



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PALERMO
Facoltà di Medicina e Chirurgia

*Dottorato di Ricerca in Fisiopatologia e Diagnostica per Immagini in Ambito
Cardiovascolare, Renale e dello Sport*
XXII CICLO
MED-14

**Fetuina-A e Morbilità Cardiovascolare
nell'Insufficienza Renale Cronica**

Il Dottorando:
Dott.ssa Francesca Incalcaterra

Il Coordinatore:
Prof. G. Cerasola

Il Tutor:
Prof.ssa Santina Cottone

SOMMARIO

INTRODUZIONE	2
<i>Intima-Media Thickness</i>	<i>5</i>
<i>Fetuina-A.....</i>	<i>13</i>
<i>Proteina C reattiva ad alta sensibilità</i>	<i>18</i>
<i>Tumor Necrosis Factor-alfa</i>	<i>23</i>
<i>Interleuchina-6.....</i>	<i>25</i>
SCOPO	26
MATERIALI E METODI	27
<i>Popolazione in studio</i>	<i>27</i>
<i>Metodi di Laboratorio e Strumentali.....</i>	<i>28</i>
<i>Metodi Statistici.....</i>	<i>30</i>
RISULTATI.....	32
<i>Analisi di correlazioni univariate e multivariate</i>	<i>34</i>
DISCUSSIONE.....	37
CONCLUSIONI	41
BIBLIOGRAFIA	42

INDICE DELLE TABELLE E DELLE FIGURE

Tabella 1: Caratteristiche dei due campioni in studio.....	pag 46
Tabella 2: test T tra CKD e EH.....	pag 46
Figura 1: Differenza dei valori di IMT-max nei due gruppi in studio.....	pag 47
Figura 2: Differenza dei valori di Fetuina-A nei due gruppi in studio.....	pag 47
Figura 3: Differenza dei valori di IL-6 nei due gruppi in studio.....	pag 48
Figura 4: Differenza dei valori di TNF-alfa nei due gruppi in studio.....	pag 48
Figura 5: Differenza dei valori di hsCRP nei due gruppi in studio.....	pag 49
Figura 6: Differenza dei valori di Fetuina-A nei due sottogruppi di EH	pag 50
Figura 7: Differenza dei valori di IL-6 nei due sottogruppi di EH	pag 50
Figura 8: Differenza dei valori di hsCRP nei due sottogruppi di EH	pag 51
Figura 9: Differenza dei valori di TNF-alfa nei due sottogruppi di EH	pag 51
Figura 10: Correlation between eGFR-MDRD4 and Fetuin-A in CKD	pag 52
Figura 11: Correlation between hsCRP and Fetuin-A in CKD.....	pag 52
Figura 12: Correlation between IL-6 and Fetuin-A in CKD.....	pag 53
Figura 13: Correlation between TNF-alfa and Fetuin-A in CKD.....	pag 53
Figura 14: Correlation between Fetuin-A and IMT-max in CKD.....	pag 54
Figura 15: Correlation between Fetuin-A and IMT-max in EH.....	pag 55
Figura 16: Correlation between IL-6 and IMT-max in EH.....	pag 55

Figura 17: Correlation between hsCRP and IMT-max in EH.....pag 56

Figura 11: Correlation between TNF-alfa and IMT-max in EH.....pag 56

INTRODUZIONE

La malattia cardiovascolare (CVD) è la più comune causa di morbilità e di mortalità nei pazienti affetti da insufficienza renale cronica (CKD) ed è responsabile di circa il 40-50% dei decessi nei pazienti in trattamento dialitico¹. La mortalità cardiovascolare, anche quando stratificata per età, sesso e razza, risulta molto più elevata nella popolazione dialitica rispetto alla popolazione generale².

Inoltre i pazienti con insufficienza renale cronica terminale e quelli con ipertensione arteriosa presentano una prevalenza di aterosclerosi maggiore della popolazione generale.

Il nostro studio è finalizzato a valutare la correlazione esistente tra i livelli sierici di Fetuina-A e la morbilità cardiovascolare, intesa come danno d'organo subclinico (ovvero variazione dello spessore intimale carotideo), e il suo potere predittivo in pazienti con ipertensione essenziale con normale funzione renale e in pazienti con insufficienza renale cronica (CKD) in terapia conservativa (Stadi 1-4 della classificazione NKF)³.

Intima-Media Thickness

I pazienti con insufficienza renale cronica terminale e quelli con ipertensione arteriosa presentano una prevalenza di aterosclerosi maggiore della popolazione generale.

Lo spessore miointimale carotideo (IMT), misurato con tecnica B-mode, è un marker surrogato di malattia aterosclerotica e può essere utilizzato per ricercare sia un processo aterosclerotico accelerato che la malattia in uno stadio subclinico. La valutazione di IMT presenta diversi vantaggi: è una metodica relativamente economica, non invasiva, ripetibile in quanto priva di effetti avversi per il paziente, non vi sono infatti rischi di dissezione, chiusura vascolare o di spasmo coronario⁴. I pazienti possono ripetere la misurazione IMT già eseguita senza il rischio di esposizione a radiazioni associato con altre metodiche di visualizzazione vascolare⁵. Inoltre consente l'osservazione della parete arteriosa, del sito di patologia aterosclerotica in atto, piuttosto che del lume. Infine utilizza apparecchiature facilmente disponibili, non è ostacolata dall'anatomia del paziente⁴ ed è indipendente dalla presenza di calcificazioni della placca come altre metodiche diagnostiche (es. coronary artery calcification score).

Il più grande limite della misurazione IMT è rappresentato dalla mancanza di protocolli standardizzati che possano consentire la riproducibilità tra le diverse

misurazioni. Nella pratica clinica, questa mancanza potrebbe esitare in una stima non accurata della progressione o regressione di IMT tra le misurazioni. Comunque, lo sviluppo di programmi software più accurati ha ridotto la variabilità interoperatore e migliorato la riproducibilità. Un ulteriore limite è che soltanto la carotide e non le coronarie sono visualizzabili.

La maggioranza delle morti CVD derivano da CAC, lo studio di aterosclerosi carotidea tramite valutazione di IMT può non essere correlata con l'aterosclerisi dell'albero coronario.

Lo spessore mio-intimale carotideo misurato tramite metodica ultrasonografica b-mode rappresenta lo spessore combinato del layer di media ed intima delle arterie carotidi. Sebbene talora l'ispessimento delle pareti arteriose sia correlata con fattori non aterosclerotici (quali processi adattativi fortemente legati ad età e pressione arteriosa), l'ispessimento mio-intimale può essere anche correlato con fattori che causano aterosclerosi. Questo tipo di ispessimento è, dal punto di vista fisiopatologico, differente dai processi adattativi e rappresenta l'inizio dello sviluppo di aterosclerosi⁶. Le placche aterosclerotiche aumentano significativamente lo spessore della parete arteriosa. L'ispessimento miointimale carotideo rappresenta quindi un fenotipo intermedio di aterosclerosi precoce. La misurazione ultrasonografica correla bene con l'istologia⁷, e un IMT aumentato è associato con fattori di rischio vascolari⁸ e presenza di aterosclerosi avanzata, che include la malattia coronarica⁹. IL Mannheim Intima-media Thickness Consensus Panel definisce una placca come un IMT isolato ≥ 1.5 mm o $< 50\%$ dell'IMT

circostante; comunque molti medici considerano l'ispessimento massimo così piccolo come 1 mm indicativo di placca¹⁰.

Poiché la malattia aterosclerotica è una componente ben nota della malattia cardiovascolare, un marker precoce di aterosclerosi quale la misurazione di IMT può essere utilizzato per ridefinire il rischio cardiovascolare e ottimizzare le misure di prevenzione (quali modificazioni dello stile di vita ed interventi terapeutici).

L'aumento di IMT è associato con la malattia cardiovascolare ed è predittore indipendente di stroke e infarto del miocardio. Lo spessore mio-intimale carotideo infatti rappresenta un valido strumento per chiarire il rischio cardiovascolare dei pazienti in particolare può essere utilizzato per la stratificazione in soggetti con rischio intermedio nelle tabelle tradizionali; inoltre può beneficiare di questa metodica anche lo screening per malattia subclinica in pazienti a basso rischio, specialmente se con storia familiare di malattia cardiovascolare precoce o quelli con uno dei fattori di rischio del National Cholesterol Educational Program¹¹.

Lo studio dell'aterosclerosi subclinica consente di migliorare l'efficacia della prevenzione di eventi cardiovascolari devastanti e di ricercare eventuali cause latenti di aumento dello spessore della parete arteriosa, quali una sottostante condizione di insulino-resistenza occulta o markers di dislipidemia al fine di avviare un trattamento farmacologico efficace nel rallentare la progressione e anche indurre la riduzione di IMT.

L'associazione tra IMT e CVD è stata ben stabilita. E' stato dimostrato che lo spessore miointimale ha un forte potere predittivo positivo nell'individuare soggetti con malattia coronarica (CAD) angiograficamente dimostrata ed è stato dimostrato essere un marker surrogato di CAD intravascolare definita ecograficamente¹².

Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study ha dimostrato che IMT era correlato all'infarto del miocardio (IM) anche dopo aggiustamento per fattori di rischio quali età, razza, diabete, colesterolo, ipertensione arteriosa e fumo in un'ampia popolazione di adulti con età media compresa tra 45 e 65 anni. Inoltre questo studio a lungo termine, con un follow-up medio di 6.2 anni, ha stabilito che l'incidenza di infarto del miocardio o stroke in pazienti con età superiore a 65 anni, e senza storia di CVD, era aumentato quando IMT era aumentato⁹. Quando aggiustato per fattori di rischio tradizionali, quali età, razza, diabete, ipertensione arteriosa, fumo, fibrillazione atriale, il rischio di IM o stroke rimaneva significativamente associato a IMT ($P < 0.001$).

Inoltre l'evidenza che supporta l'associazione tra IMT e il rischio CVD è stata fornita da Li et al. che hanno osservato che in media entro i 10.7 anni, i pazienti con normale pressione arteriosa ($<140/90$ mmHg), ma con aterosclerosi carotidea avevano un rischio tre volte più elevato di ictus ischemico se comparati con quelli senza aterosclerosi, anche quando il rischio era aggiustato per età, sesso, pressione arteriosa, colesterolo, glicemia a digiuno e fumo¹³.

Lorenz et al hanno eseguito una metanalisi di 8 studi clinici che evidenziava che IMT era un forte predittore di eventi CVD. Nella metanalisi, una differenza assoluta di 0.1 mm aumentava il rischio futuro di stroke dal 13% al 18%, e aumentava il rischio di IM dal 10% al 15%. Il rischio relativo di IM e stroke era 1.26, rispettivamente, per una deviazione standard di 114. Insieme questi studi forniscono l'interessante evidenza che IMT è associato con il rischio di CVD.

L'importanza di chiarire il rischio è sottolineato da due importanti studi. Il primo ha valutato la prevalenza di 4 tradizionali fattori di rischio per CVD (fumo, diabete, ipertensione ed iperlipidemia) in 122.458 pazienti con CVD che prendevano parte a trials clinici cardiovascolari. Complessivamente, 15.4% di donne e 19.4% di uomini con CVD non presentavano neanche un singolo convenzionale fattore di rischio. Il numero dei pazienti senza alcun fattore di rischio aumentava con l'aumento dell'età e superava il 20% nelle donne con età superiore ai 75 anni e uomini con età superiore ai 65 anni. Il secondo studio valutava la presenza di un aumento di IMT e di placca in 118 giovani pazienti (età compresa tra 36 e 59 anni) con un solo fattore di rischio cardiovascolare (storia familiare di un malattia cardiovascolare precoce, fumo, dislipidemia o ipertensione) ma senza evidenza di CAD. Dei 118, 89 pazienti avevano un calcium score di 0 (suggerendo la mancata evidenza di CAD). Quando gli 89 pazienti erano valutati il 97% aveva un Framingham risk score inferiore a 1%; comunque il 34% aveva un placca carotidea e il 13% aveva uno spessore

miointimale aumentato oltre il 75° percentile¹⁵. Questi due studi evidenziano un gap nella valutazione dei fattori di rischio tradizionali e consentono di ottimizzare le misure di prevenzione in soggetti giovani apparentemente a basso rischio, poiché sembra che anche essi possano presentare malattia aterosclerotica.

Un altro valore di IMT è supportare il tentativo di prevenzione nella malattia aterosclerotica in atto. Per cui la valutazione dello spessore mio-intimale carotideo può essere utile nella valutazione dell'aterosclerosi in fase subclinica in giovani adulti.

Il rischio di morte cardiovascolare è sostanzialmente aumentato nei pazienti con CKD in trattamento dialitico. Se confrontati con la popolazione generale i pazienti in dialisi hanno un rischio relativo di mortalità cardiovascolare 10 volte più elevato¹⁶. La misura dello spessore intimo-mediale carotideo rappresenta una tecnica non invasiva per predire il peso dell'aterosclerosi in pazienti con insufficienza renale cronica.

Kawagishi T et al hanno rilevato che i pazienti in emodialisi presentano cambiamenti avanzati della parete arteriosa come dimostrato dall'ispessimento mio-intimale carotideo delle arterie carotidi e femorali che sono indici di ispessimento della parete arteriosa.¹⁷ Anche la rigidità arteriosa è aumentata nei pazienti in dialisi come dimostrato dall'aumento della Pulse Wave Velocity (PWV)¹⁸. Questi cambiamenti della parete arteriosa sono predittori significativi di mortalità cardiovascolare nella popolazione non uremica¹⁹ e nei pazienti in emodialisi²⁰. Comunque non è stato stabilito se l'aterosclerosi sia accelerata

dall'emodialisi. Sebbene alcuni autori abbiano riportato che lo IMT carotideo correli con la durata del trattamento dialitico²¹, altri non hanno confermato la correlazione tra anzianità dialitica e IMT²², PWV carotidea²², o variazioni istologiche della parete arteriosa²³.

Tetsuo Shoji et al. hanno dimostrato che lo spessore miointimale della parete carotidea dei pazienti in predialisi era aumentato analogamente a quello dei pazienti in dialisi suggerendo che non l'emodialisi, ma l'insufficienza renale cronica e le alterazioni metaboliche secondarie alla CKD hanno un effetto avverso sull'aterosclerosi carotidea. Inoltre la presenza di insufficienza renale in terapia conservativa mostrava un impatto significativo sull'aumento dello spessore miointimale carotideo indipendentemente da età, genere, pressione arteriosa, fumo e assetto lipidico²⁴.

L'ispessimento della parete arteriosa vascolare è significativo nei pazienti con CKD prima di cominciare il trattamento emodialitico sostitutivo e ciò supporta l'ipotesi che l'aterosclerosi avanzata nei pazienti in dialisi è dovuto non al trattamento emodialitico ma alla CKD e alle modificazioni metaboliche secondarie ad essa

Alcuni Autori hanno infatti dimostrato che un aumento di IMT, considerato come un marker surrogato di CVD, si verifica precocemente nel corso della insufficienza renale cronica (CKD)²⁵. Questi cambiamenti sono associati con un aumento dei fattori di rischio per malattia cardiovascolare nei pazienti con CKD^{26, 27}. Informazioni limitate sono disponibili circa il fatto che il declino della

funzione renale sia un fattore di rischio indipendente per CVD. Ryuichi Kawamoto²⁸ ha studiato il declino della funzione renale e la sua relazione con potenziali fattori di rischio quali ipertensione, iperglicemia e dislipidemia. Ha quindi valutato l'eventuale presenza di un'associazione indipendente tra GFR e misurazione precoce e diretta tramite ultrasuoni B-mode dello spessore mio-intimale. Per valutare queste due ipotesi sono stati studiati dati crociati. Questo studio ha mostrato che eGFR era correlato indipendentemente con IMT carotideo valutato tramite ultrasuoni. Un incremento di IMT si verificava parallelamente con il declino della funzione renale nei pazienti con CKD da media a moderata. Questi dati suggeriscono che eGFR è associato ad un aumento dell'incidenza dell'aterosclerosi e dello spessore miointimale carotideo, indipendente dai comuni fattori di rischio cardiovascolari sia negli uomini che nelle donne.

Al fine di spiegare l'aumentato rischio di aterosclerosi nell'CKD possono essere studiati i cambiamenti in diversi fattori di rischio di aterosclerosi, tradizionali e non, che si verificano precocemente, con l'inizio del declino della funzione renale.

Fetuina-A

Come abbiamo già detto l'insufficienza renale cronica è associata ad un significativo aumento del rischio cardiovascolare.

La mortalità cardiovascolare, anche quando stratificata per età, sesso e razza, risulta molto più elevata nella popolazione dialitica rispetto alla popolazione generale²⁹.

Nonostante la stretta associazione con la malattia renale cronica, i fattori di rischio tradizionali di Framingham (ipertensione arteriosa, diabete, dislipidemia, fumo) non sono esaustivi nel chiarire la più alta prevalenza e l'outcome negativo delle malattie cardiovascolari nei pazienti con CKD. Ciò ha determinato la necessità di identificare “nuovi” fattori di rischio cardiovascolari e tra questi è stato attribuito un ruolo di rilievo all'infiammazione cronica, allo stress ossidativo, all'anemia, alle alterazioni del metabolismo calcio/fosforo.

In particolare le calcificazioni vascolari sono state oggetto negli ultimi anni di numerosi studi.

I pazienti con CKD, ed in particolare quelli in dialisi, sviluppano frequenti ed estese calcificazioni vascolari e mostrano una stretta correlazione tra mortalità/morbilità cardiovascolari ed estensione delle calcificazioni cardiache e

vascolari³⁰. Sebbene sia noto da tempo che nei soggetti affetti da CKD il sistema cardiovascolare sia colpito da estese calcificazioni ectopiche, soltanto recentemente è emerso che il processo che sta alla base della loro formazione non è un meccanismo passivo, determinato dalla precipitazione di cristalli di idrossi-apatite, ma è un meccanismo attivo che coinvolge sistemi molecolari e cellulari tipici dell'osteogenesi. Le calcificazioni ectopiche, infatti, possono risultare da uno squilibrio tra fattori regolatori positivi e negativi e possono quindi essere causate da variazioni locali o sistemiche della disponibilità di calcio e/o fosfato, dall'attivazione ectopica di segnali osteogenici, ma anche dalla down-regulation di meccanismi inibitori³¹.

L'incremento dei livelli sierici di fosfato è in grado di indurre la trasformazione delle cellule muscolari lisce vascolari in cellule simil-osteoblastiche, capaci di produrre fattori noti come agenti induttori di mineralizzazione nel tessuto osseo³²; ma importanti calcificazioni extraossee sono state descritte indipendentemente dall'ipercalcemia e dall'iperfosfatemia in pazienti in dialisi ed in uremici paratiroidectomizzati.

La maggior parte dei fattori che inibiscono la calcificazione agiscono localmente e sono proteine cellulari come la MGP (Matrix GLA Protein)³³, altre sono proteine circolanti ed agiscono a livello sistemico: la più importante di queste è la Fetuina A.

Questa proteina è un membro della superfamiglia delle cistatine degli inibitori delle cisteina-proteasi che si caratterizza per la presenza di domini

cystatin-like e per la ricchezza di chininogeno ed istidina³⁴. La proteina sierica fetuina è stata in origine descritta come la più importante globulina del feto e del neonato di vitello³⁵. È abbondante nel siero dei mammiferi e proteine analoghe esistono negli uccelli e nei rettili. L'omologo umano viene chiamato α 2-Heremans-Schimid glycoprotein (α 2-AHSg) dal nome dei due scopritori.

E' una proteina ubiquitaria, abbondante nello spazio extracellulare, che rende conto di più del 50% dell'effetto inibitorio del siero sulla precipitazione minerale³⁶⁻³⁷. È espressa nel fegato adulto e in molti organi durante l'embriogenesi²⁴. Specificatamente potrebbe essere il principale inibitore della precipitazione minerale durante la vita fetale quando la concentrazione di albumina è bassa. Questa conclusione è supportata dall'osservazione che la concentrazione di calcio sierico e quella di fetuina sono strettamente correlate durante lo sviluppo fetale in ogni specie e anche quando diverse specie sono comparate. Prodotta nel fegato, tende ad accumularsi nella matrice mineralizzata di ossa e denti, a causa della sua alta affinità per l'idrossiapatite³⁸⁻³⁹.

Essa agisce inibendo transitoriamente (per diverse ore) la formazione de novo e la precipitazione del precursore minerale dell'apatite ma non lo dissolve una volta formatosi^{12,40}; inoltre inibisce le calcificazioni indesiderate senza inibire la mineralizzazione ossea: è stato dimostrato che l'inibizione è mediata dalla formazione transitoria di "particelle calciproteiche", sfere colloidali insolubili, che contengono α 2-AHSg e calcio fosfato basico (BCP)⁴¹. In condizioni normali l'emivita del α 2-AHSg è stimata essere di diversi giorni. Una importante

porzione di questa glicoproteina è probabilmente eliminata attraverso il legame al recettore asialoglicoproteina, un'altra quantità potrebbe essere eliminata attraverso la formazione di un ampio complesso composto da $\alpha 2$ -AHSg, MGP e minerale (calcio/fosforo).

A livello cellulare $\alpha 2$ -AHSg è una molecola multifunzionale in grado di agire come antagonista del TGF β , regolare l'osteogenesi citochino-dipendente, inibire il recettore insulinico tirosina-kinasi ed alcune attività proteasiche⁴². Diversi studi suggeriscono che $\alpha 2$ -AHSg possa giocare un ruolo più generale nella regolazione della fagocitosi e nell'immunità innata; inoltre può agire da opsonina⁴³, spegnere il burst ossidativo associato con l'uptake dei cristalli di apatite dai neutrofili⁴⁴ e costituire complessi anticorpali coinvolti nel marking e nella rimozione dei neutrofili apoptotici⁴⁵. Basse concentrazioni di $\alpha 2$ -AHSg sono associate con depressione dell'immunità cellulare⁴⁶ e meccanismi di difesa dell'ospite non specifici⁴⁷.

Molti disordini della calcificazione, inclusi aterosclerosi e calcifilassi, hanno una componente infiammatoria, e inoltre $\alpha 2$ -AHSg umana è una proteina negativa di fase acuta down-regulated dopo infezione o trauma⁴⁸.

Le concentrazioni sieriche di $\alpha 2$ -AHSg sono significativamente più basse nei pazienti in emodialisi che nei controlli sani, e correlano inversamente con tutte le cause di mortalità²⁹.

Molti studi hanno evidenziato una associazione tra calcificazioni vascolari,⁴⁹ stato infiammatorio ed aterosclerosi. La stretta correlazione di questa

proteina con lo stato infiammatorio è legata alla probabile influenza che essa svolge nel favorire la risoluzione dello stato flogistico, modulando la fagocitosi macrofagica delle cellule apoptotiche⁵⁰.

Ketteler et al. hanno dimostrato che il deficit di Fetuina-A è associato allo stato infiammatorio e che esiste un link tra bassi livelli sierici di Fetuina-A, comparsa di calcificazioni cardiovascolari e mortalità sia cardiovascolare che generale nei pazienti in dialisi.

Poiché lo stato microinfiammatorio cronico, indicato dall'aumento della concentrazione della CRP, è uno dei fattori di rischio cardiovascolare maggiori nei pazienti in dialisi e nella popolazione generale, la downregulation di $\alpha 2$ -AHSg può rappresentare un legame diretto tra infiammazione cronica e calcificazioni vascolari e valvolari in grado di portare alla patologia cardiovascolare.

Quindi, Kettler identifica il deficit di $\alpha 2$ -AHSg come un nuovo fattore di rischio di mortalità uremico/infiammatorio-correlata nei pazienti in dialisi²⁹.

Inoltre è stato recentemente osservato che anche nei pazienti con CKD di grado moderato i livelli sierici di Fetuina-A erano significativamente ridotti ed associati inversamente sia con l'ipertrofia ventricolare sinistra, che sappiamo essere un importante predittore di mortalità cardiovascolare e un marker surrogato di malattia cardiovascolare preclinica, che con l'incremento della hs-CRP.⁵¹

Lo studio di Fiore et al ha documentato per la prima volta che, in pazienti con normale funzione renale e con aterosclerosi dei vasi periferici i livelli sierici di Fetuina-A sono più alti che nei soggetti sani, e correlano con l'entità della malattia aterosclerotica.⁵²

Proteina C reattiva ad alta sensibilità

La proteina C-reattiva (CRP) è il prototipo delle proteine di fase acuta. La concentrazione di queste proteine può incrementarsi dal 50% (ceruloplasmina, complemento) a più di 1000 volte (CRP) in risposta ad uno stimolo.

La CRP è una proteina allosterica della superfamiglia altamente conservata delle pentraxine, con una stretta omologia nella sequenza tra diverse specie. È costituita da 5 sub-unità identiche (protomeri), aggregate in una forma pentamerica simmetrica da legami non covalenti. Ciascuna subunità consta di 206 aminoacidi in una singola catena polipeptidica con un peso molecolare totale di circa 23000 Da. I due residui di cistina nelle posizioni 36 e 78 sono coinvolti in un legame disulfide⁵³. Ciascuna subunità ha la capacità di legare 2 ioni calcio per cui è possibile un legame specifico calcio dipendente con i ligandi. Il più avido ligando è rappresentato dalla fosfocolina: un costituente dei fosfolipidi delle membrane cellulari e delle lipoproteine plasmatiche⁵⁴. Altri ligandi in grado di legare con legame calcio dipendente la CRP sono i costituenti nucleari: istoni,

cromatina e RNA. Per cui la CRP può giocare un ruolo importante nella clearance e nel processamento degli antigeni nucleari, prevenendo così la risposta autoimmune verso il materiale nucleare. Esiste anche un legame calcio-indipendente con i polimeri cationici (proteine ricche in lisina e arginina)⁵⁵. Da queste proprietà di legame possono dipendere gli effetti modulatori della CRP sul processo di infiammazione poiché molti polimeri sono secreti dai neutrofili.

Il principale sito di sintesi della CRP è l'epatocita e il gene umano è localizzato sul braccio lungo del cromosoma 1. In circostanze fisiologiche la CRP umana ha una concentrazione sierica di 0,8 mg/l. In vitro e in vivo la trascrizione del mRNA di CRP è fortemente regolata dalla IL-6⁵⁶, risposta incrementata se in combinazione con IL-1 β . Dopo la trascrizione, mRNA-CRP è convertito in protomeri. Nel reticolo endoplasmico 5 protomeri sono assemblati in un pentamero ciclico, che è sia secreto che conservato. Quando rilasciata in circolo la proteina è equamente distribuita nel compartimento vascolare senza sostanziale sequestro nei siti di infiammazione⁵⁷. Il drammatico incremento nei livelli di CRP può eccedere i 300 mg/l entro 48 ore dopo un evento acuto.

C'è una forte correlazione positiva tra la durata e l'intensità dello stimolo e il numero di epatociti che sintetizzano CRP. La maggior parte del CRP è captato e degradato nello stesso sito di produzione: l'epatocita⁵⁸. Una piccola parte è captato e processato dai neutrofili e dai macrofagi. La clearance della proteina nel circolo sanguigno avviene con un'emivita biologica di 19 ore. Questo tempo di

dimezzamento è indipendente dai livelli di CRP e inoltre dalle circostanze fisiologiche o fisiopatologiche. Così il solo determinante della concentrazione plasmatica di CRP è la quantità di sintesi, che giustifica l'uso clinico del CRP sierico quale indice per monitorare l'attività dell'infiammazione e di altri processi patologici. Anche meccanismi post-trascrizionali giocano un ruolo nei livelli di CRP. Dopo uno stimolo c'è una pronunciata accelerazione della secrezione da parte del reticolo endoplasmico che spiega il rapido incremento della concentrazione. È stata identificata anche una sintesi extraepatica di CRP: nei neuroni cerebrali in pazienti con malattia di Morbo di Alzheimer, nei linfociti periferici e all'interno della placca aterosclerotica⁵⁹. La CRP può giocare un ruolo importante nel processo infiammatorio delle lesioni aterosclerotiche.

A parte il suo discusso ruolo di marker di infezione e/o infiammazione nella pratica clinica, la proteina ha un'ampia varietà di proprietà e funzioni biologiche. La CRP gioca un importante ruolo nella difesa innata dell'ospite contro diversi microrganismi, quali batteri e funghi, grazie alla sua capacità di opsonizzazione e di attivazione del complemento umano.

Le stesse capacità di opsonofagocitosi possono indurre l'aterosclerosi, per la quale l'attenzione è focalizzata sulla CRP. Questo ruolo può avere una doppia caratteristica. Primo, la CRP può giocare un ruolo attivo nel processo aterosclerotico attraverso l'induzione dell'espressione di differenti molecole di adesione nelle cellule endoteliali ed dell'attivazione del complemento umano all'interno della placca. Inoltre le recenti scoperte sulla produzione locale di CRP

e di proteine del complemento all'interno della placca suggeriscono un ruolo attivo della cascata infiammatoria e della CRP nella formazione e progressione della placca aterosclerotica. ha azione chemotattica nei confronti dei monociti e facilita l'uptake delle LDL (low density lipoprotein) da parte dei macrofagi in vitro⁶⁰. Nelle cellule endoteliali, la PCR facilita il rilascio di PAI-1 ed endotelina⁶¹ e aumenta l'espressione delle molecole d'adesione cellulare, riduce la biodisponibilità di ossido nitrico e la dilatazione ossido nitrico dipendente nella tessuto vascolare⁶². Secondo, i livelli di CRP riflettono l'attivazione dell'infiammazione nelle lesioni aterosclerotiche, rispecchiando il grado di vulnerabilità ed instabilità della placca. Per questa ragione, un incremento del livello di proteina può essere preludio alla rottura della placca e così, della malattia occlusiva arteriosa. Qualunque sia il ruolo della CRP nel processo aterosclerotico, è stato provato che un incremento della sua concentrazione plasmatica, con un cut-off approssimativo di 3 mg/l, è associato ad un aumento del rischio di malattia occlusiva arteriosa, specialmente nelle sindromi coronariche acute.

Numerosi studi epidemiologici hanno mostrato come la concentrazione plasmatica della hsCRP rappresenti un forte predittore di eventi ischemici cardiovascolari in pazienti con angina stabile o instabile. La hsCRP sembra essere correlata con le placche soft che hanno alta tendenza a sviluppare rottura, e sembra anche predire eventi cardiovascolari nei soggetti apparentemente sani⁶³. E' stato ipotizzato che la hsCRP potrebbe essere utilizzata per individuare

pazienti a medio rischio che potrebbero beneficiare di un'aggressiva terapia preventiva cardiovascolare. Inoltre, CRP e elevati valori pressori in combinazione hanno un valore predittivo aggiuntivo per l'outcome cardiovascolare, contribuendo come determinanti indipendenti del rischio cardiovascolare. La CRP, quindi, potrebbe essere più di un marker dell'infiammazione. È stato dimostrato che aumentati livelli di PCR sono associati con basse concentrazioni di fetuina-A, con il rischio cardiovascolare e con il rischio di mortalità per tutte le cause nei pazienti uremici. Questi dati potrebbero spiegare l'aterosclerosi accelerata.

La patogenesi infiammatoria della malattia aterosclerotica sembrerebbe indicare che la misurazione della CRP e il goal di riduzione dei livelli di CRP possano essere degli strumenti validi nella strategia del trattamento terapeutico.

In relazione al suo ruolo nell'ambito dell'infiammazione e della malattia aterosclerotica, elevati livelli di CRP risultano essere predittori di mortalità cardiovascolare non soltanto nella popolazione generale, con particolare riguardo ai pazienti con ipertensione arteriosa, ma anche in quelli con CKD, sia in terapia conservativa che sostitutiva, nei quali sembra essere associata a patologie concomitanti.

Recentemente è stata dimostrata, in pazienti con ipertensione essenziale, una stretta relazione tra i livelli di CRP e quelli di $\text{TNF-}\alpha^{64}$, entrambi fattori riscontrati in grandi quantità nelle lesioni aterosclerotiche.

Tumor Necrosis Factor-alfa

Il Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α) è una citochina proflogistica prodotta da diverse cellule tra cui macrofagi, cellule endoteliali, e cellule muscolari lisce. Presenta un ampio spettro d'azione, agendo tanto su linfociti T e B, macrofagi e cellule endoteliali che su fibroblasti, oltre che su altre cellule. Esso insieme a IFN- γ e a IL-1 stimola la produzione di IL-6 dalla cellule muscolari lisce⁶⁵. La trascrizione del gene dell'IL-6 è il principale stimolo epatico per la produzione di CRP ed è in grado di indurre la formazione della lesione aterosclerotica. L'IL-6 e il TNF- α occupano un ruolo centrale nell'amplificazione della cascata infiammatoria. Le principali azioni biologiche del TNF- α in risposta ad agenti patogeni sono: innalzamento della temperatura corporea, induzione di proteine della fase acuta da parte degli epatociti ed induzione dell'espressione di molecole di adesione da parte di varie cellule bersaglio.

E' dotato della capacità di indurre attivazione endoteliale, e rappresenta il più forte attivatore paracrino di monociti e macrofagi⁶⁶. E', inoltre, in grado di reclutare monociti nelle lesioni aterosclerotiche nelle fasi precoci dell'aterosclerosi⁶⁷. Sia la CRP che il TNF- α sono stati riscontrati in considerevoli quantità nelle lesioni aterosclerotiche⁶⁸.

Ha un effetto diretto sulla contrattilità cardiaca, sulla pressione sanguigna e sulla regolazione della coagulazione.

Inoltre incrementi del TNF- α nella fase stabile dopo infarto miocardico sono associati con un aumento del rischio di eventi coronarici ricorrenti⁶⁹.

L'emivita plasmatica di TNF- α è breve, fattore che può limitare la sua potenziale utilità clinica come mezzo di screening. A questa citochina è attribuita la capacità di indurre attivazione endoteliale, ed è il più forte attivatore di monociti e macrofagi. È stato, inoltre, dimostrato che essa contribuisce al processo di rimodellamento del miocardio danneggiato. La potenzialità del TNF- α di indurre ipertrofia miocardica è stata dimostrata osservando l'effetto dell'esposizione dei miociti cardiaci a TNF- α in vitro. La proliferazione dei cardiomiociti, misurata attraverso la capacità di incorporare fenilalanina, era aumentata quando TNF- α era aggiunto al medium. Inoltre questa proliferazione era bloccata dall'aggiunta di anticorpi anti TNF- α .

L'effetto del TNF- α sul rimodellamento cardiaco in vivo è stato elegantemente studiato usando topi transgenici con iperespressione esclusivamente cardiaca di TNF- α ⁵¹. Quando comparato con topi selvaggi della stessa età, i topi transgenici mostravano un ventricolo sinistro allargato e dilatato.

Interleuchina-6

L'Interleuchina-6 (IL-6) è una citochina infiammatoria secondaria, che induce l'aumento delle concentrazioni plasmatiche di fibrinogeno, PAI-1 e CRP. Inoltre, è stato osservato che in soggetti in buone condizioni di salute, elevati livelli di Interleuchina-6 sono associati ad un aumentato rischio futuro di infarto del miocardio.

Promuove l'aterogenesi inducendo l'attivazione di foam cells, monocito-macrofagica, piastrinica, l'espressione di fattori tissutali, il rilascio di altre citochine procoagulanti o la downregulation di citochine ateroprotettive quali IL-10 e transforming growth factor β -1 (TGF β -1). IL-6, CRP e monocyte/macrophage colony-stimulating factor (MCSF) sono interrelate ed è stato dimostrato che presentano concentrazioni aumentate nei soggetti con CAD. Elevati livelli di IL-6 predicono una maggiore prevalenza di eventi cardiovascolari nella popolazione generale⁷⁰ e inoltre se associati ad aumento di MCSF o riduzione di TGF β -1 predicono un outcome avverso in pazienti con CAD indipendentemente dai tradizionali fattori di rischio. In uno studio su 438 soggetti sottoposti a coronarografia, l'interleuchina-6 è risultata il miglior predittore di stenosi critica coronarica⁷¹.

SCOPO

Scopo di questo studio è stato di valutare la correlazione esistente tra Fetuina-A e morbilità cardiovascolare, intesa come danno d'organo subclinico, sia in pazienti con ipertensione essenziale e normale funzione renale che in pazienti con insufficienza renale cronica (CKD) in terapia conservativa (Stadi 1-4 della classificazione NKF). Altri obiettivi erano costituiti dall'analisi del potere predittivo della Fetuina-A rispetto al danno d'organo e dall'osservazione, dell'andamento nel tempo, del rapporto tra Fetuina-A e morbilità cardiovascolare. Inoltre, sono state analizzate le interazioni con alcuni biomarkers di flogosi ed attivazione endoteliale. A tal fine sono state indagate le modificazioni delle concentrazioni plasmatiche delle molecole oggetto dello studio e dello spessore mio-intimale carotideo e le relative, eventuali, relazioni.

MATERIALI E METODI

In accordo con la dichiarazione di Helsinki e con le Linee Guida istituzionali, il protocollo è stato approvato dal comitato etico locale e i soggetti sono stati informati del carattere scientifico dello studio ed hanno dato il loro assenso a partecipare tramite consenso informato.

Popolazione in studio

Sono stati reclutati e osservati, tra i pazienti afferenti al nostro Dipartimento, 100 soggetti con insufficienza renale cronica in terapia conservativa (Stadi 1-4 della classificazione NKF), di entrambi i sessi, di età compresa tra i 30 e i 75 anni, e 100 soggetti di controllo con ipertensione essenziale, di pari età, ma con funzione renale normale (valutata mediante la stima del filtrato glomerulare ottenuta mediante equazione MDRD a 4 variabili).

La pressione clinica è stata considerata come la media di tre misurazioni consecutive effettuate dopo 5 minuti di riposo, utilizzando uno sfigmomanometro a mercurio.

Criteri di esclusione erano: età <30 anni e >75 anni, diabete mellito di tipo 1 o 2, ipertensione arteriosa secondaria o maligna, storia di stroke o TIA, malattia coronarica o infarto del miocardio, anomalie del ritmo cardiaco o della conduzione in trattamento farmacologico, scompenso cardiaco. Presupposto fondamentale dell'arruolamento era l'assenza di processi flogistici in corso di qualsivoglia natura, come rilevabile attraverso la valutazione dei principali indici di flogosi e dell'emocromo.

Le forme di ipertensione secondaria sono state escluse attraverso esame clinico, determinazione della creatinemia, degli elettroliti plasmatici e urinari, dei livelli di catecolamine e dell'attività reninica plasmatici, ed ecografia renale.

Metodi di Laboratorio e Strumentali

Nel giorno dello studio alle 9:00 a.m., con il paziente in posizione supina ed a digiuno sono stati prelevati, attraverso un catetere posto in vena antecubitale, campioni di sangue, per l'analisi dei livelli plasmatici di Glicemia, Insulinemia, Azotemia, Creatinemia, Natriemia, Potassiemia, Calcemia, Fosforemia, Emocromo con formula leucocitaria, Fetuina-A, CRP, TNF- α , CT-1, PIP, Molecole di adesione (ICAM-1, VCAM-1, E-selectina), IL-6, hs-CRP, TNF- α , 8-ISO-PGF-2 α , MG-protein. È stata inoltre effettuata valutazione della Proteinuria 24 ore.

Tutti i pazienti sono stati sottoposti a esame Ecocolor-Doppler dei tronchi epiaortici al fine di valutare lo spessore mio-intimale carotideo, a esame ecocardiografico, per valutare la massa ventricolare sinistra, e a monitoraggio pressorio delle 24 ore.

Fetuina-A, hs-CRP, TNF- α , IL6 sono state misurate tramite metodica ELISA.

Fetuina-A è stata misurata attraverso un kit commerciale (Epitope Diagnostics In, San Diego, CA, USA), la cui sensibilità è 2.5 ng/ml.

hs-CRP è stata misurata con un kit ELISA disponibile in commercio (Diagnostic Biochem, London, Canada). La sensibilità è 10 ng/ml, il coefficiente di variazione inter-assay è <10% e quello intra-assay è <8%.

TNF- α è stata saggiato attraverso il Kit Amersham Biosciences (Little Chalfont, England), la sensibilità è <5 pg/ml, la riproducibilità sia intra che inter-assay ha un coefficiente di variazione <10%.

Il monitoraggio pressorio 24 ore è stato eseguito con SpaceLabs 90207 recorder (Redmond, Washington, USA).

La valutazione ultrasonografica cardiaca è stata effettuata con ecocardiografo-color-doppler Acuson Sequoia 512.

La valutazione ultrasonografica vascolare è stata effettuata con ecografo Siemens G50.

L'esame eco-color-doppler TSA è stato eseguito con il paziente in posizione supina, con il capo esteso ed extrarotato dapprima a destra, quindi a

sinistra. E' stata analizzata inizialmente la carotide comune dall'origine alla biforcazione, in sezione trasversale e longitudinale. In B-mode veniva rilevata la presenza di placche e misurato lo spessore intimo-mediale (IMT) a livello della carotide comune, ad 1 cm dalla biforcazione, a livello della biforcazione e della carotide interna nella parete distale. Per ciascun segmento l'immagine ultrasonografica è stata fissata in più direzioni; delle multiple misurazioni effettuate si prendeva in considerazione l'IMT maggiore e la media degli IMT esaminati a livello dei diversi segmenti.

L'analisi statistica è stata effettuata con software SYSTAT DATA, versione 5.2 (Systat, Evanston, IL, USA).

Metodi Statistici

L'analisi statistica è stata effettuata con software SYSTAT DATA, versione 5.2 (Systat, Evanston, IL, USA).

Differenze tra i gruppi sono state valutate utilizzando il test "t" di Student per dati appaiati e non.

Analisi semplici e multiple di regressione sono state utilizzate per valutare le relazioni tra le variabili.

L'analisi di regressione multipla è stata eseguita nei due gruppi di soggetti.

Queste analisi consideravano IMT-max come una variabile dipendente in un modello che comprendeva età, pressione arteriosa sistolica, BMI, hsPCR, TNF α , 8-Isoprostano, IL-6, Fetuina-A, eGFR-MDRD4.

L'analisi statistica è stata condotta, tramite curve ROC, su entrambi i gruppi di pazienti, al fine di analizzare il valore predittivo della fetuina-A nei confronti dell'IMT, considerando 0,9 mm come cut-off.

RISULTATI

Nella tabella 1 sono stati riportati i dati demografici dei pazienti con CKD e degli ipertesi. La comparazione tra ipertesi con CKD ed Ipertesi di controllo ha mostrato valori analoghi per quanto riguarda età, BMI, pressione arteriosa sistolica.

I livelli di Fetuina-A (*Figura 2*) plasmatica erano significativamente più bassi negli ipertesi con CKD che nei pazienti con ipertensione essenziale (EH) ($p < 0,00001$). Analogamente le concentrazioni plasmatiche dei più importanti indici di flogosi quali hs-CRP ($p < 0,00001$) (*Figura 5*), IL-6 ($p < 0,00001$) (*Figura 3*) e TNF- α ($p < 0,00001$) (*Figura 4*) così come quelle delle molecole di adesione ICAM ($p < 0,00001$), VCAM ($p < 0,00001$), E-Selectina ($p < 0,00001$) e degli indici di stress ossidativo NO ($p < 0,00001$) e 8-ISO ($p < 0,00001$) mostravano differenze statisticamente significative nei due gruppi di pazienti in esame essendo e le prime due più basse e le altre più alte nei pazienti con CKD che in quelli con EH.

Tra i pazienti ipertesi con insufficienza renale 74/100 presentavano uno spessore miointimale-massimo (IMT-max) aumentato (74%) mentre in quelli con

ipertensione essenziale 51/100 (51%) avevano IMT-max >0,9 con una differenza statisticamente significativa tra i due gruppi in esame.

Il confronto tra CKD con IMT >0,9 (n 74) con quelli con IMT <0,9 (n 26) non mostrava differenze statisticamente significative nei livelli plasmatici delle molecole oggetto di studio. Non c'erano differenze significative nel GFR stimato tra i due sottogruppi osservati (49±14 vs 41±15 ml/min).

Al contrario, sono state osservate differenze statisticamente significative tra i livelli di Fetuina-A (p >0.001) (*Figura 6*), IL-6 (p 0.01) (*Figura 7*), hsPCR (p 0.02) (*Figura 8*), TNFα (p 0.001) (*Figura 9*), molecole di adesione e indici di stress ossidativo quando comparati nei pazienti ipertesi con IMT-max aumentato con quelli con IMT-max nei limiti. Non c'erano differenze significative nei valori di filtrato stimato, di colesterolo totale e nei livelli pressori tra i due sottogruppi osservati.

Un ulteriore confronto tra pazienti con CKD e con ipertensione essenziale, con IMT aumentato, dimostrava più bassi livelli di Fetuina-A (0.6±0,1 vs 0.75±0.09 g/l, p <0.00001) (*Figura* e valori più alti di TNF-α (4.2±0.5 vs 3.5±0.6 ng/ml, p <0.00001), IL-6 (124±40 vs 80±40 pg/ml, p <0.00001), TGF-β (34±7 vs 28±4, p <0.00001), di molecole di adesione e degli indici di stress ossidativo nei primi rispetto ai secondi.

Al follow-up sono stati rivalutati 40 pazienti con ipertensione essenziale e 60 pazienti nefropatici. In entrambi i casi non sono state rilevate differenze

statisticamente significative nei due gruppi in esame quando confrontati con i rispettivi pazienti del follow-up.

Analisi di correlazioni univariate e multivariate

Nei pazienti con insufficienza renale cronica l'analisi della correlazione univariata mostrava che la Fetuina-A è correlata, come noto, con il eGFR-MDRD ($r\ 0.59$, $p<0.0001$) (*Figura 10*).

Inoltre, sono state riscontrate correlazioni inverse e significative tra i livelli plasmatici di Fetuina-A e quelli di hs-CRP ($r-0.68$, $p<0.0001$) (*Figura 11*), IL-6 ($r-0.68$, $p<0.0001$) (*Figura 12*) e TNF- α ($r-0.37$, $p<0.0001$) (*Figura 13*). In pazienti con CKD la Fetuina-A correlava inversamente con i valori di IMT-max ($r-0,19$, $p\ 0.05$) (*Figura 14*).

Nei controlli con ipertensione essenziale sono state riscontrate correlazioni statisticamente significative tra Fetuina-A e IMT-max ($r-0.34$, $p<0.0001$) (*Figura 15*). Quest'ultimo era correlato significativamente anche con hs-CRP ($r\ 0.28$, $p<0.004$) (*Figura 17*), TNF- α ($r\ 0.37$, $p<0.0001$) (*Figura 18*), IL-6 ($r\ 0,31$, $p<0.003$) (*Figura 16*), molecole di adesione ed inversamente con indici di stress ossidativo.

L'analisi di regressione multipla è stata eseguita considerando IMT-max come variabile dipendente in un modello che comprendeva età, BMI, Fetuina-A, hs-CRP, IL-6, TNF- α , 8-Isoprostano, eGFR-MDRD.

Questa analisi dimostrava che in pazienti con CKD soltanto TNF- α (β 0.83 $p < 0.05$), 8-Isoprostano (β 0.5 $p < 0.01$) e età (β 0.96 $p < 0.0001$) erano predittori indipendenti di IMT. La relazione tra IMT e Fetuina-A non presentava una forte significatività statistica (β 0.5, $p < 0.08$).

Lo stesso modello di regressione multipla applicata allo studio della popolazione EH mostrava che soltanto età (β 0.44, $p < 0.0001$), e Fetuina-A (β -0.34, $p < 0.01$) erano predittori indipendenti di IMT.

Inoltre in entrambi i gruppi di pazienti con CKD e EH sono state ottenute curve ROC considerando Fetuina-A, hsCRP, IL-6 e TNF α come predittori di ispessimento intimo-mediale carotideo (IMT-max > 0.9 mm).

Nei pazienti nefropatici i quattro biomarcatori non si sono rivelati buoni predittori di ispessimento intimo-mediale carotideo con aree ROC per Fetuina-A 0.5 con livello di significatività P 0.5, per TNF α 0.5 con livello di significatività P 0.17, per IL-6 0.55 con livello di significatività P 0.45 rispettivamente.

Al contrario Fetuina-A si è rivelata un buon predittore di IMT carotideo aumentato con area ROC 0.76 con livello di significatività 0,0001 e presentando, per un valore di 0.77 g/l, una sensibilità del 65% e una specificità del 70% nei pazienti con ipertensione essenziale. Analogamente è stata osservata una sensibilità 79% specificità 47.5%, per un valore di 1.19 mg/l di hsPCR con AUC

0.64 con livello di significatività P 0.007. Una buona specificità 85.2%, per un valore di ET-1 di 3,5 mg/l con area ROC 0.7 con livello di significatività 0,0004. Infine per un valore di TNF α di 3.5 ng/ml, è stata riscontrata una sensibilità del 41.8% e una specificità del 91.8%, con AUC 0,71 con livello di significatività P 0.0001.

DISCUSSIONE

Negli ultimi anni diversi studi hanno utilizzato la misurazione dello spessore mio-intimale carotideo come marker precoce di aterosclerosi: è stato infatti dimostrato che esso correla significativamente con la presenza di malattia coronarica ed è un predittore indipendente di eventi cerebro-cardiovascolari sia fatali che non, nella popolazione generale e in quella dei pazienti con insufficienza renale cronica in terapia dialitica . Queste scoperte ci illuminano circa l'importanza della diagnosi precoce della malattia aterosclerotica al fine di una efficace prevenzione cardiovascolare.

I pazienti affetti da insufficienza renale cronica terminale, così come i pazienti ipertesi presentano un rischio maggiore di sviluppare malattia aterosclerotica rispetto alla popolazione generale. Infatti la malattia cardiovascolare è la più comune causa di morbilità e di mortalità nei pazienti affetti da insufficienza renale cronica ed è responsabile di circa il 40-50% dei decessi nei pazienti in trattamento dialitico⁷².

Preston et al, hanno recentemente dimostrato che l'ispessimento mio-intimale carotideo è significativamente aumentato in pazienti con insufficienza renale cronica moderato-severa⁷³.

Nonostante la stretta associazione con la malattia renale cronica, i fattori di rischio tradizionali di Framingham (ipertensione arteriosa, diabete, dislipidemia, fumo) non sono esaustivi nel chiarire la più alta prevalenza e l'outcome negativo delle malattie cardiovascolari nei pazienti con CKD. Ciò ha determinato la necessità di identificare “nuovi” fattori di rischio cardiovascolari e tra questi all'infiammazione cronica, allo stress ossidativo, all'anemia, alle alterazioni del metabolismo calcio fosforo è stato attribuito un ruolo di rilievo.

Ketteler et al. hanno dimostrato che il deficit di Fetuina-A è associato allo stato infiammatorio e che esiste un link tra bassi livelli sierici di Fetuina-A, comparsa di calcificazioni cardiovascolari e mortalità sia cardiovascolare che generale nei pazienti in dialisi²¹.

La Fetuina-A è regolata come una proteina negativa di fase acuta in vivo e la sua concentrazione crolla durante l'infiammazione⁷⁴

In linea con queste evidenze sono i risultati di questo studio che dimostrano, non solo nei pazienti CKD ma anche negli EH una significativa correlazione inversa tra i livelli sierici di Fetuina-A e quelli di hs-CRP, che sappiamo essere uno dei principali fattori di rischio di morbilità cardiovascolare, mostrando quindi una correlazione inversa della Fetuina-A con lo stato flogistico.

Hs-CRP, così come i più importanti indici di flogosi quali Interleuchina-6 e il Tumor Necrosis Factor alfa, risulta, inoltre, significativamente aumentata nei pazienti nefropatici quando confrontati con ipertesi essenziali con normale funzione renale, BMI analogo e sovrapponibili per valori pressori, suggerendo

un'attivazione infiammatoria proaterogena sin dagli stadi precoci della malattia renale.

L'importanza di questo fenomeno si conferma anche nei pazienti ipertesi di controllo con IMT-max aumentato che presentano una differenza statisticamente significativa nella concentrazione plasmatica di Fetuina-A, indici di flogosi (hsCRP, TNF α , IL6), molecole di adesione, indici di stress ossidativo rispetto agli ipertesi con IMT<0.9.

E' stata inoltre evidenziato una correlazione inversa tra i livelli di Fetuina-A e lo spessore mio-intimale carotideo, sia nella popolazione di soggetti con insufficienza renale cronica (Stadi 1-4 della classificazione NKF) che nella popolazione di ipertesi con funzione renale nei limiti della norma.

L'evidenza che nei pazienti con CKF i livelli plasmatici di Fetuina-A siano significativamente ridotti, e correlati inversamente con IMT-max sembrano supportare risultati analoghi ottenuti, tra gli altri, da Stenvinkel et al, ma in una popolazione composta da soggetti con insufficienza renale cronica terminale in terapia conservativa, indipendentemente da fattori di rischio confondenti quali l'età, la presenza di malattia cardiovascolare, il diabete mellito, l'albuminemia e l'infiammazione⁷⁵.

Nonostante ciò, in accordo con l'analisi statistica multivariata, sembra che la Fetuina-A non sia, per se, in grado di indurre direttamente incremento dell'IMT, ma necessiti dell'attivazione del TNF α suggerendo un ruolo

biologicamente rilevante dell'infiammazione nelle modificazioni vascolari del paziente nefropatico.

Quanto evidenziato sembra, invece, andare contro evidenze recenti che mostrano una correlazione diretta dei livelli sierici di Fetuina-A con la presenza di un fenotipo dismetabolico e un profilo lipidico proaterogeno, indipendentemente da ipertensione, BMI e stato infiammatorio nei pazienti con funzione renale normale⁷⁶. Fiore et al. hanno inoltre evidenziato che la concentrazione sierica di Fetuina-A era significativamente più elevata in pazienti con aterosclerosi periferica rispetto ai soggetti sani.

Questo studio è, al contrario, in linea con uno studio di Ix et al. che evidenzia come in pazienti non nefropatici i livelli di Fetuina-A correlano inversamente con la presenza di calcificazioni coronariche in stadio avanzato e di calcificazioni dell'anulus mitralico. Analogamente è stata evidenziata una correlazione inversa tra i livelli di Fetuina-A e l'incidenza di stenosi aortica nei soggetti non diabetici, per cui la Fetuina-A potrebbe rappresentare un importante fattore inibente le calcificazioni distrofiche nella popolazione con malattia coronarica⁷⁷.

Gli scarsi risultati ottenuti al follow-up nei pazienti ipertesi sono verosimilmente dovuti all'esiguo numero di soggetti rivalutati a causa di difficoltà di vario tipo.

Più semplice è stata la rivalutazione dei pazienti nefropatici che tuttavia non ha fornito risultati statisticamente significativi.

CONCLUSIONI

In conclusione questi dati dimostrano che nei pazienti con insufficienza renale cronica (Stadi 1-4 della classificazione NKF) la Fetuina-A è ridotta e correla indirettamente con l'entità dello spessore mio-intimale carotideo, poiché il suo ruolo biologico è mediato dalla flogosi o, verosimilmente, da altri fattori che devono ancora essere indagati.

Questi dati mostrano inoltre, il valore predittivo della Fetuina-A nei confronti dell'IMT in pazienti ipertesi in assenza di disfunzione renale.

BIBLIOGRAFIA

-
- 1 United States Renal Data System. USRDS annual report. *Am J Kidney Dis*, 32: S81-S88, 1998.
 - 2 Parfrey PS, Foley RN. The clinical epidemiology of cardiac disease in chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol*, 10: 1606-1615, 1999
 - 3 National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis* 2002; 39 (Suppl 1): S1-S266.
 - 4 Kastelein JJ, de Groot E. Ultrasound imaging techniques for the evaluation of cardiovascular therapies. *Eur Heart J*. 2008;29(7):849–858.
 - 5 Brenner DJ, Hall EJ. Computed tomography—an increasing source of radiation exposure. *N Engl J Med*. 2007;357(22):2277–2284.
 - 6 Finn AV, Kolodgie FD, Virmani R. Correlation Between Carotid Intimal/Medial Thickness and Atherosclerosis. A Point of View From Pathology [published online ahead of print August 13, 2009]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*.
 - 7 Pignoli P, Tremoli E, Poli A, Oreste P, Paoletti R. Intimal plus medial thickness of the arterial wall: a direct measurement with ultrasound imaging. *Circulation*. 1986;74:1399–1406.
 - 8 Salonen JT, Salonen R. Ultrasound B-mode imaging in observational studies of atherosclerotic progression. *Circulation*. 1993;87[suppl II]:II- 56–II-65.
 - 9 O’Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SK Jr. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *N Engl J Med*. 1999;340:14–22
 - 10 Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, et al. Mannheim intima-media thickness consensus. *Cerebrovasc Dis*. 2004;18(4):346–349.
 - 11 Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. 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(19):2486–2497.
 - 12 Sharma K, Blaha MJ, Blumenthal RS, Musunuru K. Clinical and research applications of carotid intima-media thickness. *Am J Cardiol*. 2009;103(9):1316–1320.
 - 13 Li C, Engstrom G, Berglund G, Janzon L, Hedblad B. Incidence of ischemic stroke in relation to asymptomatic carotid artery atherosclerosis in subjects with normal blood pressure. A prospective cohort study. *Cerebrovasc Dis*. 2008;26(3):297–303.
 - 14 Lorenz MW, Markus HS, Bots ML, Rosvall M, Sitzer M. Prediction of clinical cardiovascular events with carotid intima-media thickness: a systematic review and meta-analysis. *Circulation*. 2007;115(4):459–467.
 - 15 Lester SJ, Eleid MF, Khandheria BK, Hurst RT. Carotid intima-media thickness and coronary artery calcium score as indications of subclinical atherosclerosis. *Mayo Clin Proc*. 2009;84(3):229–233.
 - 16 Foley RN, Parfrey PS, Sarnak MJ: Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *Am J Kidney Dis* 32 (Suppl):S112–S119, 1998.
 - 17 Kawagishi T, Nishizawa Y, Konishi T, et al: High-resolution B-mode ultrasonography in evaluation of atherosclerosis in uremia. *Kidney Int* 48:820–826, 1995.
 - 18 London GM, Marchais SJ, Safar ME, et al: Aortic and large artery compliance in end-stage renal failure. *Kidney Int* 37:137– 142, 1990.
 - 19 Blacher J, Guerin AP, Pannier B, et al: Impact of aortic stiffness on survival in end-stage renal disease. *Circulation* 99:2434– 2439, 1999.
 - 20 O’Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, et al: Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *N Engl J Med* 340:14–22, 1999
 - 21 Blacher J, Guerin AP, Pannier B, et al: Impact of aortic stiffness on survival in end-stage renal disease. *Circulation* 99:2434– metabo2439, 1999

-
- 22 Malatino LS, Mallamaci F, Benedetto FA, et al: Hepatocyte growth factor predicts survival and relates to inflammation and media thickness in end-stage renal disease. *Am J Kidney Dis* 36:945–952, 2000
- 23 Vincenti F, Amend WJ, Abele J, et al: The role of hypertension in hemodialysis-associated Atherosclerosis. *Am J Med* 68:363–369, 1980
- 24 Tetsuo Shoji, Masanori Emoto, Tsutomu Tabata, Eiji Kimoto, Kayo Shinohara, Kiyoshi Maekawa, Takahiko Kawagishi, Hideki Tahara, Eiji Ishimura, and Yoshiki Nishizawa Advanced atherosclerosis in predialysis patients with chronic renal failure *Kidney International*, Vol. 61 (2002), pp. 2187–2192
- 25 Ishimura E, Shoji T, Emoto M, et al. Renal insufficiency accelerates atherosclerosis in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Kidney Dis* 38: S186-S190, 2001.
- 26 Preston E, Ellis MR, Kulinskaya E, Davies AH, Brown EA. Association between carotid artery intima-media thickness and cardiovascular risk factors in CKD. *Am J Kidney Dis* 46: 856-862, 2005.
- 27 Zhang L, Zhao F, Yang Y, et al. Association between carotid artery intima-media thickness and early-stage CKD in a Chinese population. *Am J Kidney Dis* 49: 786-792, 2007.
- 28 Kawamoto R, Ohtsuka N, Kusunoki T, Yorimitsu N. An association between the estimated glomerular filtration rate and carotid atherosclerosis. *Intern Med.* 2008;47(5):391-8. Epub 2008 Mar 3.
- 29 Parfrey PS, Foley RN. The clinical epidemiology of cardiac disease in chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol*, 10: 1606-1615, 1999
- 30 Coen G et al. Can Cardiovascular calcification be prevented in chronic kidney disease? *G Ital Nefrol.* 2006 Jan-Feb; 23 Suppl 34:S21-5
- 31 Schafer C, Heiss A, Schwarz A, Westenfeld R, Ketteler M. The serum protein alpha 2-Heremans-Schmid glycoprotein/fetuin-A is a systemically acting inhibitor of ectopic calcification. *J Clin Invest.* 2003 Aug;112(3):357-66
- 32 Jono S., McKee M.D., Murry C.E., et al: 2000 Phosphatidylserine regulation of vascular smooth muscle cell calcification. *Circ Res* 87: E10-R17.
- 33 Hackeng TM, Rosing J, Spronk HM, Vermeer C. Total chemical synthesis of human matrix Gla protein. *Protein Sci.* 2001;10:864–870.
- 34 Elzanowski A, Barker WC, Hunt LT, Seibel-Ross E. Cystatin domains in α 2-HS glycoprotein and fetuin. *FEBS Lett.* 1988;227:167–170.
- 35 Pedersen KO. Fetuin, a new globulin isolated from serum. *Nature.* 1944;154:575.
- 36 Schinke T, Amendt C, Trindl A, et al. The serum protein alpha2-HS glycoprotein/fetuin inhibits apatite formation in vitro and in mineralizing calvaria cells: a possible role in mineralization and calcium homeostasis. *J Biol Chem* 1996; 271: 20789–96.
- 37 Jahnen-Dechent W, Schinke T, Trindl A, et al. Cloning and targeted deletion of the mouse fetuin gene. *J Biol Chem* 1997; 272:31496–503.
- 38 Triffitt JT, Owen ME, Ashton BA, Wilson JM. Plasma disappearance of rabbit α 2-HS glycoprotein and its uptake by bone tissue. *Calcif. Tissue Res.* 1978;26:155–161.
- 39 Schinke T, et al. The serum protein α 2-HS glycoprotein/fetuin inhibits apatite formation in vitro and in mineralizing calvaria cells. A possible role in mineralization and calcium homeostasis. *J. Biol. Chem.* 1996;271:20789–20796.
- 40 Heiss A, et al. Structural basis of calcification inhibition by α 2-HS glycoprotein/fetuin-A: formation of colloidal calciprotein particles. *J. Biol. Chem.* 2003;278:13333–13341.
- 41 Ketteler M, et al. Association of low fetuin-A (AHSG) concentrations in serum with cardiovascular mortality in patients on dialysis: a cross-sectional study. *Lancet.* 2003;361:827–833.
- 42 Jahnen-Dechent W, Schinke T, Trindl A, et al. Cloning and targeted deletion of the mouse fetuin gene. *J Biol Chem* 1997; 272:31496–503.
- 43 Van Oss CJ, Gillman CF, Bronson PM, Border JR. Opsonic properties of human serum α 2-HS glycoprotein. *Immunol. Commun.* 1974;3:329–335.
- 44 Terkeltaub RA, Santoro DA, Mandel G, Mandel N. Serum and plasma inhibit neutrophil stimulation by hydroxyapatite crystals. Evidence that serum α 2-HS glycoprotein is a potent and specific crystal-bound inhibitor. *Arthritis Rheum.* 1988;31:1081–1089.
- 45 Hart SP, et al. Specific binding of an antigen-antibody complex to apoptotic human neutrophils. *Am. J. Pathol.* 2003;162:1011–1018.
- 46 Baskies AM, et al. Serum glycoproteins in cancer patients: first report of correlations with in vitro and in vivo parameters of cellular immunity. *Cancer.* 1980;45:3050–3060.
- 47 Kalabay L, et al. Diagnostic value of the determination of serum alpha2-HS-glycoprotein. *Orv. Hetil.* 1992;133:1553–1554.
- 48 Lebreton JP, et al. Serum concentration of human α 2-HS glycoprotein during inflammatory process. Evidence that α 2-HS glycoprotein is a negative acute-phase reactant. *J. Clin. Invest.* 1979;64:1118–1129
- 49 Goodman WG., Goldin J., Kuizon BD., Yoon C., Gales B., Sider D., Wang Y., Chung J., Emerick A., Greaser L., Elashoff RM., Salusky IB. Coronary-artery calcification in young adults with end-stage renal disease who are undergoing dialysis. *N Engl J Med* 18:1478-1483, 2000.

-
- 50 Jersmann HP., Dransfield I.: Hart SP Fetuin/alpha2-HS glycoprotein enhances phagocytosis of apoptotic cells and macropinocytosis by human macrophages. *Clin Science* 105:273-278, 2003
- 51 S. Cottone, E. Nardi, G. Mulè et al Association between biomarkers of inflammation and left ventricular hypertrophy in moderate chronic kidney disease. *Clinical Nephrology*. Vol.67-No. 4/2007 (209-216)
- 52 Fiore CE, Celotta G, Politi GG, Di Pino L, Castelli Z, Mangiafico RA, Signorelli SS, Pennisi P. Association of high alpha2-Heremans-Schmid glycoprotein/fetuin concentration in serum and intima-media thickness in patients with atherosclerotic vascular disease and low bone mass. *Atherosclerosis*. 2007 Nov;195(1):110-5. Epub 2006 Sep 29.
- 53 Volanakis JE. Human C-reactive protein: expression, structure, and function. *Mol Immunol*. 2001 Aug;38(2-3):189-97. Review.
- 54 Thompson D, Pepys MB, Wood SP. The physiological structure of human C-reactive protein and its complex with phosphocholine. *Structure*. 1999 Feb 15;7(2):169-77.
- 55 DiCamelli R, Potempa LA, Siegel J, Suyehira L, Petras K, Gewurz H.. Binding reactivity of C-reactive protein for polycations. *J Immunol*. 1980 Nov;125(5):1933-8.
- 56 Toniatti C, Arcone R, Majello B, Ganter U, Arpaia G, Ciliberto G. Regulation of the human C-reactive protein gene, a major marker of inflammation and cancer. *Mol Biol Med*. 1990 Jun;7(3):199-212. Review.
- 57 Griselli M, Herbert J, Hutchinson WL, Taylor KM, Sohail M, Krausz T, Pepys MB. C-reactive protein and complement are important mediators of tissue damage in acute myocardial infarction. *J Exp Med*. 1999 Dec 20;190(12):1733-40.
- 58 Vigushin DM, Pepys MB, Hawkins PN. Metabolic and scintigraphic studies of radioiodinated human C-reactive protein in health and disease. *J Clin Invest*. 1993 Apr;91(4):1351-7
- 59 Gould JM, Weiser JN. Expression of C-reactive protein in the human respiratory tract. *Infect Immun*. 2001 Mar;69(3):1747-54.
- 60 Zwaka, T. P., Hombach, V. and Torzewski, J. C-reactive protein mediated low density lipoprotein uptake by macrophages: implications for atherosclerosis. *Circulation*(2001) 103, 1194–1197
- 61 Verma, S., Li, S. H., Badiwala, M. V. et al. Endothelin antagonism and interleukin-6 inhibition attenuate the proatherogenic effect of C-reactive protein. *Circulation* (2002) 105, 1890–1896
- 62 Venugopal, S. H., Devaraj, S., Yuhanna, I., Shaul, P. and Jialal, I. Demonstration that C-Reactive protein decreases eNOS expression and bioactivity in human aortic endothelial cells. *Circulation* (2002)106, 1439–1441
- 63 Ridker, P. M., Cushman, M., Stampfer, M. J., Tracy, R. P. and Hennekens, C. H. Inflammation, aspirin and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N. Engl. J. Med.* (1997) 336, 973–976
- 64 Cottone S et al. Relation of C-reactive protein to oxidative stress and to endothelial activation in essential hypertension. *Am J Hypertens*. 2006; 19: 313-318.
- 65 Ng SB, Tan YH, Guy GR. Differential induction of the interleukin-6 gene by tumor necrosis factor and interleukin-1. *J Biol Chem*. 1994 Jul 22;269(29):19021-7.
- 66 Deanfield J et al. Working Group on Endothelin and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension: Endothelial function and dysfunction. Part I: methodological issues for assessment in the different vascular beds: a statement by Working Group on Endothelin and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. *J Hypertens*. 2005; 23:7-17.
- 67 Niemann-Jonsson, A., Dimayuga, P., Jovinge, S. et al. Accumulation of LDL in rat arteries is associated with activation of tumor necrosis factor- α expression. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 2000 ;20, 2205–2211
- 68 Clausell Net al. Increased expression of tumor necrosis factor- α in diabetic macrovasculopathy. *Cardiovasc Pathol*. 1999; 8:145-151.
- 69 Savoia C and Schiffrin E.L. Vascular inflammation in hypertension and diabetes: molecular mechanisms and therapeutic interventions. *Clinical Science* 2007;112:375–384.
- 70 Ridker, P. M., Rifai, N., Stampfer, M. J. and Hennekens, C. H. Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation*. 2000; 101, 1767–1772
- 71 Noto D, Cottone S, Baldassare Cefalù A, Vadalà A, Barbagallo CM, Rizzo M, Pernice V, Minà M, Fayer F, Cerasola G, Notarbartolo A, Rocco Averna M. Interleukin 6 plasma levels predict with high sensitivity and specificity coronary stenosis detected by coronary angiography. *Thromb Haemost*. 2007 Dec;98(6):1362-7.
- 72 United States Renal Data System. *USRDS annual report*. *Am J Kidney Dis*, 32: S81-S88, 1998.
- 73 Preston E et al. Association between carotid artery intima-media thickness and cardiovascular risk factors in CKD. *Am J Kidney Dis* 2005 Nov; 45(5):856-62
- 74 Lebreton JP, Joisel F, Raoult JP, et al. Serum concentration of human α_2 HS glycoprotein during inflammatory process. Evidence that α_2 HS glycoprotein is a negative acute-phase reactant. *J Clin Invest* 1979; 64: 1118–29.
- 75 Stenvinkel et al. Low fetuin-A levels are associated with cardiovascular death: Impact of variations in the gene encoding fetuin. *Kidney International*, Vol 67 (2005), pp.2383-2392.
- 76 Association Between Human Fetuin-A and the Metabolic Syndrome: Data From the Heart and Soul Study Joachim H. Ix, Michael G. Shlipak, Vincent M. Brandenburg, Sadia Ali, Markus Ketteler and Mary A. Whooley. *Circulation* 2006;113;1760-1767

77Joachim H. Ix, MD, Glenn M. Chertow, MD, MPH, Michael G. Shlipak, MD, MPH, Vincent M.Brandenburg, MD, arkus Ketteler, MD, and Mary A. Whooley, MD Association of Fetuin-A With Mitral Annular Calcification and Aortic Stenosis Among Persons With Coronary Heart Disease: Data From the Heart and Soul Study *Circulation*. 2007 May 15; 115(19): 2533–2539

Caratteristiche	Ipertesi(M/F 34/66)	Nefropatici (M/F 69/31)	P
	Media ± DS	Media ± DS	
Età (anni)	46,9±11,8	60,7±11	>0,000
BMI (Kg/m2)	28,3±4,6	28,9±4,7	N.S.
Pressione arteriosa sistolica (mmHg)	144±17,5	140,4±22,7	N.S.
Pressione arteriosa diastolica (mmHg)	89,5±12,8	81,4±11,8	0,000
Glicemia (mg/dL)	100±22	114,5±46,8	0,004
Creatininemia (mg/dL)	0,9±0,15	1,8±0,7	
eGFR (MDRD) (mL/min/1.73 m2)	89,3±14,8	43,4±15,9	
eGFR (Cockcroft-Gault) (mL/min/1.73 m2)	109,6±26,2	50,3±21,7	
Colesterolo totale (mg/dL)	204±39	187,4±44,6	0,006
Colesterolo HDL (mg/dL)	47±10	44,6±11,4	N.S.
Colesterolo LDL (mg/dL)	133±40,9	121,3±38,9	N.S.
Trigliceridi (mg/dL)	128,8±61,9	149±72	0,04
Calcio (mg/dL)	9,3±0,5	9,1±0,6	0,01
Fosforo (mg/dL)	3,4±0,6	3,8±0,8	0,002
Albuminemia (mg/dL)	3,8±0,4	3,6±0,5	0,04

Tabella 1: Caratteristiche dei due campioni in studio

	Ipertesi (N=100)		Nefropatici (N=100)		p
	Media	DS	Media	DS	
IMT-max (mm)	0,84	± 0,24	1,07	± 0,22	0,00001
Fetua-A (g/l)	0,81	± 0,13	0,65	± 12	0,00001
hs-CRP ()	1,4	± 0,48	2,5	± 0,8	0,00001
TNF-α	3,34	± 0,61	4,1	± 0,6	0,00001
IL-6	71	± 40	129	± 36	0,00001
TGF-β	27,3	± 4,4	35,5	± 6	0,00001

Tabella 2: Test T tra CKD e EH

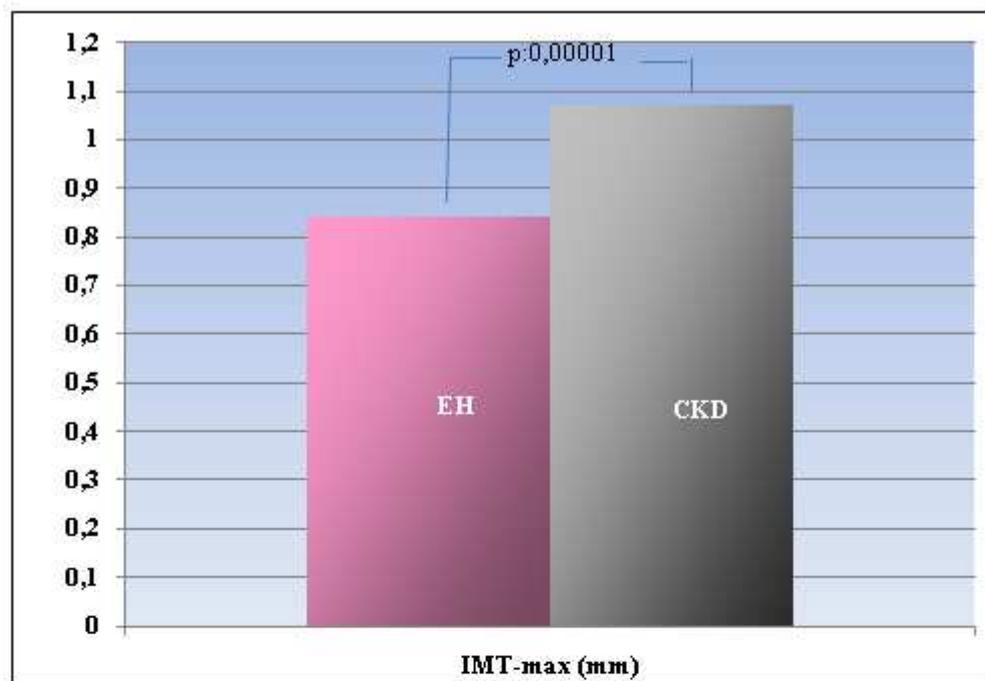


Figura 1 : Differenza nei valori di IMT-max nei due gruppi in studio (CKD-EH)

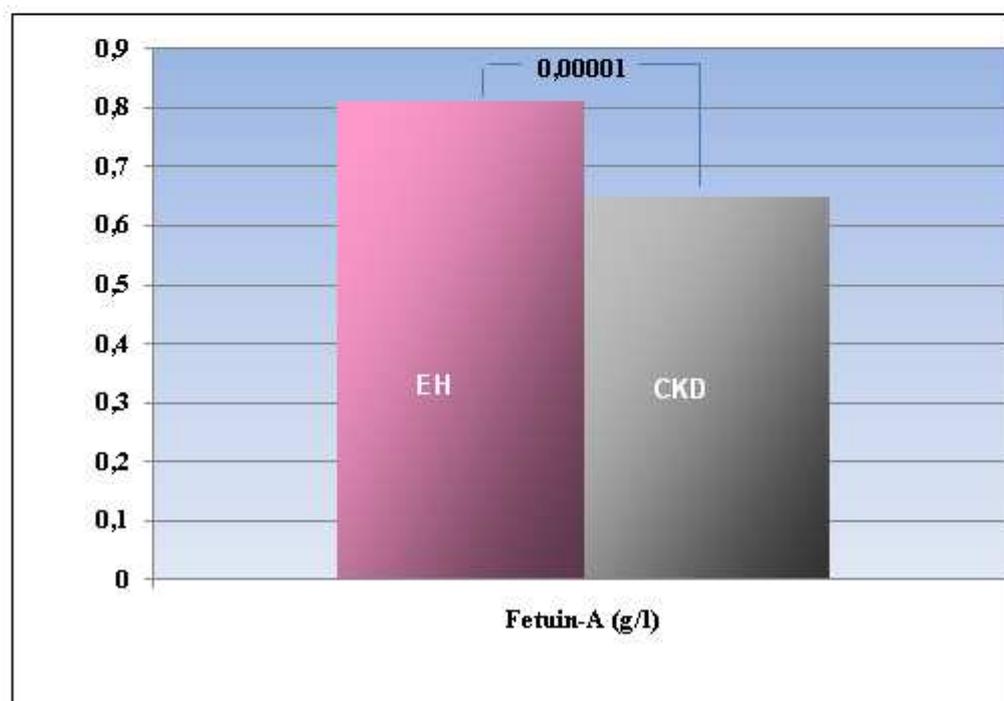


Figura 2 : Differenza dei valori di Fetuin-a-A nei due gruppi in studio (CKD-EH)

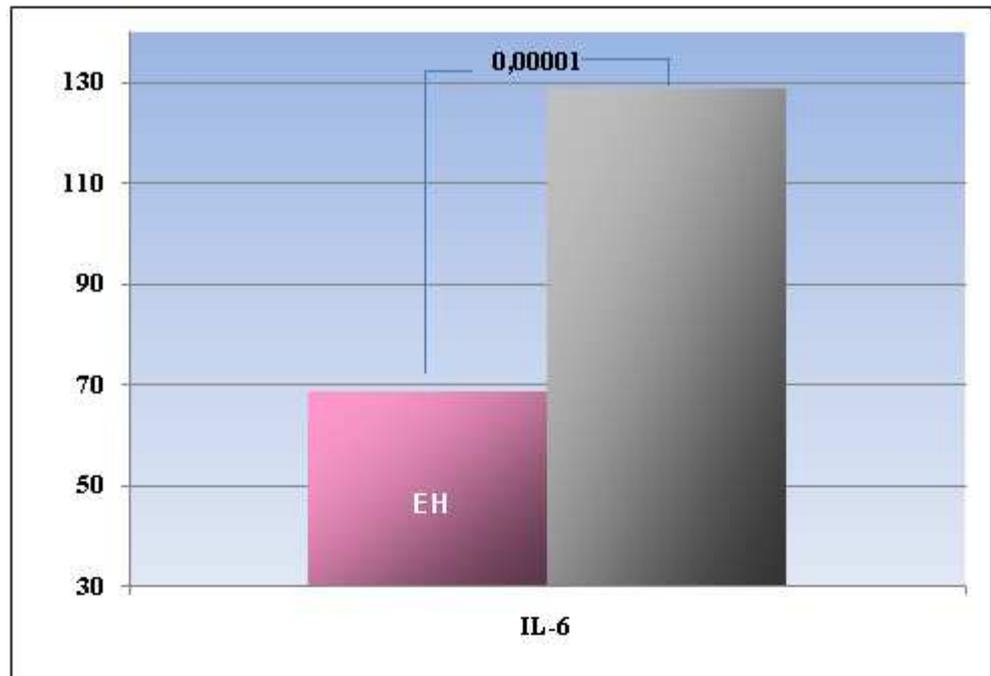


Figura 3 : Differenza nei valori di IL-6 nei due gruppi in studio (CKD-EH)

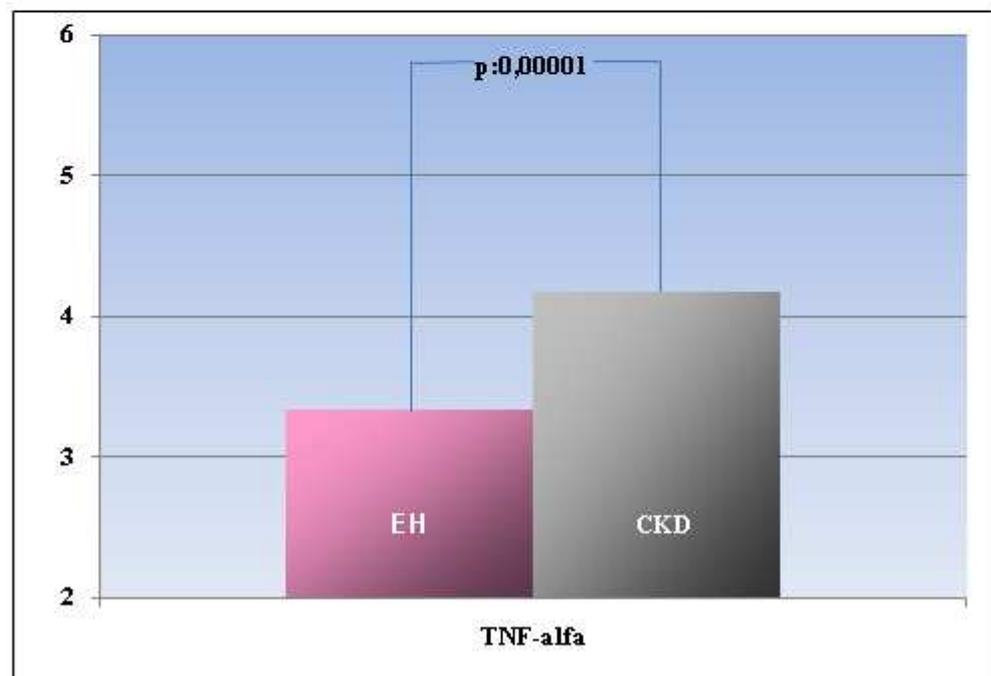


Figura 4 : Differenza dei valori di TNF-alfa nei due gruppi in studio (CKD-EH)

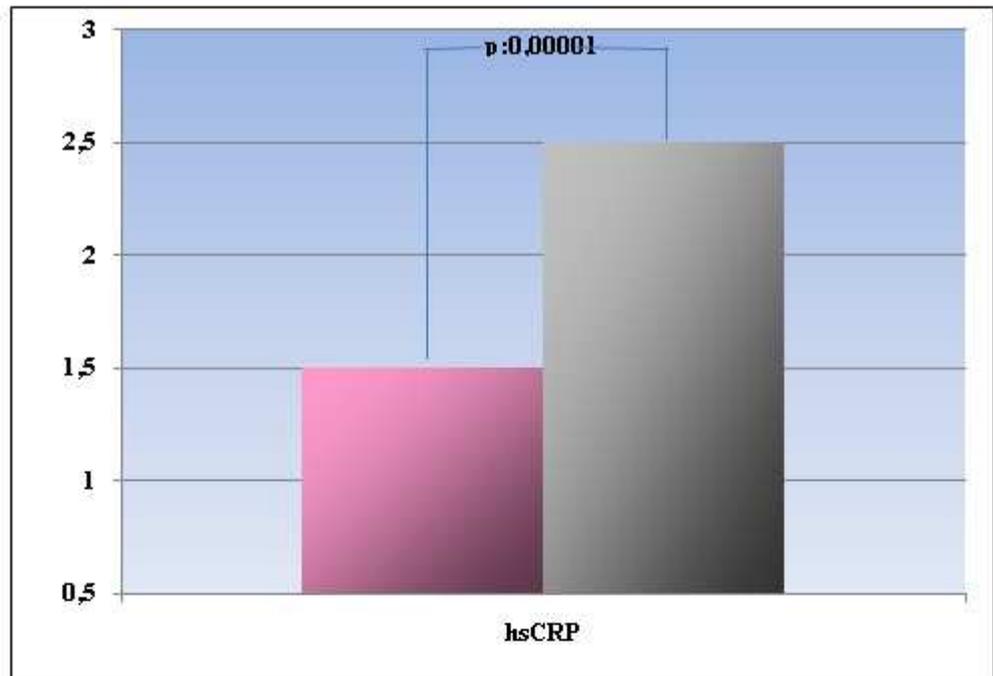


Figura 5 : Differenza nei valori di hsCRP nei due gruppi in studio (CKD-EH)

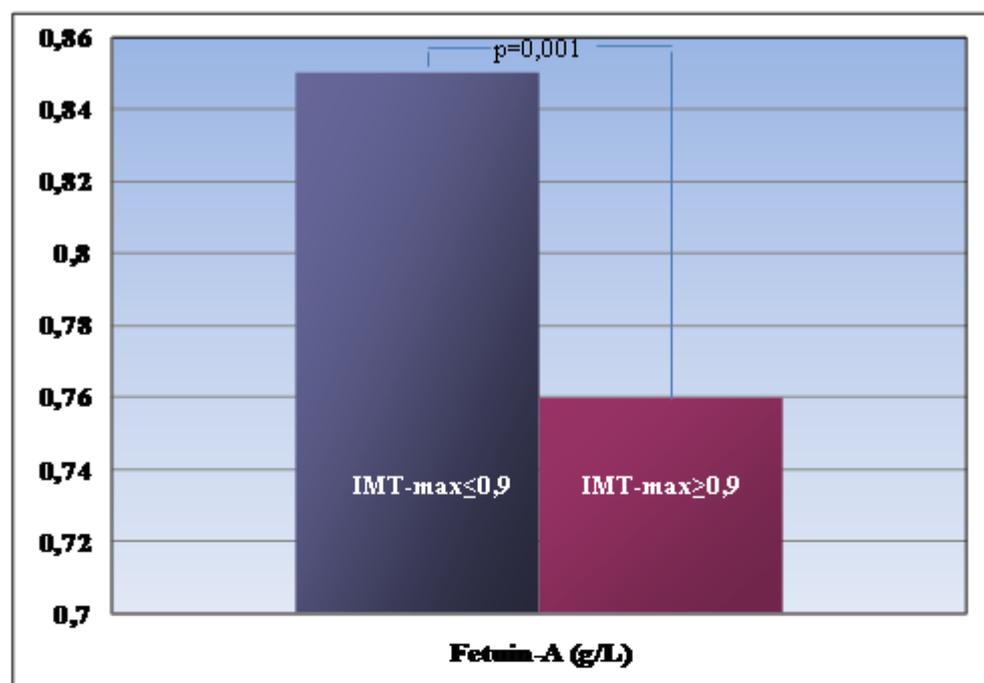


Figura 6 : Differenza dei valori di Fetuin-A nei due sottogruppi di EH (IMT ≤ 0,9mm ; IMT ≥ 0,9 mm)

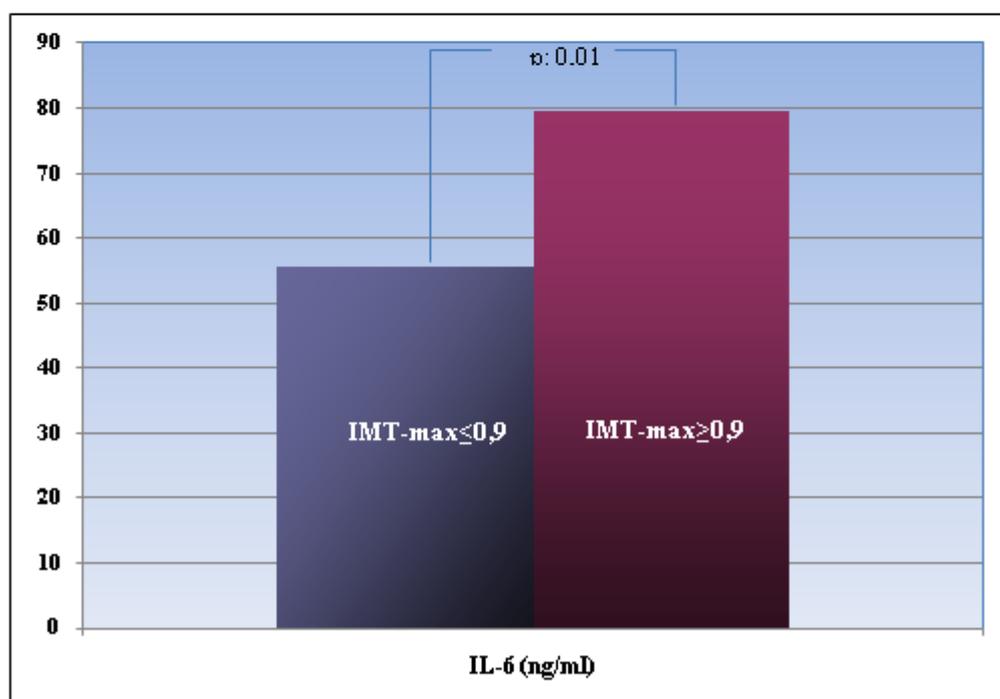


Figura 7 : Differenza dei valori di IL-6 nei due sottogruppi di EH (IMT ≤ 0,9mm ; IMT ≥ 0,9 mm)

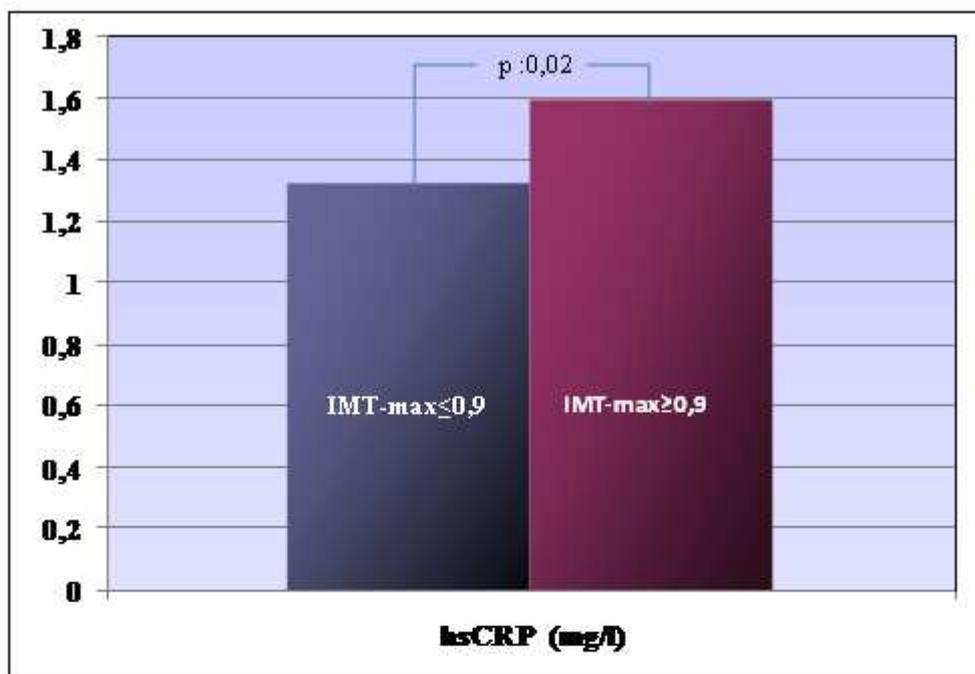


Figura 8: Differenza dei valori di hsCRP nei due sottogruppi di EH (IMT ≤ 0,9mm ; IMT ≥ 0,9 mm)

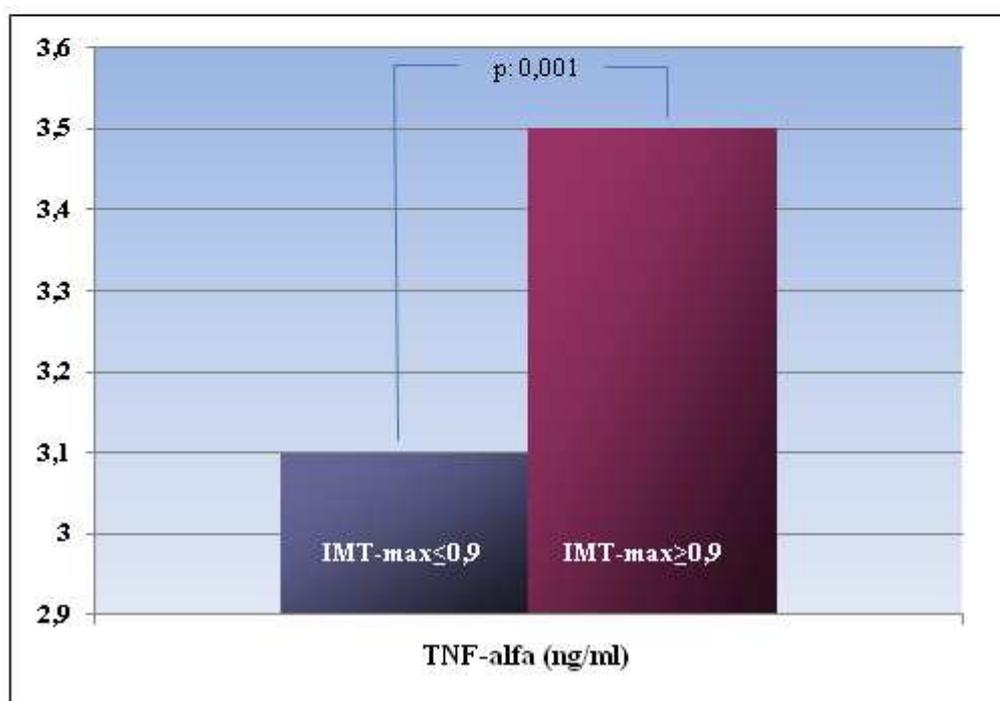
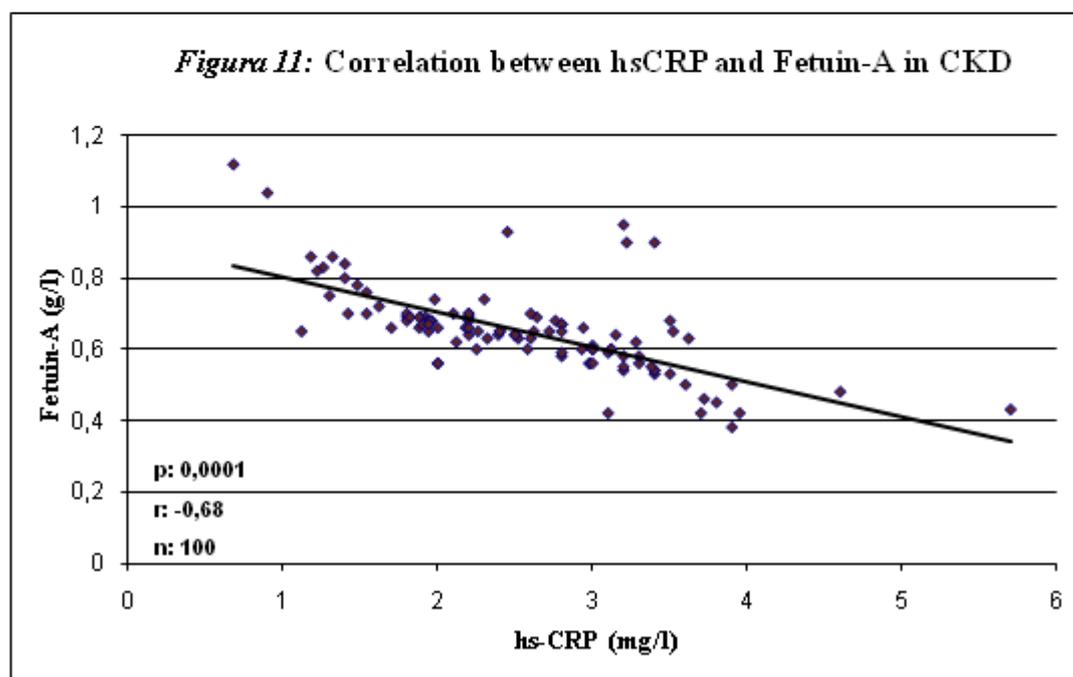
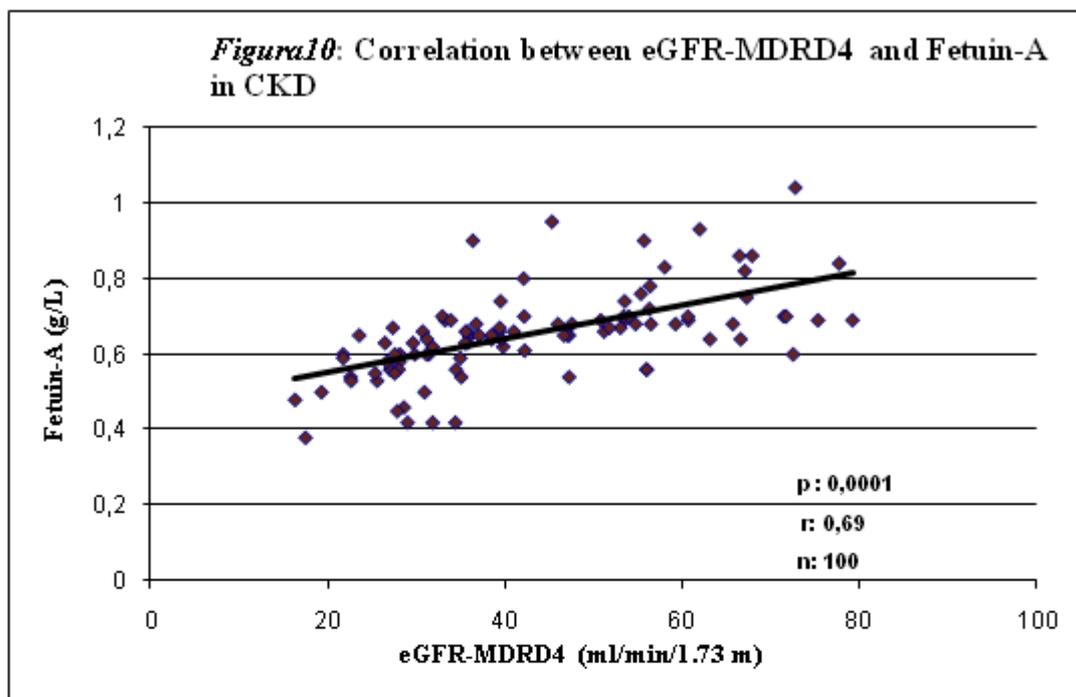


Figura 9: Differenza dei valori di TNF-alfa nei due sottogruppi di EH (IMT ≤ 0,9mm ; IMT ≥ 0,9 mm)



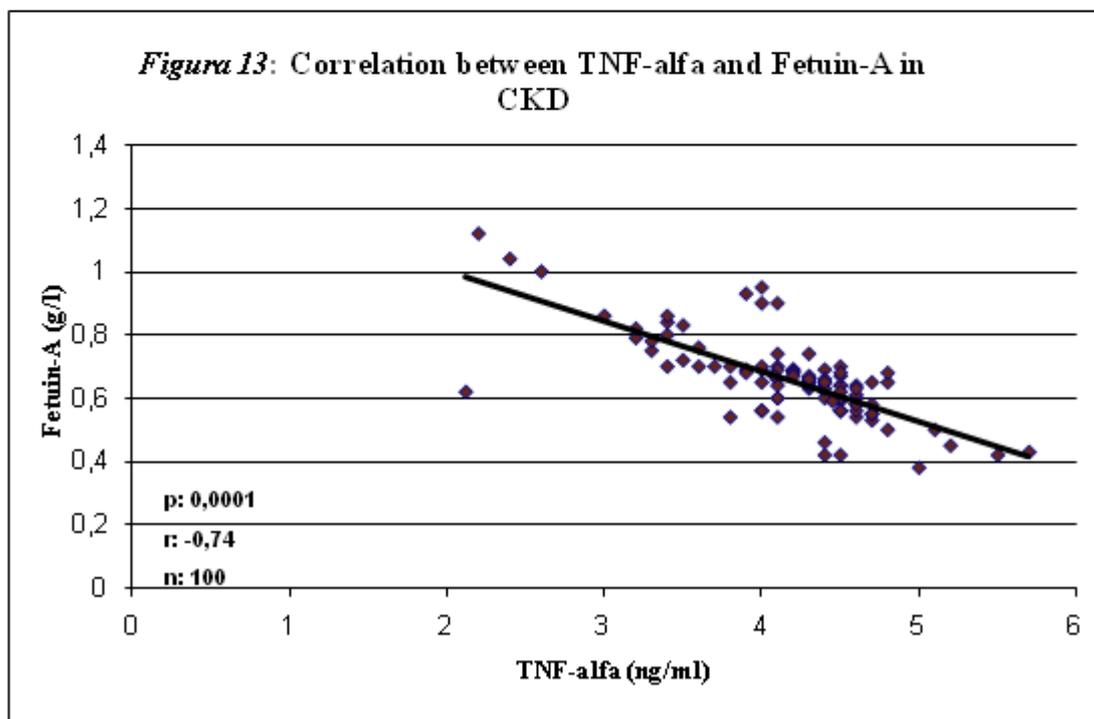
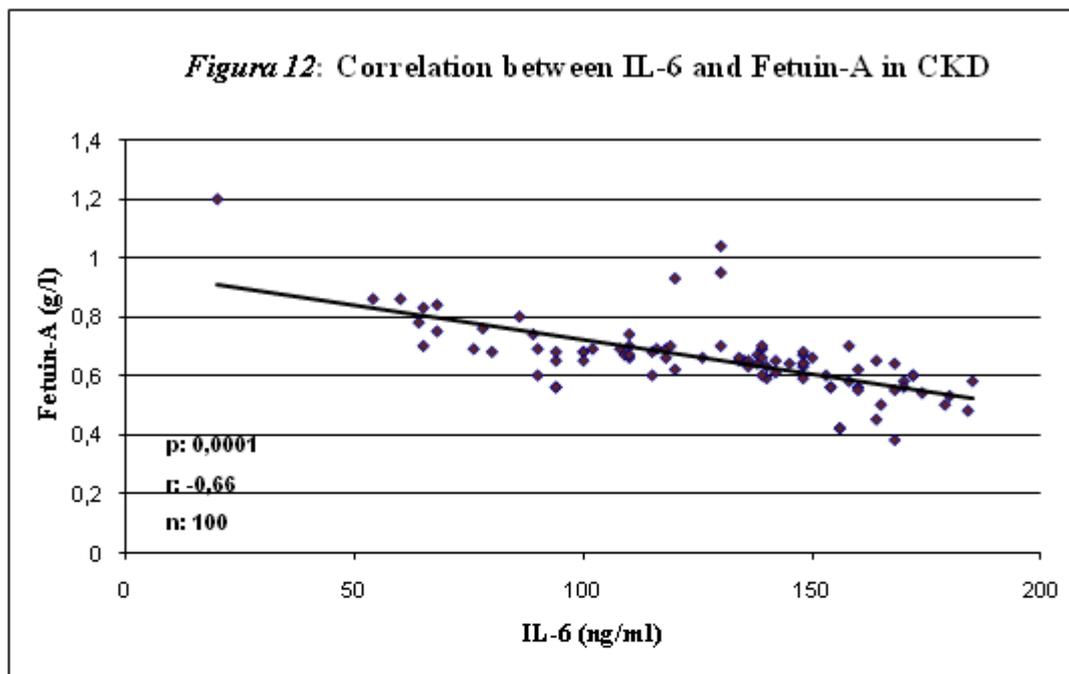


Figura 14: Correlation between Fetuin-A and IMT-max in CKD

