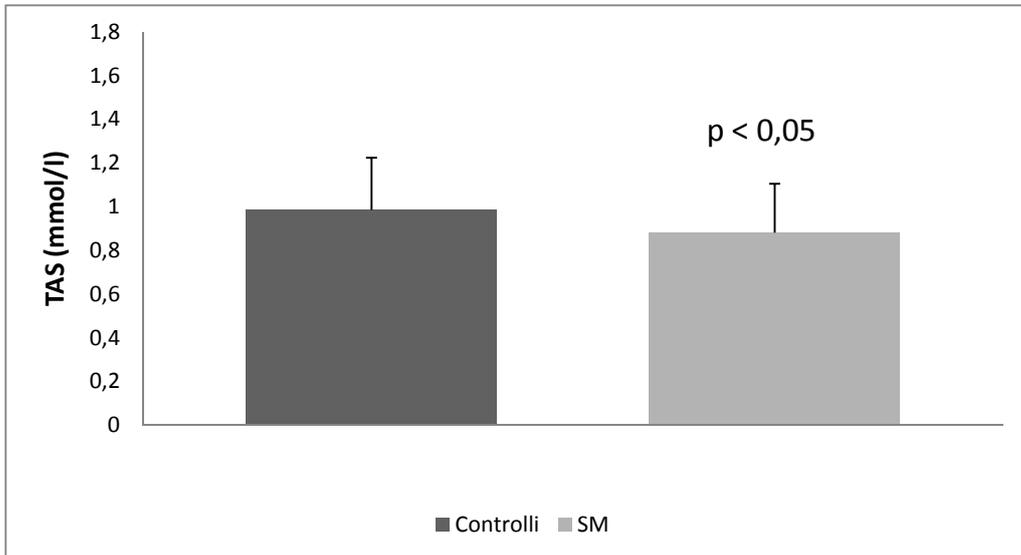


Figura 4



Allorquando, tenuto conto degli obiettivi prefissati ed esplicitati nel progetto di ricerca, i soggetti con SM sono stati suddivisi in base alla presenza o meno della malattia diabetica, i risultati ottenuti hanno messo in evidenza quanto di seguito descritto. L'analisi della varianza ad una via (ANOVA) ha dimostrato che il TBARS discrimina statisticamente i volontari sani dai soggetti con SM diabetici e non diabetici, e precisamente, come dimostrato dal test di Bonferroni, il TBARS è significativamente aumentato rispetto ai volontari sani in ciascuno dei due sottogruppi con SM. Anche le proteine carbonilate differenziano in modo significativo i volontari sani dai pazienti con SM diabetici, e il test di Bonferroni mostra che le proteine carbonilate sono significativamente aumentate, rispetto ai volontari sani, in entrambi i sottogruppi con SM. Così come il TBARS e le proteine carbonilate, anche il NOx discrimina i soggetti sani da quelli con SM, diabetici e non diabetici. Il test di Bonferroni evidenzia che il NOx è significativamente più elevato, rispetto ai volontari sani, in entrambi i sottogruppi considerati. Comportamento diverso si osserva esaminando il TAS. La varianza registra che il TAS distingue i volontari sani dai due sottogruppi di soggetti con SM, mentre la valutazione con il Bonferroni mostra che solamente nel sottogruppo dei soggetti non diabetici tale parametro risulta ridotto, sia se paragonato ai volontari sani che paragonato al sottogruppo dei soggetti con SM diabetici. I dati relativi alla suddivisione dei soggetti con SM nei due sottogruppi sono riportati sia nella tabella 4 che nei rispettivi grafici di seguito presentati.

Tabella 4

	Controlli	SM diabetici	SM non diabetici	F
TBARS nmol/ml	5,93 ± 1,21	9,20 ± 0,80 *	8,83 ± 0,63 *	184,8¶
PC nmol/mg prot.	0,424 ± 0,139	0,879 ± 0,168 *	0,871 ± 0,151 *	128,3¶
NOx µM	28,07 ± 18,83	78,10 ± 20,76 *	80,99 ± 33,93 *	55,1¶
TAS mM	0,986 ± 0,238	0,987 ± 0,199	0,809 ± 0,211*‡	12,23¶

¶ p < 0,001 (ANOVA)

* p < 0,001 vs controlli (Bonferroni)

‡ p < 0,001 vs SM diabetici

Figura 5

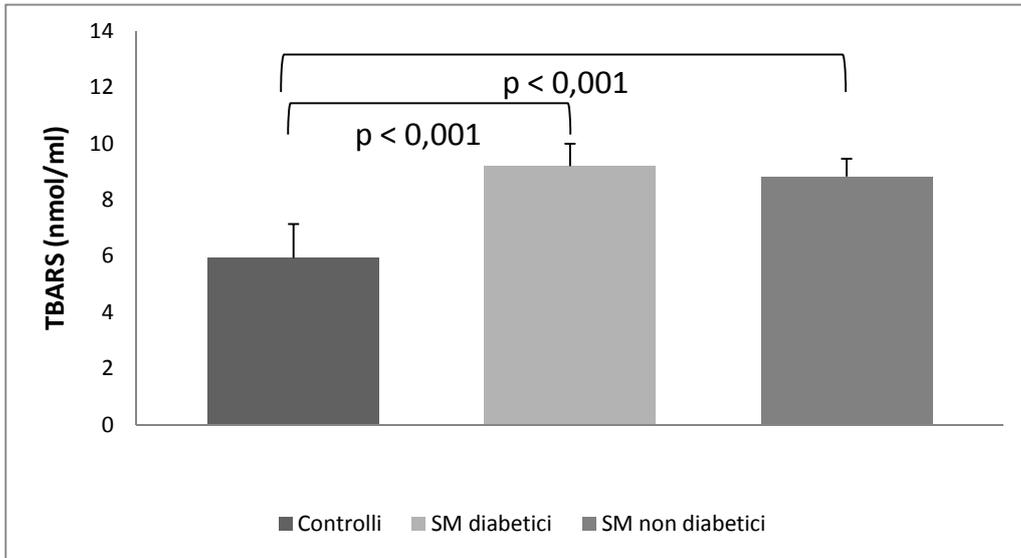


Figura 6

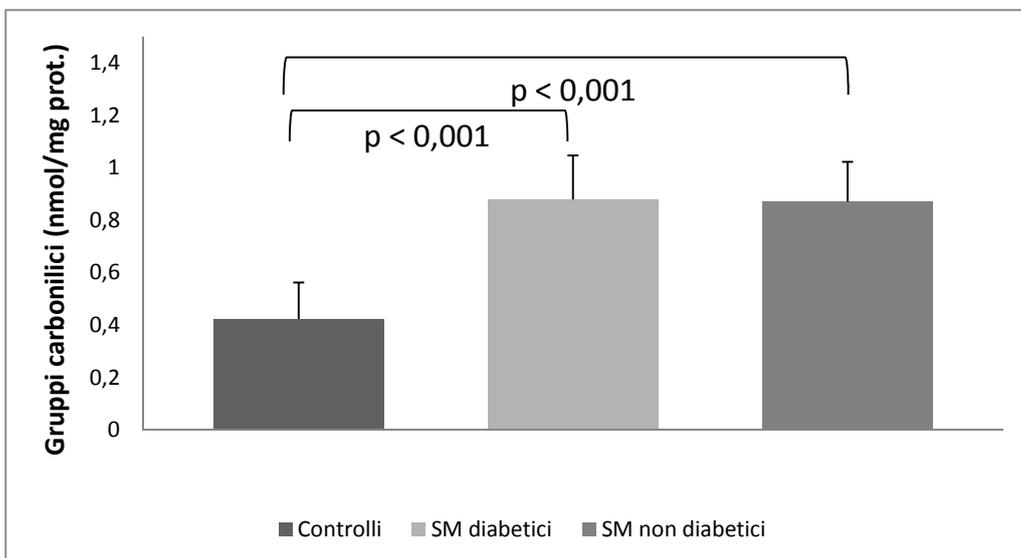


Figura 7

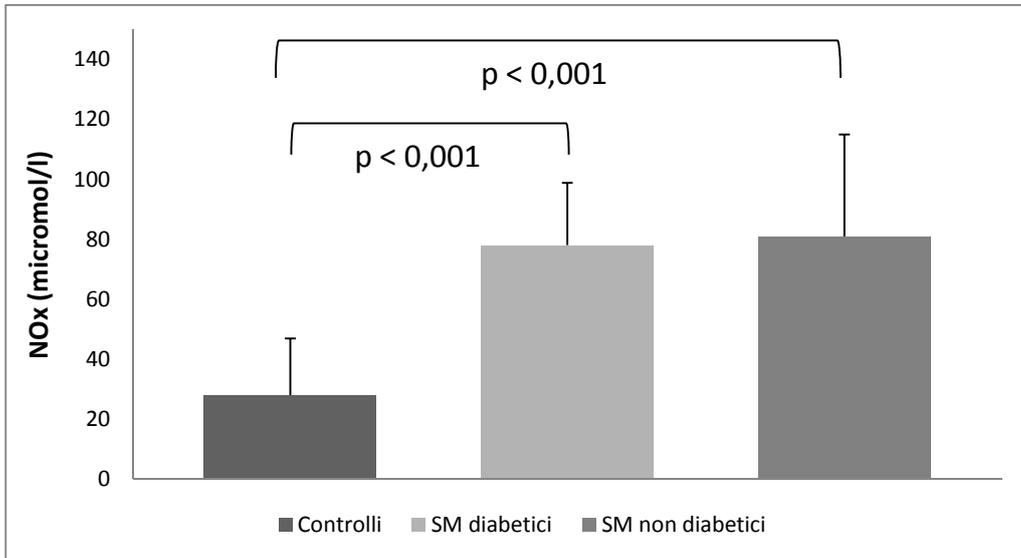
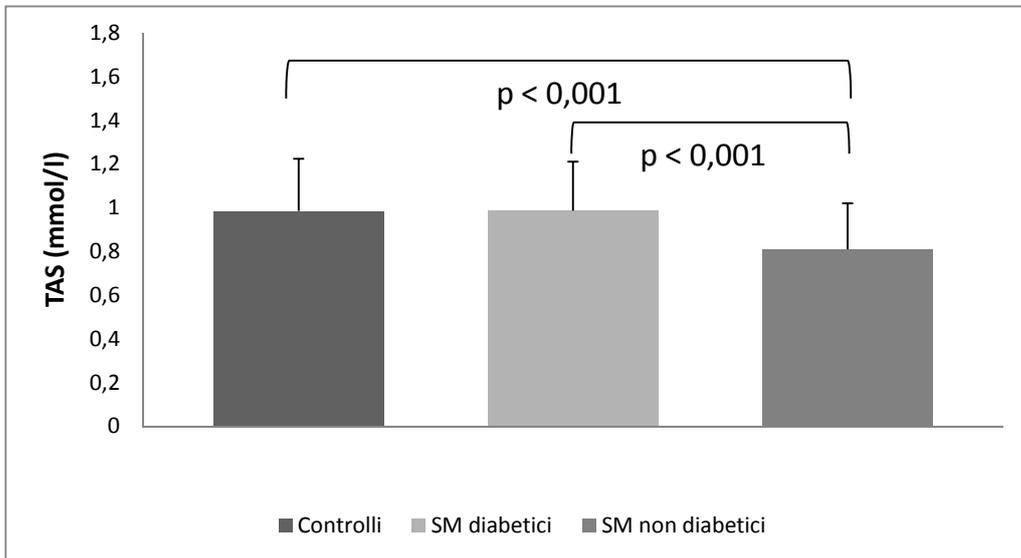


Figura 8



Considerando sia gli aspetti principali che caratterizzano la SM che i principali indicatori dello stato ossidativo, abbiamo cercato di esaminare la reciproca possibile influenza fra i suddetti indicatori, l'età, il profilo antropometrico, i valori tensivi arteriosi e il pattern glicometabolico. Lo studio della regressione lineare ha messo in evidenza solo nell'intero gruppo dei soggetti con SM una positiva correlazione tra TAS ed età (tabella 5). Tale correlazione non si registra nei rispettivi due sottogruppi (tabella 6 e tabella 7). Solo il TAS risulta inoltre correlato alla circonferenza vita sia nell'intero gruppo (tabella 5) che nel sottogruppo dei non diabetici (tabella 7). Nessuna correlazione si evidenzia tra gli indicatori dello SO e il BMI (tabella 5, tabella 6 e tabella 7) e tra i parametri dello SO e i valori tensivi sistolici (tabella 5, tabella 6, tabella 7). Risulta evidente invece una correlazione tra TAS e valori tensivi diastolici solo nei soggetti con SM diabetici (tabella 6). E' presente una correlazione positiva tra TAS e glicemia a digiuno nell'intero gruppo dei soggetti con SM (tabella 5) così come tra proteine carbonilate e glicemia a digiuno nei soggetti con SM non diabetici (tabella 7). Relativamente al colesterolo e alle sue due subfrazioni, si registrano una positiva correlazione tra TAS e colesterolemia totale nei soggetti con SM diabetici (tabella 6), una positiva correlazione tra proteine carbonilate e HDL-C nell'intero gruppo (tabella 5), una negativa correlazione tra TAS e HDL-C nel sottogruppo dei non diabetici (tabella 7) e una positiva correlazione tra TAS e LDL-C nel sottogruppo dei diabetici (tabella 6). I trigliceridi si correlano positivamente al TBARS e al TAS nell'intero gruppo (tabella 5) e nel sottogruppo dei diabetici (tabella 6) così come correlano in modo positivo al NOx nell'intero gruppo dei soggetti con SM (tabella 5) ed anche nel sottogruppo dei non diabetici (tabella 7).

Tabella 5

SM totali	vs TBARS	vs PC	vs NOx	vs TAS
Età (anni)	0,046	0,124	- 0,025	0,251 §
Circonferenza vita (cm)	0,004	0,057	0,088	0,386 *
BMI	0,068	0,167	0,007	0,199
PAS (mmHg)	0,001	0,091	0,027	0,001
PAD (mmHg)	- 0,108	0,038	0,016	0,104
Glicemia (mg/dl)	0,206 #	- 0,044	-0,059	0,250 #
Colesterolo totale (mg/dl)	- 0,112	0,052	0,171	0,061
Colesterolo HDL (mg/dl)	- 0,158	0,210 #	- 0,180	- 0,165
Colesterolo LDL (mg/dl)	- 0,223 #	0,055	0,160	- 0,005
Trigliceridemia (mg/dl)	0,221 #	0,003	0,344 *	0,238 #

p < 0,05 § p < 0,01 * p < 0,001

Tabella 6

SM diabetici	vs TBARS	vs PC	vs NOx	vs TAS
Età (anni)	- 0,135	0,046	0,124	- 0,276
Circonferenza vita (cm)	- 0,124	0,008	- 0,071	0,080
BMI	0,150	0,115	- 0,255	0,201
PAS (mmHg)	- 0,116	0,170	0,059	- 0,047
PAD (mmHg)	0,016	0,171	0,115	0,418 #
Glicemia (mg/dl)	0,093	- 0,184	- 0,180	0,001
Colesterolo totale (mg/dl)	0,016	0,113	0,442 §	0,388 #
Colesterolo HDL (mg/dl)	0,428 §	0,271	- 0,023	- 0,136
Colesterolo LDL (mg/dl)	- 0,029	0,103	0,441 §	0,400 #
Trigliceridemia (mg/dl)	0,364 #	- 0,019	0,206	0,408 §

p < 0,05 § p < 0,01 * p < 0,001

Tabella 7

SM non diabetici	vs TBARS	vs PC	vs NOx	vs TAS
Età (anni)	- 0,083	0,178	- 0,037	0,216
Circonferenza vita (cm)	- 0,106	0,081	0,209	0,310#
BMI	- 0,014	0,181	0,099	0,113
PAS (mmHg)	0,028	0,001	0,018	- 0,112
PAD (mmHg)	- 0,161	- 0,045	- 0,026	0,018
Glicemia (mg/dl)	- 0,065	0,335 §	0,212	0,020
Colesterolo totale (mg/dl)	- 0,050	0,023	0,047	0,098
Colesterolo HDL (mg/dl)	0,106	0,146	- 0,287 #	- 0,290 #
Colesterolo LDL (mg/dl)	- 0,262	0,040	0,071	0,038
Trigliceridemia (mg/dl)	0,156	0,013	0,413 *	0,226

p < 0,05 § p < 0,01 * p < 0,001

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

L'aspetto che emerge con maggiore chiarezza da questo studio è la vistosa alterazione dello stato ossidativo presente nella SM. E' evidente infatti una marcata perossidazione lipidica, associata ad una marcata ossidazione proteica, ed è anche presente una riduzione, seppur modesta, dello stato antiossidante totale. Se è agevole convenire sui momenti patogenetici che sono alla base dell'ossidazione (lipidica e proteica), più complessa risulta l'interpretazione dello stato antiossidante totale. Quest'ultimo, come è noto, è la sommatoria di sistemi enzimatici (superossido dismutasi, catalasi, glutatione perossidasi) e non enzimatici che includono sia molecole endogene, quali glutatione ridotto, uricemia e bilirubina, che sostanze esogene quali le vitamine A, C ed E. Non si dispone di dati certi ricavati dalla valutazione analitica di entrambi questi sistemi nella SM, per cui l'unico risultato attuale sul quale riflettere è la riduzione globale del TAS, peraltro non evidente nel sottogruppo dei soggetti con SM diabetici.

Attenzione particolare merita il comportamento del NOx, aumentato in modo significativo nel nostro studio in accordo con quanto riportato in letteratura nella sindrome metabolica (101) e in donne obese o in sovrappeso (102). Il dato di per sé potrebbe sorprendere se relato alla funzione endoteliale, che come è risaputo non risulta ottimale quando è presente un'alterazione dello stato ossidativo (103), mentre non sorprende se si considera che le cause che ne determinano l'aumento possono avere origine diversa. E' noto infatti che nella SM, così come in alcune delle sue componenti quali ipertensione arteriosa, diabete mellito ed obesità (104, 105),

vengono rilasciate in eccesso molecole infiammatorie, per cui detto incremento risulta correlato ad una sovrapproduzione di NO da parte dei macrofagi nei quali l'attivazione della NO sintetasi inducibile (iNOS) è superstimolata da alcune citochine, quali il TNF-alpha, l'IL-1beta e l'IFN (106-107). Deve essere inoltre ricordato che la determinazione del NOx di per sé non è sufficiente a distinguere quanto sintetizzato dall'iNOS da quanto invece sintetizzato dall'eNOS, il cui livello si riduce come naturale conseguenza del danno endoteliale. Relativamente al NOx, così significativamente incrementato nella SM, non si può tuttavia escludere a priori un suo ipotetico ruolo favorevole considerando che gli anioni nitriti e nitrati, direttamente o indirettamente, possono essere ridotti a NO (108-111) e quest'ultimo, come è noto, agisce in ambito cardiovascolare come la molecola endogena a maggiore attività antiaterogena.

La suddivisione dell'intero gruppo dei soggetti con SM in diabetici e non diabetici non ha di fatto fornito elementi di particolare interesse, se si eccettua il trend del TAS. Né la perossidazione lipidica né l'ossidazione proteica né il NOx sembrano in alcun modo essere influenzati dalla presenza o meno della malattia diabetica. Pur tenendo conto di questo dato sarebbe tuttavia utile analizzare il comportamento di ciascuno specifico indicatore dello stato ossidativo in relazione al numero delle componenti presenti nella SM. Così come verificatosi in studi precedenti riguardanti lo stato ossidativo in condizioni cliniche quali l'infarto miocardico giovanile (112) e l'insufficienza renale cronica in trattamento conservativo (113), diversamente da quanto accade nel gruppo controllo dove è presente una negativa correlazione tra TBARS e TAS ($r = -0,395$ $p < 0,09$), tale correlazione risulta addirittura di segno opposto sia nell'intero gruppo dei soggetti con SM ($r = 0,26$ $p < 0,005$) che nel

sottogruppo di quelli diabetici ($r=0,375$ $p<0,00131$). Entrambi questi dati ci inducono a ritenere come in detta sindrome risulti presente una complessa alterazione dello stato ossidativo che coinvolge tra l'altro la fisiologica reciprocità fra perossidazione lipidica e stato antiossidante totale.

Lo studio delle correlazioni riguardante da una parte età, profilo antropometrico, valori tensivi arteriosi, e dall'altra gli indicatori dello stato ossidativo, non evidenzia alcuno specifico trend anche se vanno segnalate le correlazioni statistiche che sussistono tra TAS ed età nell'intero gruppo dei soggetti e tra TAS e altri parametri antropometrici, tensivi arteriosi e glicometabolici, di incerto significato fisiopatologico. Da considerare inoltre che le proteine carbonilate si correlano alla glicemia a digiuno nel sottogruppo dei non diabetici e all'HDL-C nell'intero gruppo dei soggetti, e che il TBARS correla sia alla glicemia a digiuno che ai trigliceridi nell'intero gruppo dei soggetti esaminati. Il NOx risulta invece correlato ai valori di trigliceridi sia nell'intero gruppo che nel sottogruppo dei non diabetici.

Da menzionare inoltre che nell'intero gruppo dei soggetti con SM risulta presente una positiva correlazione tra glicemia a digiuno e circonferenza vita ($r= 0,444$ $p< 0,0001$) e tra glicemia a digiuno e BMI ($r= 0,288$ $p < 0,0065$).

Al di là dell'evidenza che la SM si accompagna ad un alterato profilo dello stato ossidativo, solo in parte influenzato dalla presenza della malattia diabetica, quanto ora accertato necessita di essere nel prosieguo approfondito considerando:

- se tale alterato pattern dipende dal numero delle componenti della SM
- se gli schemi terapeutici impiegati per il trattamento delle principali componenti della SM risultino in grado di influenzare lo SO

- se può essere necessario integrare quanto previsto per il trattamento delle singole componenti con adeguate supplementazioni.

BIBLIOGRAFIA

1. Erkelens DW, de Bruin TW, Castro Cabezas M. Tulp syndrome. *Lancet* 1993; 342: 1536-1537.
2. Morgagni GB. The seats and causes of diseases investigated by anatomy (De sedibus et causis morborum per anatomen indagata). *Remondini*, Padova, 1975.
3. Kylin E. Studien ueber das Hwertonie-Hyperglykamie-Hyperurikamiesyndrom. *Zentralblatt Fuer Innere* 1923; 44: 105-127.
4. Vague J. The degree of masculine differentiation of obesities: a factor determining predisposition to diabetes, atherosclerosis, gout, and uric calculous disease. *Am J Clin Nutrition* 1956; 4: 20-27.
5. Avogaro P, Crepaldi G. Essential Hyperlipidemia, Obesity and Diabetes. *First EASD Conference*, Montecatini Terme, 1965.
6. Haller H. Epidemiology and associated risk factors of hyperlipoproteinemia. *Z Gesamte Inn Med* 1977; 32: 124-128.
7. Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988; 37: 1595-1607.
8. Ferrannini E, Haffner SM, Mitchell BD, Stern MP. Hyperinsulinaemia: the key feature of a cardiovascular and metabolic syndrome. *Diabetologia* 1991; 34: 416-422.
9. Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1 diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med* 1998; 15: 539-553.
10. Executive Summary of the Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High

Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001; 285: 2486-2497.

11. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation* 2005; 112: 2735-2752.

12. Einhorn D, Reaven GM, Cobin RH, et al. American College of Endocrinology position statement on the insulin resistance. *Endocr Pract* 2003; 9: 237-252.

13. Balkau B, Charles MA. Comment on the provisional report from the WHO consultation. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *Diabet Med* 1999; 16: 442-443.

14. Ford ES, Giles WH. A comparison of the prevalence of the metabolic syndrome using two proposed definitions. *Diabetes Care* 2003; 26: 575-581.

15. Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. Metabolic syndrome - a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabet Med* 2006; 23: 469- 480.

16. Rowe JW, Minaker KL, Pallotta JA, Flier JS. Characterization of the insulin resistance of aging. *J Clin Invest* 1983; 71: 1581-1587.

17. Manzato E, Roselli della Rovere G, Avogaro A, et al. The fatty acid composition of plasma phospholipids and the insulin sensitivity in elderly diabetic patients. The Pro.V.A. study. *Aging Clin Exp Res* 2002; 14: 474-478.

18. Trevisan M, Browne R, Ram M, et al. Correlates of markers of oxidative status in the general population. *Am J Epidemiol* 2001; 154: 348-356.

19. Abdul-Rahim HF, Hussein A, Bjertness E, Giacaman R, Gordon NH, Jervell J. The metabolic syndrome in the West Bank population: an urban-rural comparison. *Diabetes Care* 2001; 24: 275-279.
20. Al-Lawati JA, Mohammed AJ, Al-Hinai HQ, Jousilahti P. Prevalence of the metabolic syndrome among Omani adults. *Diabetes Care* 2003; 26: 1781-1785.
21. Ford ES, Giles WH, Dietz WH. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the third. National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA* 2002; 287: 356-359.
22. Alexander CM, Landsman PB, Teutsch SM, Haffner SM. NCEP-defined metabolic syndrome, diabetes, and prevalence of coronary heart disease among NHANES III participants age 50 years and older. *Diabetes* 2003; 52: 1210-1214.
23. Kuusisto J, Lempiäinen P, Mykkänen L, Laakso M. Insulin resistance syndrome predicts coronary heart disease events in elderly type 2 diabetic men. *Diabetes Care* 2001; 24: 1629-1633.
24. Kim DJ, Lee MS, Kim KW, Lee MK. Insulin secretory dysfunction and insulin resistance in the pathogenesis of Korean type 2 diabetes mellitus. *Metabolism* 2001; 50: 590-593.
25. Shin CS, Lee HK, Koh CS, et al. Risk factors for the development of NIDDM in Yonchon County, Korea *Diabetes Care* 1997; 20: 1842-1846.
26. Araneta MR, Wingard DL, Barrett-Connor E. Type 2 diabetes and metabolic syndrome in Filipina-American women: a high-risk nonobese population. *Diabetes Care* 2002; 25: 494-499.

27. Fujimoto WY, Bergstrom RW, Boyko EJ, et al. Type 2 diabetes and the metabolic syndrome in Japanese Americans. *Diabetes Res Clin Pract* 2000; 50: S73-S76.
28. Kosaka K, Kuzuya T, Yoshinaga H, Hagura R. A prospective study of health check examinees for the development of non-insulin-dependent diabetes mellitus: relationship of the incidence of diabetes with the initial insulinogenic index and degree of obesity. *Diabet Med* 1996; 13: S120-S126.
29. McKeigue PM, Shah B, Marmot MG. Relation of central obesity and insulin resistance with high diabetes prevalence and cardiovascular risk in South Asians. *Lancet* 1991; 337: 382-386.
30. Burchfiel CM, Sharp DS, Curb JD, et al. Hyperinsulinemia and cardiovascular disease in elderly men: the Honolulu Heart Program. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18: 450-457.
31. Miccoli R, Bianchi C, Odoguardi L, et al. Prevalence of the metabolic syndrome among Italian adults according to ATP III definition. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2005; 15: 250-254.
32. Maggi S, Noale M, Gallina P, et al. ILSA Working Group. Metabolic syndrome, diabetes, and cardiovascular disease in an elderly Caucasian cohort: the Italian Longitudinal Study on Aging. *J Gerontol Med Science* 2006; 61: 505-510.
33. Scuteri A, Najjar SS, Morrell CH, Lakatta E. The metabolic syndrome in older individuals: prevalence and prediction of cardiovascular events: the Cardiovascular Health Study. *Diabetes Care* 2005; 28: 882-887.

34. Lakka HM, Laaksonen DE, Lakka TA et al. The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men. *JAMA* 2002; 288: 2709-2716.
35. Grundy SM, Breswer HB, Cleeman JL, Smith SC, Lenfant C. American Heart association; National Heart Lung and Blood Institute. Definition of Metabolic Syndrome: Report of the National Heart, Lung and Blood Institute/American Heart Association Conference On Scientific Issues Related To Definition. *Circulation* 2004; 109: 433-438.
36. Haffner S, Taegtmeier H. Epidemic obesity and the metabolic syndrome. *Circulation* 2003; 108: 1541-1545.
37. Bastard JP, Maachi M, Lagathu C, et al. Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulinresistance. *Eur Cytokine Netw* 2006; 17: 4-12.
38. Laclaustra M, Corella D, Ordova JM. Metabolic syndrome pathophysiology: the role of adipose tissue. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2007; 17: 125-139.
39. Arauz-Pacheco C, Parrot MA, Raskin P. The treatment of hypertension in adult patients with diabetes. *Diabetes Care* 2002; 25: 134-147.
40. Simha V, Garg A. Lipodystrophy: lessons in lipid and energy metabolism. *Curr Opin Lipidol* 2006; 17: 162-169.
41. Tozzi Ciancarelli MG, Di Massimo C, De Amicis D, D'Alessandro A. Sindrome metabolica e modulazione della funzione endoteliale. *Atti del IV Congresso Nazionale della Società Italiana di Emoreologia Clinica e Microcircolazione*, 2011, pag. 8-9.

42. Demirkan N, Gurel A, Armuctu F, Unalacak M, Aktunc, Atmaca H. The evaluation of serum cystatin C, malonildialdehyde and total antioxidant status in patients with metabolic syndrome. *Med Sci Monit* 2008; 14: 97-101.
43. Barbato JE, Zuckerbraun BS, Overhaus M, et al. Nitric oxide modulates vascular inflammation and intimal hyperplasia in insulin resistance and the metabolic syndrome. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005; 289: 228-236.
44. Sun YX, Hu SJ, Zhang XH, et al. Plasma levels of vWF and NO in patients with metabolic syndrome and their relationship with metabolic disorders. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 2006; 35: 315-318.
45. Dalle-Donne I, Aldini G, Carini M, et al. Protein carbonylation, cellular dysfunction and disease progression. *J Cell Mol Med* 2006; 2: 389-406.
46. Sayre LM, Lin D, Yuan Q, et al. Protein adducts generated from products of lipid oxidation: focus on HNE and ONE. *Drug Metab Rev* 2006; 38: 651-75.
47. Dalle Donne I, Rossi R, Colombo R et al. Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clin Chem* 2008; 54: 601-623.
48. Giustarini D, Rossi R, Milzani A et al. S-Glutathionylation: from redox regulation of protein functions to human diseases. *J Cell Mol Med* 2004; 8: 201-212.
49. Ford ES, Mokdad AH, Giles WH, Brown DW. The metabolic syndrome and antioxidant concentrations. *Diabetes* 2003; 52: 2346-2352.
50. Demirbag R, Yilmaz R, Gur M, et al. DNA damage in metabolic syndrome and its association with antioxidative measurements. *Int J Clin Pract* 2006; 60: 1187-1193.
51. Baynes JB, Thorpe SR. Role of Oxidative Stress in Diabetic Complications: A New Perspective on an Old Paradigm. *Diabetes* 1999; 48 :1-9.

52. Cumaoglu A, Cevik C, Rackova L, et al. Effects of antioxidant stobadine on protein carbonylation, advanced oxidation protein products and reductive capacity of liver in streptozotocin-diabetic rats: role of oxidative/nitrosative stress. *Biofactors* 2007; 30: 171-178.
53. Ahmed N, Baraei-Jadidi R, Howell SH et al. Glycated and Oxidized Protein Degradation Products Are Indicators of Fasting and Postprandial Hyperglycemia in Diabetes. *Diabetes Care* 2005; 28: 2465-2471.
54. Ahmed N, Baraei-jadidi R, Howell SH et al. Degradation products of proteins damaged by glycation, oxidation and nitration in clinical type 1 diabetes. *Diabetologia* 2005; 48: 1590-1603.
55. Cakatay U. Protein oxidation parameters in type 2 diabetic patients with good and poor glycaemic control. *Diabetes Metab* 2005; 31: 551-557.
56. Kalousova M, Krha J, Zima T. Advanced Glycation End-products and Advanced Oxidation Protein Products in patients with diabetes mellitus. *Physiol Res* 2002; 51: 597-604.
57. Tabak O, Gelisgen R, Erman H, et al. Oxidative lipid, protein, and DNA damage as oxidative stress markers in vascular complications of diabetes mellitus. *Clin Invest Med* 2011; 34: E163-171.
58. Piwowar A. Advanced Oxidation Protein Products. Part II. The significance of oxidation protein products in the pathomechanism of diabetes and its complications. *Pol Merkur Lekarski* 2010; 28: 227-230.
59. Piwowar A, Knapik-Kordecka M, Warwas M. Markers of oxidative protein damage in plasma and urine of type 2 diabetic patients. *Br J Biomed Sci* 2009; 66: 194-199.

60. Zhou LL, Hou FF, Wang GB, et al. Accumulation of advanced oxidation protein products induces podocyte apoptosis and deletion through NADPH-dependent mechanisms. *Kidney Int* 2009; 76: 1148-1160.
61. Baskol G, Gumus K, Oner A, et al. The role of advanced oxidation products and total thiols in diabetic retinopathy. *Eur J Ophthalmol* 2008; 18: 792-798.
62. Abdilla N, Tormo MC, Fabia MJ, Chaves FJ, Saez G, Redon J. Impact of the components of metabolic syndrome on oxidative stress and enzymatic antioxidant activity in essential hypertension. *J Hum Hypertens* 2007; 21: 68-75.
63. Kielstein JT, Tsao PS. From Zanius to ADMA: ADMA a new “adipocytokine” and its potential role in metabolic syndrome. *J Nephrol* 2007; 20: 515-517.
64. Chen K, Xie F, Liu S, et al. Plasma reactive carbonyl species: Potential risk factor for hypertension. *Free Radic Res* 2011; 45: 568-574.
65. Inagi R, Miyata T. Oxidative protein damage with carbohydrates and lipids in uremia: “Carbonyl stress”. *Blood Purif* 1999; 17: 95-98.
66. Himmelfarb J, McMonagle E, McMenamin E. Plasma protein thiol oxidation and carbonyl formation in chronic renal failure. *Kidney Int* 2000; 58: 2571-2578.
67. Mimic-Oka J, Simic T, Pljesa M, et al. Oxidative modifications of plasma proteins in different stages of chronic renal failure. *Facta Universitatis* 2001; 8: 1-5.
68. Simic DV, Mimic-Oja J, Pljesa-Ercegovac M, et al. Byproducts of oxidative protein damage and antioxidant enzyme activities in plasma of patients with different degrees of essential hypertension. *J Hum Hypertens* 2006; 20: 149-155.
69. Nandeesh H, Sathiyapriya V, Bobby Z, et al. Altered oxidant-antioxidant status in non-obese men with moderate essential hypertension. *Indian J Med Sci* 2007; 61: 326-331.

70. Caner M, Karter Y, Uzun H, et al. Oxidative stress in human in sustained and white coat hypertension. *Int J Clin Pract* 2006; 60: 1565-1571.
71. Kedziora-Kornatowska K, Czuczejko J, Szewczyk-Golec K, et al. Effects of perindopril and hydrochlorothiazide on selected indices of oxidative stress in the blood of elderly patients with essential hypertension. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2006; 33: 751-756.
72. Krzystek-Korpacka M, Patryn E, Boehm D, et al. Advanced oxidation protein products (AOPPs) in juvenile overweight and obesity prior to and following weight reduction. *Clin Biochem* 2008; 41: 943-949.
73. Frohnert BI, Sinaiko AR, Serrot FJ, et al. Increased adipose protein carbonylation in human obesity. *Obesity* 2011; 19: 1735-1741.
74. Kocak H, Oner-Iyidogan Y, Gurdol F, et al. Advanced oxidation protein products in obese women: its relation to insulin resistance and resistin. *Clin Exp Med* 2007; 7: 173-178.
75. Atabek ME, Keskin M, Yazici C, et al. Protein oxidation in obesity and insulin resistance. *Eur J Pediatr* 2006; 165: 753-756.
76. Uzun H, Konukoglu D, Gelisgen R, et al. Plasma protein carbonyl and thiol stress before and after laparoscopic gastric banding in morbidly obese patients. *Obes Surg* 2007; 17: 1367-1373.
77. Sledzinski T, Goyke E, Smolenski RT, et al. Decrease in serum protein carbonyl groups concentration and maintained hyperhomocysteinemia in patients undergoing bariatric surgery. *Obes Surg* 2009; 19: 321-326.
78. Dandona P, Mohanty P, Ghanim H, et al. The suppressive effect of dietary restriction and weight loss in the obese on the generation of reactive oxygen species

by leukocytes, lipid peroxidation, and protein carbonylation. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 355-362.

79. Codoner-Franch P, Lopez-Jaen AB, De La Mano-Hernandez A, et al. Oxidative markers on children with severe obesity following low-calorie diets supplemented with mandarin juice. *Acta Paediatr* 2010; 99: 1841-1846.

80. Meaney E, Vela A, Samniengo V, et al. Metformin, arterial function, intima-media thickness and nitrooxidation in metabolic syndrome: the mefisto study. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2008; 35: 895-903.

81. Devaraj S, Wang-Polagruto J, Polagruto J, Keen CL, Jialal I. High-fat, energy-dense, fast-food-style breakfast results in an increase in oxidative stress in metabolic syndrome. *Metabolism* 2008; 57: 867-870.

82. Azadbakht L, Kimiagar M, Mehrabi Y, Esmailzadeh A, Hu FB, Willett WC. Dietary soya intake alters plasma antioxidant status and lipid peroxidation in postmenopausal women with the metabolic syndrome. *Br J Nutr* 2007; 98: 807-813.

83. Cardona F, Tunez I, Tasset I, Montilla P, Collantes E, Tinahones FJ. Fat overload aggravates oxidative stress in patients with the metabolic syndrome. *Eur J Clin Invest* 2008; 38: 510-515.

84. Molnar D, Decsi T, Koletzko B. Reduced antioxidant status in obese children with multimetabolic syndrome. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2004; 28: 1197-1202.

85. Fujita K, Nishizawa H, Funahashi T, Shimomura I, Shimabukuro M. Systemic oxidative stress is associated with visceral fat accumulation and the metabolic syndrome. *Circ J* 2006; 70: 1437-1442.

86. Furukawa S, Fujita K, Shimabukuro M, et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest* 2004; 114: 1752-1761.

87. Cardona F, Tunez I, Tasset I, Murri M, Tinahones FJ. Similar increase in oxidative stress after fat overload in persons with baseline hypertriglyceridemia with or without the metabolic syndrome. *Clin Biochem* 2008; 41: 701-705.
88. Martinez-Hervas S, Fandos M, Real JT, et al. Insulin resistance and oxidative stress in familial combined hyperlipidemia. *Atherosclerosis* 2008; 199: 384-389.
89. Ferri J, Martinez-Hervas S, Espinosa O, et al. 8-oxo-dihydro-2'-deoxyguanosine as a marker of DNA oxidative stress in individuals with combined familial hyperlipidemia. *Med Clin (Barc)* 2008; 131: 1-4.
90. Pirinccioglu AG, Gokalp D, Pirinccioglu M, et al. Malonildialdehyde (MDA) and protein carbonyl (PCO) levels as biomarkers of oxidative stress in subjects with familial hypercholesterolemia. *Clin Biochem* 2010; 43: 1220-1224.
91. Duarte MM, Moresco RN, Duarte T, et al. Oxidative stress in hypercholesterolemia and its association with Ala16Val superoxide dismutase gene polymorphism. *Clin Biochem* 2010; 43: 1118-1123.
92. Matteucci E, Biasci E, Giampietro O. Advanced oxidation protein products in plasma: stability during storage and correlation with other clinical characteristics. *Acta Diabetol* 2001; 38: 187-189.
93. Kumar SA, Sudhahar V, Varalakshmi P. Oxidative renal injury and lipoprotein oxidation in hypercholesterolemic atherogenesis: Role of eicosapentaenoate-lipoate (EPA-LA) derivative. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2006; 75: 25-31.
94. Aydin S, Uzun H, Sozer V, et al. Effects of atorvastatin therapy on protein oxidation and oxidative DNA damage in hypercholesterolemic rabbits. *Pharmacol Res* 2009; 59: 242-247.

95. Manfredini V, Biancini GB, Vanzin CS, et al. Apolipoprotein, C-reactive protein and oxidative stress parameters in dyslipidemic type 2 diabetic patients treated or not with simvastatin. *Arch Med Res* 2010; 41: 104-109.
96. Furukawa S, Fujita K, Shimabukuro M, et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest* 2004; 114: 1752-1761.
97. Skalicky J, Muzakova V, Kandar R, et al. Evaluation of oxidative stress and inflammation in obese adults with metabolic syndrome. *Clin Chem Lab Med* 2008; 46: 499-505.
98. Yiginer O, Ozcelik F, Inanc T, et al. Allopurinol improves endothelial function and reduces oxidant-inflammatory enzyme of myeloperoxidase in metabolic syndrome. *Clin Res Cardiol* 2008; 97: 334-340.
99. Di Massimo C, Scarpelli P, Di Lorenzo N, et al. Impaired plasma nitric oxide availability and extracellular superoxide dismutase activity in healthy humans with advancing age. *Life Sci* 2006; 78: 1163-1167.
100. Nims RW, Darbyshire JF, Saavedra JE, et al. Colorimetric methods for the determination of nitric oxide concentration in neutral aqueous solutions. *Methods* 1995; 7: 48-54.
101. Olszanecka-Glinianowicz M, Zahorska-Markiewicz B, Janowska J, Zurakowski A. Serum concentrations of nitric oxide, Tumor Necrosis Factor (TNF)- α and TNF soluble receptors in women with overweight and obesity. *Metabolism* 2004; 53: 1268-1273.
102. Zahedi Asl S, Ghasemi A, Azizi F. Serum nitric oxide metabolites in subjects with metabolic syndrome. *Clin Biochem* 2008; 41: 1342-1347.

103. Urso C, Caimi G. Stress ossidativo e disfunzione endoteliale. *Minerva Med* 2011; 102: 59-77.
104. Camera A, Hopps E, Caimi G. Diabetic microangiopathy: physiopathological, clinical and therapeutic aspects. *Minerva Endocrinol* 2007; 32: 209-229.
105. Camera A, Hopps E, Caimi G. Sindrome metabolica: dall'insulino-resistenza alla disfunzione del tessuto adiposo. *Minerva Med* 2008; 99: 307-321.
106. Forstermann U, Kleinert H, Gath I et al. Expression and expressional control of nitric oxide synthases in various cell types. *Adv Pharmacol* 1995; 34: 171-186.
107. Moncada S, Palmer RML, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991; 43: 109-142.
108. Weinberg JB. Nitric oxide production and nitric oxide synthase type 2 expression by human mononuclear phagocytes - a review. *Mol Med* 1998; 4: 557-591.
109. Cosby K, Partovi KS, Crawford JH et al. Nitrite reduction to nitric oxide by deoxyhemoglobin vasodilates the human circulation. *Nat Med* 2003; 9: 1498-1505.
110. Lundberg JO, Govoni M. Inorganic nitrate is a possible source for systemic generation of nitric oxide. *Free Rad Biol Med* 2004; 37: 395-400.
111. Modin A, Bjorne H, Herulf M et al. Nitrite-derived nitric oxide: a possible mediator of acidic-metabolic vasodilation. *Acta Physiol Scand* 2001; 171: 9-16.
112. Lo Presti R, Carollo C, Montana M et al. Lipid peroxidation and total antioxidant status in juvenile myocardial infarction. *Clin Hemorheol Microcirc* 2008; 38: 93-96.

113. Caimi G, Carollo C, Montana M et al. Elastase, myeloperoxidase, nitric oxide metabolites and oxidative status in subjects with clinical stable chronic renal failure on conservative treatment. *Clin Hemorheol Microcirc* 2009; 43: 251-256.

INDICE	
INTRODUZIONE	2
Epidemiologia	5
Fisiopatologia	10
Stress ossidativo	13
Diabete	16
Ipertensione arteriosa	18
Obesità	19
Dislipidemia	21
Infiammazione	22
SCOPO DELLA RICERCA	23
SOGGETTI	24
METODICHE	25
RISULTATI	27
CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE	38
BIBLIOGRAFIA	42