



* Αναστολή του mTOR σε SHR: Νέα θεραπευτική στρατηγική για την αρτηριακή υπέρταση και την υποστροφή των βλαβών σε όργανα-στόχους;


Χ.Β. Γελαδάρη¹
Ε.Α. Ανδρεάδης¹

Α. Παπαλόης²
Α. Ζαχαριουδάκη²

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η εύρεση νέων στόχων αντιυπερτασικής θεραπείας είναι απαραίτητη για τον αποτελεσματικό έλεγχο της αρτηριακής υπέρτασης, η οποία αποτελεί τον κυριότερο παράγοντα καρδιαγγειακής νοσηρότητας και θνησιμότητας παγκοσμίως. Βιβλιογραφικά δεδομένα υποστηρίζουν ότι το σηματοδοτικό μονοπάτι PI3K-Akt-mTOR αποτελεί σημαντικό ρυθμιστή της υπερτροφίας του μυοκαρδίου. Ακόμη, είναι γνωστό ότι η ιρβεσαρτάνη, με θέση δράσης υπέρθεν του Akt, επηρεάζει την κυτταρική απόκριση με ευεργετικά αποτελέσματα για το μυοκάρδιο σε ζωικά πρότυπα. Από την άλλη, γνωρίζουμε ότι η ρεσβερατρόλη είναι μια πολυφαινόλη που εμπεριέχεται στα σταφύλια και η οποία έχει πλειοτροπική δράση, με μοριακούς στόχους κάτωθεν και υπέρθεν του Akt: αναστολέας του mTOR και αναστολέας της φωσφορυλίωσης της κινάσης PI3, που οδηγεί σε αναστολή της υπερτροφίας του μυοκαρδίου.

Σκοπός της μελέτης μας είναι να αξιολογηθεί το αποτέλεσμα της μονοθεραπείας με ιρβεσαρτάνη ή ρεσβερατρόλη, καθώς και της συνδυασμένης αγωγής των φαρμάκων αυτών, στη μείωση των επιπέδων της αρτηριακής πίεσης και στην υποστροφή ή/και καθυστέρηση της εμφάνισης των βλαβών στα όργανα-στόχους σε αυθόρμητα υπερτασικούς επίμυες (spontaneously hypertensive rats, SHR). Τα προκαταρκτικά αποτελέσματα από τη χορήγηση των ουσιών αυτών σε 4 διαφορετικές ομάδες SHR ήταν ιδιαίτερα ενθαρρυντικά για τη συνδυασμένη αγωγή τόσο στη μείωση της πίεσης, όσο και στην καθυστέρηση της αύξησης της μάζας της αριστερής κοιλίας του μυοκαρδίου. Οι αναστολείς του mTOR ενδεχομένως να αποτελούν δυνητικό θεραπευτικό παράγοντα για την υπέρταση και την υποστροφή της μάζας της αριστερής κοιλίας, όταν συγχρησιμοποιούνται με αναστολείς του άξονα της ρενίνης-αγγειοτασίνης-αλδοστερόνης.

 **Λέξεις-κλειδιά:** Υπέρταση, Ρεσβερατρόλη, Υπερτροφία, Μικροαλβουμινουρία, SHR

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η αρτηριακή υπέρταση αποτελεί τον κυριότερο τροποποιησιμο παράγοντα κινδύνου για καρδιαγγειακή νοσηρότητα και θνησιμότητα προσβάλλοντας περί το ένα δισεκατομμύριο του παγκόσμιου πληθυσμού¹. Ο αποτελεσματικός έλεγχος της υπέρτασης είναι μείζονος σημασίας για τη διασφάλιση της δημόσιας υγείας². Ωστόσο, η μη ελεγχόμενη

αρτηριακή υπέρταση ανέρχεται σε ποσοστό άνω του 40% του υπερτασικού πληθυσμού, παρά τα μέχρι σήμερα διαθέσιμα και εγκεκριμένα αντιυπερτασικά φάρμακα. Αδιαμφισβήτητα, η αναζήτηση νέων, αποτελεσματικότερων θεραπευτικών στόχων για την επαρκή ρύθμιση των επιπέδων της αρτηριακής πίεσης, αλλά και της μείωσης του συνολικού καρδιαγγειακού κινδύνου, είναι αναγκαία^{3,4}.

* Η εργασία έχει χρηματοδοτηθεί από την Ελληνική Εταιρεία Υπέρτασης.

¹ Κέντρο Υπέρτασης και Καρδιαγγειακής Προστασίας, ΓΝΑ «Ο Ευαγγελισμός-Οφθαλμιατρείο-Πολυκλινική»,

² Ερευνητικό και Πειραματικό Κέντρο ΕΛΠΕΝ, Α.Ε.

✉ **Αλληλογραφία:** Χαραλαμπία Β. Γελαδάρη, MD, Ειδικός Παθολόγος, Δαναών 93, 1^ο λθον 131 22 • Κιν. 6944 095100

• E-mail: cgeladari@gmail.com

Ερευνητές ανά την υφήλιο, κατά τη διάρκεια της περασμένης δεκαετίας, επικεντρώθηκαν στη μελέτη των πολύπλοκων παθοφυσιολογικών μηχανισμών που εμπλέκονται στην εμφάνιση της ιδιοπαθούς αρτηριακής υπέρτασης, αλλά και στη μελέτη των σηματοδοτικών μονοπατιών που ευθύνονται για την ανάπτυξη υπερτροφίας του μυοκαρδίου, με σημαντικά ευρήματα^{5,6}.

Πράγματι, η παθογένεια της ιδιοπαθούς υπέρτασης είναι πολυπαραγοντική και ιδιαίτερα πολύπλοκη. Ανάμεσα στους συχνότερα προτεινόμενους παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς της αρτηριακής υπέρτασης είναι η αυξημένη δραστηριότητα του συμπαθητικού νευρικού συστήματος, η ενεργοποίηση του συστήματος ρενίνης-αγγειοτασίνης-αλδοστερόνης, η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, το αυξημένο οξειδωτικό στρες και η αγγειακή αναδιαμόρφωση. Οι μηχανισμοί αυτοί θεωρείται ότι κατέχουν σημαντικό ρόλο στην αύξηση της αρτηριακής πίεσης αλλά και στην εμφάνιση των βλαβών οργάνων-στόχων που προσβάλλονται από την υπέρταση⁵. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι μεγάλος όγκος επιστημονικών δεδομένων υποστηρίζει τον κεντρικό ρόλο που κατέχουν οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου στη διαμεσολάβηση αγγειακής βλάβης σε υπερτασικούς ασθενείς⁷. Πρόσφατα, έχει προταθεί ότι η Nox-μεσολαβούμενη παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου είναι αυξημένη σε περιπτώσεις υπερτασικής καρδιοπάθειας και οδηγεί σε οξειδωτικές μεταβολές αγγειακών πρωτεϊνών και διατάραξη της οξειδοαναγωγικής σηματοδότησης και του κυτταρικού κύκλου. Οι συνέπειες για την κυτταρική ανάπτυξη και τη μιτωτική δραστηριότητα των κυττάρων είναι σημαντικές, με τελικό αποτέλεσμα την αγγειακή αναδιαμόρφωση⁷. Σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία, η παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου ευνοεί την παραγωγή βιοδεικτών, όπως της συνθετάσης του νιτρικού οξειδίου και της οξειδάσης της ξανθίνης, με καταστροφικές συνέπειες για το αγγειακό δίκτυο⁸.

Λαμβάνοντας υπόψη το γεγονός ότι η υπερτασική καρδιοπάθεια οδηγεί σε υπερτροφία της αριστερής κοιλίας και καρδιακή ανεπάρκεια, μπορούμε να συμπεράνουμε ότι σηματοδοτικά μονοπάτια που ευθύνονται για την υπερτροφία του μυοκαρδίου έχουν ιδιαίτερη αξία για την ανάπτυξη αρτηριακής υπέρτασης και ως εκ τούτου έχουν λάβει την ανάλογη ερευνητική προσοχή. Η κατανόηση

της πολυπλοκότητας της αλληλεπίδρασης των συγκεκριμένων ενδοκυττάρων σηματοδοτικών μονοπατιών και των μηχανισμών που οδηγούν σε αυξημένη αρτηριακή πίεση και εμφάνιση βλαβών των οργάνων-στόχων, έχει μείζονες θεραπευτικές προεκτάσεις, καθώς μπορεί να συμβάλει στην αναγνώριση νέων στόχων αντιυπερτασικής αγωγής.

Αξιόλογα επιστημονικά δεδομένα υποστηρίζουν ότι η πρωτεϊνική κίνηση C και ο στόχος ραπαμυκίνης των θηλαστικών (*mammalian target of Rapamycin, mTOR*) αποτελούν σημαντικούς ρυθμιστές της υπερτροφίας του μυοκαρδίου⁹. Ειδικότερα, έχει αναφερθεί ότι ο στόχος ραπαμυκίνης των θηλαστικών ενοχοποιείται για την ανάπτυξη της υπερτροφίας του μυοκαρδίου σε γενετικά καθορισμένους υπερτασικούς επίμυες (*spontaneously hypertensive rats, SHR*)¹⁰. Ακόμη, έχει αποδειχτεί ότι η υπερέκφραση της πρωτεΐνης Akt από τα μυοκαρδιακά κύτταρα συνδέεται τόσο με υπερτροφία του μυοκαρδίου και σχετίζεται με το βαθμό ενεργοποίησης του σηματοδοτικού μονοπατιού Akt^{11,12}. Ο Iaccarino και οι συνεργάτες του υποστηρίζουν επίσης ότι το Akt ευθύνεται για την αγγειακή δυσλειτουργία που χαρακτηρίζει την υπερτασική νόσο¹³.

Παράλληλα, όλο και περισσότερα βιβλιογραφικά δεδομένα ενισχύουν τη σύνδεση της υπερτροφίας του μυοκαρδίου με την αυτοφαγία των μυοκαρδιακών κυττάρων¹⁴. Η αυτοφαγία είναι η ιδιότητα των κυττάρων σε συγκεκριμένες συνθήκες να ανακυκλώνουν τα δικά τους κυτταρικά συστατικά, αποβάλλοντας μόνο τα επιβλαβή συστατικά. Η διαδικασία της αυτοφαγίας ενεργοποιείται από την υπερτροφία της αριστερής κοιλίας, προκειμένου να διατηρείται η κυτταρική ομοιόσταση. Η υπερβολική αυτοφαγία ωστόσο, πιθανότατα οδηγεί σε κυτταρικό θάνατο και συνεισφέρει στην εξέλιξη της υπερτασικής καρδιοπάθειας σε καρδιακή ανεπάρκεια¹⁵. Έχει προταθεί ότι ο στόχος ραπαμυκίνης των θηλαστικών είναι κύριος ρυθμιστής του κυτταρικού μεταβολισμού και κατέχει σπουδαίο ρόλο στη ρύθμιση της διεργασίας της αυτοφαγίας¹⁶. Ειδικότερα, αναστέλλει την αυτοφαγία μέσω της σήμανσης με ομπικουιτίνη της πρωτεΐνης ULK1, και μέσω της σύνδεσης με τις πρωτεΐνες AMBRA1 και TRAF6¹⁷.

Όπως προκύπτει από τα παραπάνω, η αντιυπερτασική θεραπεία με δράση στους μοριακούς στόχους του Akt θα μπορούσε να μας βοηθήσει να

κατανοήσουμε τους μηχανισμούς αλληλεπίδρασης των σηματοδοτικών μονοπατιών που εμπλέκονται στην ανάπτυξη της υπερτασικής καρδιοπάθειας, με στόχο την ανάπτυξη νέων θεραπευτικών μέτρων για την υποστρόφη της ίνωσης, της υπερτροφίας του μυοκαρδίου, αλλά και την αναστολή της διεργασίας της αυτοφαγίας σε ασθενείς με καρδιακή νόσο. Μεγάλος όγκος βιβλιογραφικών δεδομένων υποστηρίζει ότι οι αναστολείς των υποδοχέων αγγειοτασίνης αλλά και οι αναστολείς mTOR (*mTOR inhibitors*), όπως η ρεσβερατρόλη, αποτελούν πολλά υποσχόμενα φάρμακα για τον έλεγχο αυτών των πολύπλοκων σηματοδοτικών μονοπατιών^{18,19}. Η συνδυασμένη αγωγή με ιβεσαρτάνη και ρεσβερατρόλη για τον έλεγχο των επιπέδων της αρτηριακής πίεσης και την υποστρόφη των βλαβών των οργάνων-στόχων δεν έχει μελετηθεί ποτέ σε SHR.

Σκοπός της μελέτης μας, είναι να μελετήσουμε τα αποτελέσματα της μονοθεραπείας με ιβεσαρτάνη ή ρεσβερατρόλη, αλλά και της συνδυασμένης αγωγής στη μείωση των επιπέδων της αρτηριακής πίεσης (% μεταβολή της αρτηριακής πίεσης) και στην υποστρόφη ή/και καθυστέρηση της εμφάνισης βλαβών στα όργανα-στόχους (% μεταβολή στη μάζα της αριστερής κοιλίας). Ο αιφνίδιος θάνατος στα πειραματικά ζώα που ορίστηκε ως καρδιαγγειακό σύμβαμα αποτέλεσε δευτερογενές καταληκτικό σημείο της μελέτης μας. Ως καρδιαγγειακά συμβάματα ορίστηκαν: η στεφανιαία νόσος (όπως το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου), η καρδιακή ανεπάρκεια, το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, η ρήξη ανευρύσματος, η καρδιακή αρρυθμία, και η βαλβιδοπάθεια. Παραθέτουμε παρακάτω τα προκαταρκτικά αποτελέσματα από την υλοποίηση πιλοτικού προγράμματος.

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Πειραματικές Ομάδες

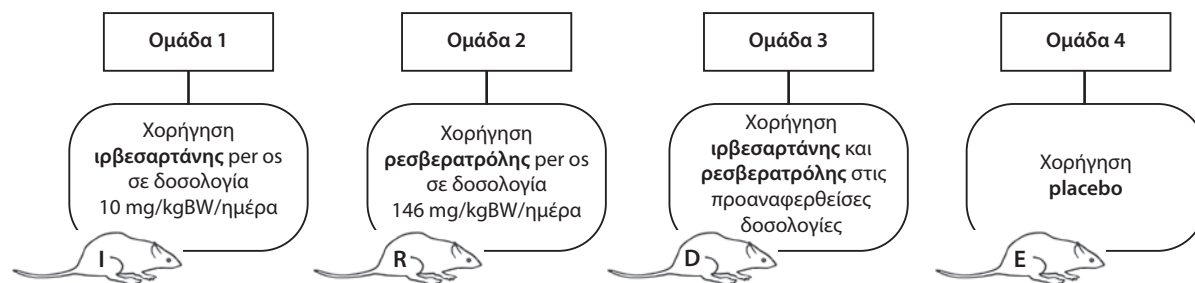
Μελετήθηκαν συνολικά τέσσερα αρσενικά SHRs, ένα για κάθε πειραματική ομάδα. Αναλυτικότερα, η μελέτη μας συμπεριέλαβε τρεις διαφορετικές πειραματικές ομάδες και μία ομάδα ελέγχου (*control*). Στην πρώτη ομάδα (I) χορηγήθηκε ιβεσαρτάνη από του στόματος σε δοσολογία 10 mg/kg σωματικού βάρους/ημέρα. Στη δεύτερη πειραματική ομάδα (R) χορηγήθηκε ρεσβερατρόλη από του στόματος σε δοσολογία 146 mg/kg σωματικού βάρους/ημέρα. Στην τρίτη (D) χορηγήθηκε τόσο ιβεσαρτάνη, όσο και ρεσβερατρόλη από του στόματος, με τις δοσολογίες που περιγράφονται παραπάνω. Η ομάδα ελέγχου (E), που αποτέλεσε την τέταρτη πειραματική ομάδα, έλαβε αντίστοιχο Placebo (*εικονικό φάρμακο*) (Εικόνα 1).

Χορήγηση φαρμάκων

Τα φάρμακα χορηγήθηκαν στα ζώα επιτυχώς μέσω ειδικής τροφής (Triple a trading SDDGC-56 Diet Bio 56 gr). Στην ομάδα που έλαβε και τις δύο φαρμακευτικές ουσίες, αυτές ενσωματώθηκαν στον ίδιο κύβο. Η διάρκεια της χορήγησης των φαρμάκων ήταν 4 μήνες (16 εβδομάδες). Σημειώνεται ότι της χορήγησής τους δεν προηγήθηκε νηστεία.

Βασικά χαρακτηριστικά των υπό μελέτη SHRs

Τα SHRs (φυλής Wistar) ζύγιζαν $\sim 200 \pm 50$ gr, και η μέση ηλικία τους ήταν ~ 15 εβδομάδες. Κάθε επίμυς τοποθετήθηκε σε ξεχωριστό κελί και είχε ελεύθερη πρόσβαση σε φαγητό και νερό. Η θερμοκρασία του χώρου φύλαξης ήταν 19-25°C, υγρασίας 40-85%. Αξίζει να σημειωθεί ότι διατηρήθηκε ο κιρκάδιος κύκλος (παραμονή σε φως για 12 ώρες και σε σκοτάδι για άλλες 12 ώρες). Η πηγή προέ-



Εικόνα 1. Σχεδιάγραμμα των χορηγούμενων ουσιών στα 4 αρσενικά SHRs.

λευσης των ζώων ήταν η ENVIGO. Η σήμανση της ουράς με χρώμα αποτέλεσε τη μέθοδο για την ταυτοποίηση των SHR. Ζυγίσες των ζώων πραγματοποιήθηκαν ανά περίπου 2 εβδομάδες.

Διαθωρακικό υπερηχογράφημα καρδιάς

Το διαθωρακικό υπερηχογράφημα καρδιάς διενεργήθηκε πριν και μετά την ολοκλήρωση της χορήγησης της φαρμακευτικής αγωγής στα SHR, στο Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών Ακαδημίας Αθηνών (ΙΙΒΕΑΑ). Η εξέταση αυτή πραγματοποιήθηκε με το *cardiac function veno 2100 index*, μετά τη χορήγηση αναισθησίας με ισοφλουράνιο.

Αιμοληψίες

Πριν την έναρξη των πειραμάτων έγινε αιμοληψία έπειτα από καθετηριασμό της φλέβας της ουράς, με όγκο αιμοληψίας 1,5-2 ml το μέγιστο, μέσω ηπαρινισμένου καθετήρα. Η ίδια διαδικασία επαναλήφθηκε μετά τη χορήγηση της φαρμακευτικής θεραπείας στα SHR.

Μέτρηση απέκκρισης μικροαλβουμίνης στα ούρα

Δείγματα ούρων για μέτρηση της μικροαλβουμίνης συλλέχθηκαν με πίεση της ουροδόχου κύστης με συγκράτηση χωρίς τη χορήγηση αναισθησίας. Σε περίπτωση αποτυχίας λήψης, η διαδικασία επαναλήφθηκε την επόμενη ημέρα. Για την καταληκτική δειγματοληψία, η λήψη έγινε κατά την τελική αναισθησία.

Μετρήσεις της αρτηριακής πίεσης

Μετρήσεις της αρτηριακής πίεσης πραγματοποιήθηκαν στους επίμυες χωρίς τη χορήγηση αναισθησίας. Πραγματοποιήθηκαν τόσο πρωινές όσο και απογευματινές μετρήσεις της αρτηριακής πίεσης, πριν ωστόσο τη δύση του ηλίου. Η συστολική και διαστολική πίεση για κάθε ζώο υπολογίστηκε από το μέσο όρο 3 μετρήσεων. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν με τη μέθοδο Volume Pressure Recording ύστερα από 5' ηρεμίας. Μια βδομάδα πριν την έναρξη των μετρήσεων της αρτηριακής πίεσης οι επίμυες υποβλήθηκαν σε διαδοχικές μετρήσεις προκειμένου να εξοικειωθούν με τη διαδικασία. Μετρήσεις της αρτηριακής πίεσης πραγματοποιήθηκαν πριν την έναρξη της θεραπείας σε ηλικία 15 εβδομάδων, στην ηλικία των 23 εβδομάδων και πριν την ευθανασία.

Περιγραφή της μεθόδου μέτρησης της αρτηριακής πίεσης (Volume Pressure Recording)

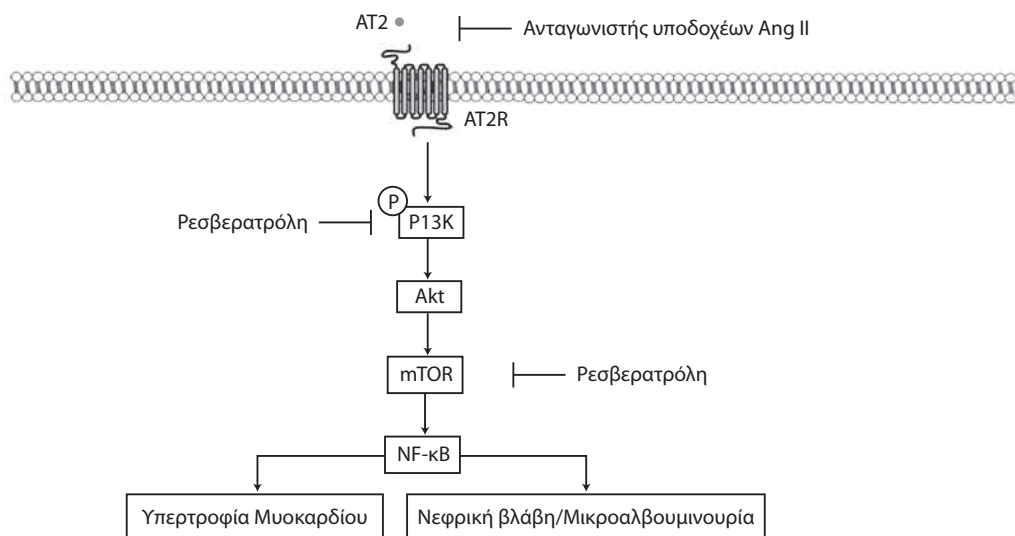
Για τη μέτρηση της αρτηριακής πίεσης στους επίμυες που τοποθετήθηκαν σε ειδικό θάλαμο, εφαρμόστηκε φουσκωτή περιχειρίδα στο εγγύς τμήμα της ουράς, ενώ το άπω περιορίστηκε σε θάλαμο. Δεν έγιναν χειρισμοί στους επίμυες ενώ βρισκόνταν μέσα στον ειδικό θάλαμο, καθώς, όπως είναι γνωστό, η αυξημένη επαφή θα μπορούσε να ερεθίσει τα ζώα. Οι μετρήσεις έγιναν πάντα με επίβλεψη. Η πίεση στην ελαστική περιχειρίδα, που συνδέθηκε στον ελεγκτή CODA, ανέβηκε πάνω από τη συστολική πίεση και μετά απελευθερώθηκε αργά. Η αύξηση στον όγκο της ουράς των SHR, λόγω της αυξημένης ροής αίματος όταν η πίεση στην αποφραχθείσα περιχειρίδα έφθασε τη συστολική πίεση, παρατηρήθηκε στην εφαρμογή CODA. Τα 15-20 mm θεωρήθηκαν κατάλληλο πλάτος της περιχειρίδας, για επίμυες ηλικίας μεγαλύτερης των 10 εβδομάδων. Ωστόσο, η προθέρμανση των SHR θεωρήθηκε απαραίτητη για τη μέτρηση της αρτηριακής πίεσης με στόχο την πρόκληση αγγειοδιαστολής. Τα SHR παρέμειναν σε δεξαμενή με σταθερή θερμοκρασία περιβάλλοντος 38-39° C για διάστημα 10'. Για τη μέτρηση, τα SHR τοποθετήθηκαν εφαρμοστά σε σωληνοειδή συσκευή που επιτρέπει αερισμό της κεφαλής και προεξοχή της ουράς. Η καταγραφή της αρτηριακής πίεσης έγινε μέσα στο 1' της τοποθέτησής τους στη σωληνοειδή συσκευή. Σημειώνεται ότι έγινε απόρριψη των ακραίων τιμών (υψηλότερων ή χαμηλότερων). Μετρήσεις της αρτηριακής πίεσης πραγματοποιήθηκαν καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης, πριν και μετά τη χορήγηση της εκάστοτε φαρμακευτικής αγωγής.

Ευθανασία και συλλογή ιστών

Μετά την ολοκλήρωση της μελέτης, τα ζώα υποβλήθηκαν σε ευθανασία. Τη χορήγηση αναισθησίας με κεταμίνη και ξυλαζίνη, ακολούθησε αφαίμαξη. Μετά τη θανάτωση των ζώων συλλέχθηκαν ιστοί για μελλοντικά μοριακά πειράματα (μυοκάρδιο, αορτή, νεφροί, επινεφρίδια, οφθαλμοί, εγκέφαλος), όπως περιγράφεται στη διαθέσιμη βιβλιογραφία [που αποθηκεύτηκαν σε φορμύλη και βαθιά κατάψυξη (-80° C)].

Χορηγούμενες ουσίες

Η ιρβεσαρτάνη (irbesartan) είναι ένας ειδικός



Εικόνα 2. Σηματοδοτικό Μονοπάτι PI3K-Akt-mTOR και θέσεις δράσεις ιβεσαρτάνης (ανταγωνιστής υποδοχέων Ang II) και ρεσβερατρόλης.

ανταγωνιστής των υποδοχέων της αγγειοτασίνης II και έχει ιδιότητες παρόμοιες με τους α -ΜΕΑ, δηλαδή πρόκληση αγγειοδιαστολής και αναστολή της έκκρισης αλδοστερόνης. Το φάρμακο προμηθεύτηκε από την εταιρεία ELPEN (δραστική ουσία).

Η ρεσβερατρόλη είναι μία ισχυρά αντιοξειδωτική πολυφαινόλη με πλειοτροπικό χαρακτήρα δράσεων: είναι αναστολέας του mTOR (Εικόνα 2), ενώ παράλληλα ενεργοποιεί τις MAP κινάσες. Αναλυτικότερα, η κινάση AMP είναι ο κύριος στόχος της ρεσβερατρόλης, ενώ ο ακριβής μηχανισμός δράσης για την ενεργοποίησή της παραμένει άγνωστος. Έχει προταθεί ωστόσο ότι η ρεσβερατρόλη αναστέλλει την κυτταρική αναπνοή με αποτέλεσμα να προκαλεί ενεργοποίηση και αύξηση των επιπέδων της AMP κινάσης στο εσωτερικό του κυττάρου.

Ο Jiang και οι συνεργάτες αναφέρουν ότι η ρεσβερατρόλη στα λεία μυϊκά κύτταρα ενεργοποιεί το AMPK και προκαλεί αναστολή του mTOR σε καρκινικά κύτταρα μαστού θετικά και αρνητικά για οιστρογονικό υποδοχέα²⁰. Ωστόσο, έχει αναφερθεί επίσης ότι αποτρέπει την ενεργοποίηση του PI3K-Akt-mTOR από την προαθηρωματική οξειδωμένη-LDL και ελαττώνει τη σύνθεση του DNA και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων. Παράλληλα, μελέτες αναφέρουν ότι υπέρθευ του Akt η ρεσβερατρόλη δρα ως αναστολέας της φωσφορυλίωσης της κινάσης PI3, που οδηγεί σε αναστολή της υπερτροφίας του μυοκαρδίου²⁰.

Συμπληρωματικά, αναφέρουμε ότι ο Lan και οι

συνεργάτες υποστηρίζουν ότι η ενεργοποίηση της AMP κινάσης από τη ρεσβερατρόλη απαιτεί την παρουσία της λειτουργικής πρωτεΐνης LKB1 και παράλληλα αυξάνει τα επίπεδά της, προκαλώντας μετάθεση και φωσφορυλίωση των πρωτεϊνών T336 και S428²¹. Οι μηχανισμοί αυτοί μπορεί να διαφέρουν ανάμεσα σε διαφορετικούς τύπους κυττάρων, και σε κάποιες περιπτώσεις η ρεσβερατρόλη αποτυγχάνει να οδηγήσει σε ενεργοποίηση της AMP κινάσης. Είναι ξεκάθαρο ότι στη βιβλιογραφία έχουν προταθεί διάφοροι μηχανισμοί για τον ακριβή τρόπο δράσης της ρεσβερατρόλης, αλλά περαιτέρω μελέτη είναι απαραίτητη προκειμένου να απαντηθεί ξεκάθαρα το ερώτημα αυτό²¹.

Η ρεσβερατρόλη μπορεί να αναστείλει την επαγόμενη από τη φορμυλο-μεθυλ-λευκυλ-φαινυλαμίνη (fMLP) παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου από τα μονοκύτταρα, γεγονός που σχετίζεται με σημαντικά ανασταλικά αποτελέσματα επί της δραστηριότητας PI3K που επάγεται από την fMLP, και της φωσφορυλίωσης του Akt²².

Η επίδραση της ρεσβερατρόλης σε πρώιμους καταρράκτες σηματοδότησης σε κύτταρα λείων μυϊκών ινών των αγγείων επίμυος μέσω της ANG II και του EGF έχει ερευνηθεί, και τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η ρεσβερατρόλη δεν επηρεάζει τη μεσολαβούμενη από την ANG II ενεργοποίηση του υποδοχέα EGF, αλλά αναστέλλει δραστικά την επαγόμενη από EGF φωσφορυλίωση της Akt κινάσης, γεγονός που υποδηλώνει ότι η ρεσβερατρόλη

δρα επίσης κάτωθεν της ενεργοποίησης του EGF-υποδοχέα σε VSMCs²³.

Ακόμη, η μεσολαβούμενη από ρεσβερατρόλη μετατόπιση του Glut-4 στο διεγερόμενο από STZ διαβητικό μυοκάρδιο έχει μελετηθεί, και η ρεσβερατρόλη έδειξε ότι πυροδοτεί μερικά παρόμοια ενδοκυττάρια σηματοδοτικά μονοπάτια της ινσουλίνης στο μυοκάρδιο όπως το eNOS και Akt μέσω της οδού AMPK²⁴. Για τη διενέργεια του πρωτοκόλλου προμηθευτήκαμε trans-resveratrol από τη Sigma-Aldrich.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Απέκκριση μικροαλβουμίνης στα ούρα

Αρχικά, κατά την παραλαβή τους, οι επίμυες R και I, ηλικίας 15 εβδομάδων δεν εμφάνιζαν μικροαλβουμουρία. Σημειώνεται ότι από τους επίμυες E και D δεν κατέστη δυνατόν να συλλεγούν ούρα. Μετά το πέρας των πειραμάτων και την ολοκλήρωση της φαρμακευτικής αγωγής, οι μετρήσεις για την απέκκριση μικροαλβουμίνης στα ούρα φαίνονται στον πίνακα 1. Παρατηρούμε ότι ο επίμυς που ελάμβανε τη συνδυασμένη αγωγή (SHR “D”) εμφάνισε τη μεγαλύτερη τιμή μικροαλβουμίνης στα ούρα (79,9 mg/L).

Πίνακας 1. Μετρήσεις απέκκρισης αλβουμίνης στα ούρα

	Μικροαλβουμίνη (mg/L)	
	Πριν τη θεραπεία, σε ηλικία ~15 εβδομάδων	Μετά τη θεραπεία, σε ηλικία ~31 εβδομάδων
Επίμυς I	21,7	18,8
Επίμυς R	9,5	19,1
Επίμυς D	–	79,9
Επίμυς E	–	30,5

Επίμυς I: σε αγωγή με ιβεσαρτάνη, επίμυς R: σε αγωγή με ρεσβερατρόλη, επίμυς D: σε αγωγή με συνδυασμένη αγωγή, επίμυς E: σε αγωγή με εικονικό φάρμακο (placebo).

Αιμοληψία

Οι παράμετροι που μετρήθηκαν κατά την αρχική και τελική αιμοληψία φαίνονται στον πίνακα 2 και 3. Η αρχική αιμοληψία στους επίμυες R και D δεν ήταν επιτυχής. Αξίζει να σημειωθεί ότι ο επίμυς (SHR “D”) που έλαβε τη συνδυασμένη αγωγή εμφάνισε την υψηλότερη τιμή σακχάρου στο αίμα (582 mg/dL).

Πίνακας 2. Αποτελέσματα αιμοληψίας πριν την έναρξη των πειραμάτων σε ηλικία 15 εβδομάδων

Παράμετροι	Επίμυς I	Επίμυς R	Επίμυς D	Επίμυς E
Γλυκόζη (mg/dL)	176,2	–	169,7	220,8
Τριγλυκερίδια (mg/dL)	64	–	–	68
Χοληστερόλη (mg/dL)	53,1	–	–	59,9
HDL (mg/dL)	21	–	–	23
LDL (mg/dL)	35	–	–	41
AST (U/L)	224,6	–	–	180,9
ALT (U/L)	58,8	–	–	82,8
CRP-hs	0,2	–	–	0,1
IL-6 (pg/mL)	<1,5	–	–	<1,5

Επίμυς I: σε αγωγή με ιβεσαρτάνη, επίμυς R: σε αγωγή με ρεσβερατρόλη, επίμυς D: σε αγωγή με συνδυασμένη αγωγή, επίμυς E: σε αγωγή με εικονικό φάρμακο (placebo).

Πίνακας 3. Αποτελέσματα αιμοληψίας μετά τη χορήγηση της θεραπείας σε ηλικία 31 εβδομάδων

Παράμετροι	Επίμυς I	Επίμυς R	Επίμυς D	Επίμυς E
Γλυκόζη (mg/dL)	478,6	520,8	582	397,3
Τριγλυκερίδια (mg/dL)	96,4	98,1	104,4	91,1
Χοληστερόλη (mg/dL)	59,9	55,1	52,5	62,2
HDL (mg/dL)	20	18,7	16,9	21,9
LDL (mg/dL)	44	32	25	26
AST (U/L)	203,1	259,5	200,8	182,1
ALT (U/L)	77,2	82,1	127,3	61,9
CRP-hs	0,1	0,1	0,1	0,1
IL-6 (pg/mL)	<1,5	<1,5	<1,5	<1,5

Επίμυς I: σε αγωγή με ιβεσαρτάνη, επίμυς R: σε αγωγή με ρεσβερατρόλη, επίμυς D: σε αγωγή με συνδυασμένη αγωγή, επίμυς E: σε αγωγή με εικονικό φάρμακο (placebo).

Μετρήσεις της αρτηριακής πίεσης

Οι μετρήσεις της αρτηριακής πίεσης πραγματοποιήθηκαν στην αρχή, στη μέση και μετά το πέρας των πειραματικών διαδικασιών. Στους πίνακες 4-7 φαίνονται οι μετρήσεις και η επί τοις % μεταβολή της αρτηριακής πίεσης (ΔΠ%) σε κάθε πειραματική ομάδα. Η μικρότερη αύξηση στη συστολική και διαστολική αρτηριακή πίεση παρατηρήθηκε με τη χορήγηση της συνδυασμένης φαρμακευτικής αγωγής με ιβεσαρτάνη και ρεσβερατρόλη.

Πίνακας 4. Μετρήσεις της αρτηριακής πίεσης (mmHg) και επί τοις % μεταβολή της (ΔΠ%) στην ομάδα ελέγχου

	Μέτρηση 1	Μέτρηση 2	Μέτρηση 3	Μέτρηση 4	ΔΠ%
Συστολική ΑΠ	198,55	200,77	215,21	230,00	+11,49
Διαστολική ΑΠ	148,82	151,33	162,21	182,00	+14,68
Μέση ΑΠ	165,18	167,38	179,57	197,67	+13,44
Συχνότητα	411,73	352,77	364,21	316,00	-11,02
Ροή	20,05	18,13	10,13	17,44	-27,79
Όγκος	89,83	93,32	49,42	82,61	-27,94

ΑΠ: αρτηριακή πίεση.

Πίνακας 5. Μετρήσεις της αρτηριακής πίεσης (mmHg) και επί τοις % μεταβολή της (ΔΠ%) στην ομάδα που έλαβε ιβεσαρτάνη

	Μέτρηση 1	Μέτρηση 2	Μέτρηση 3	Μέτρηση 4	ΔΠ%
Συστολική ΑΠ	181,83	186,15	191,55	225,33	+13,29
Διαστολική ΑΠ	131	129,3	138,77	174,33	+20,28
Μέση ΑΠ	147,66	147,85	156,11	191,00	+17,46
Συχνότητα	438,83	363,85	392,11	388,67	-2,73
Ροή	22,75	16,19	22,97	17,81	+4,73
Όγκος	98,63	87,17	118,6	88,73	+11,59

ΑΠ: αρτηριακή πίεση.

Πίνακας 6. Μετρήσεις της αρτηριακής πίεσης (mmHg) και επί τοις % μεταβολή της (ΔΠ%) στην ομάδα που έλαβε ρεσερατρόλη

	Μέτρηση 1	Μέτρηση 2	Μέτρηση 3	Μέτρηση 4	ΔΠ%
Συστολική ΑΠ	174,64	176,33	206,14	242,00	+27,68
Διαστολική ΑΠ	123,79	130,22	154,71	221,00	+47,91
Μέση ΑΠ	140,5	145,22	171,57	227,63	+39,71
Συχνότητα	402,43	410,66	350,29	356,00	-13,14
Ροή	22,59	24,97	24,07	16,68	-14,32
Όγκος	106,23	119,1	118,58	53,22	-23,76

ΑΠ: αρτηριακή πίεση.

Πίνακας 7. Μετρήσεις της αρτηριακής πίεσης (mmHg) και επί τοις % μεταβολή της (ΔΠ%) στην ομάδα που έλαβε και τις 2 φαρμακευτικές ουσίες

	Μέτρηση 1	Μέτρηση 2	Μέτρηση 3	Μέτρηση 4	ΔΠ%
Συστολική ΑΠ	174,09	193,27	165,27	207,2	+1,39
Διαστολική ΑΠ	119	136,55	105,2	152,6	+0,88
Μέση ΑΠ	137	155,09	124,8	170,4	+1,0
Συχνότητα	455,45	390,18	135,8	317,0	-46,45
Ροή	23,26	21,07	2,05	17,67	-34,69
Όγκος	112,39	107,33	12,33	90,82	-53,05

ΑΠ: αρτηριακή πίεση.

Διαθωρακικό υπερηχογράφημα καρδιάς

Όπως παρατηρήθηκε και στις μετρήσεις της αρτηριακής πίεσης, η μικρότερη αύξηση στην επί τοις

% μεταβολή της μάζας της αριστερής κοιλίας, παρατηρήθηκε με τη χορήγηση της συνδυασμένης φαρμακευτικής αγωγής. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων φαίνονται στους πίνακες 8-11.

Πίνακας 8. Μετρήσεις παραμέτρων του διαθωρακικού υπερηχογραφήματος καρδιάς σε ηλικία 15 και 31 εβδομάδων στην ομάδα ελέγχου

	Ηλικία 15 εβδομάδων	Ηλικία 31 εβδομάδων	Δ%
Καρδιακή συχνότητα (σφύξεις/λεπτό)	330	338	+2,4
Πάχος μεσοκοιλιακού διαφράγματος κατά τη διαστολή (mm)	1,70	2,06	+21,17
Τελοδιαστολική διάμετρος αριστερής κοιλίας (mm)	7,10	8,88	+25,07
Οπίσθιο τοίχωμα αριστερής κοιλίας κατά τη διαστολή (mm)	1,70	2,06	+21,17
Πάχος μεσοκοιλιακού διαφράγματος κατά τη συστολή (mm)	2,57	2,76	+7,39
Τελοσυστολική διάμετρος αριστερής κοιλίας (mm)	4,17	5,83	+39,8
Οπίσθιο τοίχωμα αριστερής κοιλίας κατά τη συστολή (mm)	2,57	2,76	+7,39
Κλασματική βράχυνση (%)	41,31	34,35	-16,84
Κλάσμα εξώθησης αριστερής κοιλίας (%)	79,79	71,70	-10,14
Μάζα αριστερής κοιλίας (mg)	716,33	1.126,77	+57,3
Όγκος παλμού	164,58	266,38	+61,85
Καρδιακή παροχή (ml/min)	54,31	90,04	+65,79
Μιτροειδής βαλβίδα E (cm/s)	81,40	53,52	-34,25
Μιτροειδής βαλβίδα A (cm/s)	69,37	37,90	-45,36
E/A	1,17	1,41	+20,51
Διάμετρος αριστερού κόλπου (mm)	2,93	2,60	-11,33
Όγκος αριστερού κόλπου (μL)	18,48	13,00	-29,65

Δ%: διαφορά επί τοις %

Πίνακας 9. Μετρήσεις παραμέτρων του διαθωρακικού υπερηχογραφήματος καρδιάς σε ηλικία 15 και 31 εβδομάδων στην ομάδα που ελάμβανε ιρβεσαρτάνη

	Ηλικία 15 εβδομάδων	Ηλικία 31 εβδομάδων	Δ%
Καρδιακή συχνότητα (σφύξεις/λεπτό)	364	385	+5,77
Πάχος μεσοκοιλιακού διαφράγματος κατά τη διαστολή (mm)	1,81	1,80	-0,55
Τελοδιαστολική διάμετρος αριστερής κοιλίας (mm)	7,47	8,74	+17,00
Οπίσθιο τοίχωμα αριστερής κοιλίας κατά τη διαστολή (mm)	1,81	1,80	-0,55
Πάχος μεσοκοιλιακού διαφράγματος κατά τη συστολή (mm)	2,80	2,83	+1,07
Τελοσυστολική διάμετρος αριστερής κοιλίας (mm)	4,27	5,67	+32,78
Οπίσθιο τοίχωμα αριστερής κοιλίας κατά τη συστολή (mm)	2,80	2,83	+1,07
Κλασματική βράχυνση (%)	42,86	35,10	-18,10
Κλάσμα εξώθησης αριστερής κοιλίας (%)	81,34	72,67	-10,66
Μάζα αριστερής κοιλίας (mg)	784,2	937,57	+19,55
Όγκος παλμού	215,56	226,58	+5,11
Καρδιακή παροχή (ml/min)	78,46	87,23	+11,18
Μιτροειδής βαλβίδα E (cm/s)	65,69	93,91	+42,96
Μιτροειδής βαλβίδα A (cm/s)	39,63	69,75	+76,00
E/A	1,66	1,35	-18,67
Διάμετρος αριστερού κόλπου (mm)	3,07	2,80	-8,79
Όγκος αριστερού κόλπου (μL)	20,90	15,00	-28,23

Δ%: διαφορά επί τοις %

Πίνακας 10. Μετρήσεις παραμέτρων του διαθωρακικού υπερηχογραφήματος καρδιάς σε ηλικία 15 και 31 εβδομάδων στην ομάδα που ελάμβανε ρεσβερατρόλη

	Ηλικία 15 εβδομάδων	Ηλικία 31 εβδομάδων	Δ%
Καρδιακή συχνότητα (σφύξεις/λεπτό)	389,67	380	-2,48
Πάχος μεσοκοιλιακού διαφράγματος κατά τη διαστολή (mm)	1,75	1,79	+2,295
Τελοδιαστολική διάμετρος αριστερής κοιλίας (mm)	6,43	7,77	+20,84
Οπίσθιο τοίχωμα αριστερής κοιλίας κατά τη διαστολή (mm)	1,75	1,79	+2,29
Πάχος μεσοκοιλιακού διαφράγματος κατά τη συστολή (mm)	2,66	2,67	+0,38
Τελοσυστολική διάμετρος αριστερής κοιλίας (mm)	3,50	5,58	+59,43
Οπίσθιο τοίχωμα αριστερής κοιλίας κατά τη συστολή (mm)	2,66	2,67	+0,38
Κλασματική βράχυνση (%)	45,60	28,15	-38,27
Κλάσμα εξώθησης αριστερής κοιλίας (%)	83,90	62,91	-25,01
Μάζα αριστερής κοιλίας (mg)	541,03	954,81	+76,48
Όγκος παλμού	166,71	172,68	+3,58
Καρδιακή παροχή (ml/min)	64,96	65,62	+1,02
Μιτροειδής βαλβίδα E (cm/s)	88,22	88,73	+0,58
Μιτροειδής βαλβίδα A (cm/s)	73,34	63,30	-13,69
E/A	1,20	1,40	+16,66
Διάμετρος αριστερού κόλπου (mm)	2,67	2,88	+7,87
Όγκος αριστερού κόλπου (μL)	12,00	16,00	+33,33

Δ%: διαφορά επί τοις %

Πίνακας 11. Μετρήσεις παραμέτρων του διαθωρακικού υπερηχογραφήματος καρδιάς σε ηλικία 15 και 31 εβδομάδων στην ομάδα που ελάμβανε συνδυασμένη αγωγή με ιρβεσαρτάνη και ρεσβερατρόλη

	Ηλικία 15 εβδομάδων	Ηλικία 31 εβδομάδων	Δ%
Καρδιακή συχνότητα (σφύξεις/λεπτό)	354	352	-0,56
Πάχος μεσοκοιλιακού διαφράγματος κατά τη διαστολή (mm)	1,57	1,72	+9,55
Τελοδιαστολική διάμετρος αριστερής κοιλίας (mm)	6,3	6,73	+6,83
Οπίσθιο τοίχωμα αριστερής κοιλίας κατά τη διαστολή (mm)	1,57	1,72	+9,55
Πάχος μεσοκοιλιακού διαφράγματος κατά τη συστολή (mm)	2,33	2,72	+16,74
Τελοσυστολική διάμετρος αριστερής κοιλίας (mm)	3,5	3,43	-2
Οπίσθιο τοίχωμα αριστερής κοιλίας κατά τη συστολή (mm)	2,63	2,72	+3,42
Κλασματική βράχυνση (%)	44,44	49,01	+10,28
Κλάσμα εξώθησης αριστερής κοιλίας (%)	82,85	86,74	+4,69
Μάζα αριστερής κοιλίας (mg)	460,37	489,73	+6,38
Όγκος παλμού	146,19	185,65	+26,99
Καρδιακή παροχή (ml/min)	51,75	65,35	+26,28
Μιτροειδής βαλβίδα E (cm/s)	90,04	66,87	-25,73
Μιτροειδής βαλβίδα A (cm/s)	50,80	37,03	-27,10
E/A	1,77	1,81	+2,23
Διάμετρος αριστερού κόλπου (mm)	2,87	2,90	+1,04
Όγκος αριστερού κόλπου (μL)	15,00	14,08	-6,13

Ζυγίσεις

Τα αποτελέσματα των ζυγίσεων των SHRs που πραγματοποιήθηκαν περίπου ανά 2 εβδομάδες φαίνονται στον πίνακα 12.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Το μονοπάτι PI3K-Akt-mTOR διαδραματίζει ένα σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του κυττάρου, την επιβίωση, τη ρύθμιση, και το μεταβολισμό. Η σύν-

Πίνακας 12. Ζυγίσεις επίμυων κατά τη διάρκεια της μελέτης (σε gr)

SHRs	Ζύγιση 1	Ζύγιση 2	Ζύγιση 3	Ζύγιση 4	Ζύγιση 5	Ζύγιση 6
I	290	295	360	375	400	430
R	280	285	340	370	395	450
D	290	305	345	370	400	420
E	280	290	350	360	385	450

Επίμυος I: σε αγωγή με ιβεσαρτάνη, επίμυος R: σε αγωγή με ρεσβερατρόλη, επίμυος D: σε αγωγή με συνδυασμένη αγωγή, επίμυος E: σε αγωγή με εικονικό φάρμακο (placebo).

δεση στους υποδοχείς αυξητικών παραγόντων (όπως για παράδειγμα ο IGF και EGF) ενεργοποιεί την PI3K. Ακολούθως, η PI3K παράγει ένα δεύτερο λιπιδικό μεταφορέα τον PIP3b (phospho-inositol trisphosphate), ο οποίος με τη σειρά του ενεργοποιεί τη σερίνη-θρεονίνη κινάση AKT. Η ενεργοποίηση του AKT φωσφορυλιώνει κάποιες από τις πρωτεΐνες του κυτταροπλάσματος όπως είναι το mTOR και το ERK. Το mTOR αποτελεί το βασικό συστατικό δύο διακριτών πολυπρωτεϊνικών συστημάτων που ρυθμίζουν διαφορετικά σημεία του σηματοδοτικού μονοπατιού: το mTORC1 και το mTORC2.

Ειδικότερα, η ενεργοποίηση του mTOR αυξάνει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και μπορεί να οδηγήσει σε υπερτροφία του μυοκαρδίου και εν συνεχεία σε καρδιακή ανεπάρκεια. Επομένως, το μονοπάτι του PI3K-Akt-mTOR μπορεί να αποτελέσει σημαντική οδό βασικής έρευνας για την εύρεση νέων θεραπευτικών στόχων για την υπέρταση αλλά και την υπερτροφία του μυοκαρδίου.

Από τα προκαταρκτικά αποτελέσματα της μελέτης μας, που παραθέσαμε παραπάνω, προκύπτει ότι στην περίπτωση χορήγησης της συνδυασμένης φαρμακευτικής αγωγής με ιβεσαρτάνη και ρεσβερατρόλη παρατηρήθηκε το μικρότερο ποσοστό αύξησης στη μάζα της αριστερής κοιλίας (αύξηση κατά ~6,38% έναντι αύξησης 57,3%, 19,55%, 76,48% στην ομάδα ελέγχου, στην ομάδα που ελάμβανε ιβεσαρτάνη και στην ομάδα που ελάμβανε ρεσβερατρόλη, αντιστοίχως). Ο αυξημένος καρδιακός ρυθμός που παρατηρήθηκε στις πειραματικές ομάδες κατά τη διενέργεια του διαθωρακικού υπερηχογραφήματος καρδιάς αποδόθηκε στη χορήγηση αναισθησίας με ισοφλουράνιο. Αξίζει ακόμα να τονιστεί ότι στη χορήγηση συνδυασμένης αγωγής με ιβεσαρτάνη και ρεσβερατρόλη παρατηρήθηκε αύξηση του κλάσματος εξώθησης της αριστερής κοιλίας κατά 4,69%, ενώ στην περίπτωση μονοθεραπείας είτε με ιβεσαρτάνη, είτε με ρεσβερατρόλη, αλλά και στην

ομάδα ελέγχου παρατηρήθηκε μείωση. Τα προκαταρκτικά ευρήματα από το διαθωρακικό υπερηχογράφημα καρδιάς υπογραμμίζουν τα συνεργικά οφέλη της συνδυασμένης αντιυπερτασικής αγωγής που οφείλονται στο διαφορετικό μηχανισμό δράσεως των χορηγούμενων ουσιών.

Προκύπτει επίσης ότι στην περίπτωση χορήγησης της συνδυασμένης φαρμακευτικής αγωγής με ιβεσαρτάνη και ρεσβερατρόλη παρατηρήθηκε το μικρότερο ποσοστό αύξησης στην επί τοις % μεταβολή της αρτηριακής πίεσης (ΔΠ%) (κατά περίπου 1,39% για τη συστολική αρτηριακή πίεση), γεγονός που τονίζει επίσης τα οφέλη της συνδυασμένης αντιυπερτασικής αγωγής. Σε αντίθεση, οι επίμυες των υπόλοιπων πειραματικών ομάδων παρουσίασαν μεγαλύτερο ποσοστό αύξησης στην επί τοις % μεταβολή της αρτηριακής πίεσης (ΔΠ%), είτε όταν ελάμβαναν μονοθεραπεία, είτε όταν ανήκαν στην ομάδα ελέγχου.

Τα υψηλά επίπεδα μικροαλβουμίνης στην πειραματική ομάδα D (δηλαδή στον επίμυ που ελάμβανε και τις 2 ουσίες, την ιβεσαρτάνη και τη ρεσβερατρόλη) ίσως οφείλονται στα υψηλότερα επίπεδα γλυκόζης που παρατηρήθηκαν στην ομάδα αυτή (δηλαδή, εμφάνιση μικροαλβουμινουρίας λόγω παρουσίας σακχαρώδους διαβήτη). Η μέτρηση της γλυκόζης του τριχοειδικού αίματος σε όλες τις πειραματικές ομάδες πριν τη συνήθη αιμοληψία, καθώς και η μέτρηση της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης (HbA1c) θα ήταν ωφέλιμες για την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων. Παρατηρούμε ακόμη, τη μικρότερη τιμή των επιπέδων LDL και ολικής χοληστερόλης στον SHR "D", που ελάμβανε συνδυασμένη αντιυπερτασική αγωγή.

Δεν παρατηρήθηκαν αιφνίδιοι θάνατοι στα υπό μελέτη ζώα, γεγονός που ίσως υπογραμμίζει τη μη τοξικότητα της χορηγηθείσας θεραπείας. Παρόλα αυτά, δεν κατεγράφη κανένα μη θανατηφόρο καρδιαγγειακό σύμβαμα στα υπό μελέτη ζώα και δεν παρουσιάστηκαν λοιμώξεις.

Τα προκαταρκτικά αποτελέσματα της μελέτης μας υποστηρίζουν ότι οι αναστολείς mTOR όταν συγχρησιμοποιούνται με αναστολείς του άξονα ρενίνης-αγγειοτασίνης-αλδοστερόνης έχουν ευεργετική επίδραση τόσο στη μείωση των επιπέδων της αρτηριακής πίεσης, όσο και στην αύξηση της μάζας της αριστερής κοιλίας. Ωστόσο, ο μικρός αριθμός πειραματόζων που συμπεριλήφθηκαν στο πιλοτικό μας πρόγραμμα περιορίζει τα ευρήματα της μελέτης μας. Συνέχιση των πειραματικών διαδικασιών με μεγαλύτερο αριθμό πειραματόζων αλλά και περαιτέρω μοριακές μελέτες είναι απαραίτητες προκειμένου να εξάγουμε ασφαλή συμπεράσματα σχετικά με το ρόλο των αναστολέων mTOR στη θεραπεία της υπέρτασης.

SUMMARY

Geladari ChV, Andreadis EA, Papalois A, Zacharioudaki A

Inhibition of mTOR in SHR: New treatment strategy for arterial hypertension and regression of target organ damage?

Arterial Hypertension 2019; 28: 205-216.

The need for new treatment strategies to treat high blood pressure is necessary for the optimal control of hypertension, which constitutes the most important risk factor for cardiovascular morbidity and mortality, globally. Available evidence suggests that the signaling pathway Akt-mTOR is an important regulator of myocardial hypertrophy. Moreover, it is known that irbesartan and resveratrol (a pleiotropic polyphenol found in grapes) that act upstream and upstream and downstream the Akt, respectively, modify the cellular response with beneficial effects for the myocardium in animal studies. The aim of our study was to evaluate the effect of monotherapy with either irbesartan or resveratrol, as well as the effect of combined treatment of these drugs, on the reduction of blood pressure levels and on the regression and/or the progression of target organ damage among spontaneously hypertensive rats (SHRs). Preliminary data was promising for the combined treatment both on the blood pressure reduction and the delay in the increase of left ventricular mass. Our data suggests that mTOR inhibitors are a potential therapeutic target for hypertension and the associated increase in left ventricular mass, when they are combined with renin-angiotensin-aldosterone blockers.

Key-words: Hypertension, Resveratrol, Hypertrophy, Microalbuminuria, SHR.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Rahimi K, Emdin CA, MacMahon S. The epidemiology of blood pressure and its worldwide management. *Circulation research* 2015; 116: 925-936.
2. Wang TJ, Vasan RS. Epidemiology of uncontrolled hypertension in the United States. *Circulation* 2005; 112: 1651-1662.
3. Mozzafarian D, Benjamin EJ, Go AS, et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2015 Update: a report from the American Heart Association. *Circulation*. 2015; e29-322.
4. Ludovitz P, Unger T. Novel therapeutic targets for hypertension. *Nature Reviews Cardiology* 2010; 7: 431-441.
5. Oparil S, Zaman MA, Calhoun DA. Pathogenesis of hypertension. *Annals of internal medicine* 2003; 139: 761-776.
6. Molckentin JD, Dorn GW. Cytoplasmic signaling pathways that regulate cardiac hypertrophy. *Annual review of physiology* 2001; 63: 391-426.
7. Touyz RM, Anagnostopoulou A, De Lucca Camargo L, Montezano AC. Novel Biosensors Reveal a Shift in the Redox Paradigm From Oxidative to Reductive Stress in Heart Disease. *Circ Res* 2016.
8. Rodrigo R, Libuy M, Feliu F, Hasson D. Oxidative stress-related biomarkers in essential hypertension and ischemia-reperfusion myocardial damage. *Disease markers* 2013; 35: 773-790.
9. Dorn GW, Force T. Protein kinase cascades in the regulation of cardiac hypertrophy. *The Journal of clinical investigation* 2005; 115: 527-537.
10. Soesanto W, Lin HY, Hu E, et al. Mammalian target of rapamycin is a critical regulator of cardiac hypertrophy in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 2009; 54: 1321-1327.
11. Iaccarino G, Ciccarelli M, Sorriento D, et al. AKT participates in endothelial dysfunction in hypertension. *Circulation* 2004; 109: 2587-2593.
12. Li Z, Wang J, Yang X. Functions of autophagy in pathological cardiac hypertrophy. *Int J Biol Sci* 2015; 11: 672-678.
13. Yang Z, Klionsky DJ. An overview of the molecular mechanism of autophagy. *Autophagy in infection and immunity. Springer Berlin Heidelberg*, 2009; 1-32.
14. Wang ZV, Rothermel BA, Hill JA. Autophagy in hypertensive heart disease. *Journal of Biological Chemistry* 2010; 285: 8509-8514.
15. Kim YC, Kun-Liang G. mTOR: a pharmacologic target for autophagy regulation. *The Journal of clinical investigation* 2015; 125: 25-32.
16. Nazio F, Strappazon F, Antonioli M, et al. mTOR inhibits autophagy by controlling ULK1 ubiquitylation, self-association and function through AMBRA1 and TRAF6. *Nature cell biology* 2013; 15: 406-416.
17. Steckelings UM, Unger T. Angiotensin Receptors and Autophagy Live and Let Die. *Hypertension* 2009; 53: 898-899.
18. Park D, Jeong H, Lee MN, et al. Resveratrol induces autophagy by directly inhibiting mTOR through ATP competition. *Scientific reports* 2016; 6: 21772.

19. Manning BD. Game of TOR – The target of rapamycin rules four kingdoms. *N Engl J Med* 2017; 377: 1297-1299.
20. Jiang H, Shang X, Wu H, et al. Resveratrol downregulates PI3K/Akt/mTOR signaling pathways in human U251 glioma cells. *J Exp Ther Oncol* 2009; 8: 25-33.
21. Lan F, Weikel KA, Cacicedo JM, Ido Y. Resveratrol-Induced AMP-Activated Protein Kinase Activation Is Cell-Type Dependent: Lessons from Basic Research for Clinical Application. *Nutrients* 2017; 9: 751.
22. Poolman TM, Ng LL, Farmer PB, Manson MM. Inhibition of the respiratory burst by resveratrol in human monocytes: correlation with inhibition of PI3K signaling. *Free Radic Biol Med* 2005; 39: 118-32.
23. Schreiner CE, Kumerz M, Gesslbauer J, et al. Resveratrol blocks Akt activation in angiotensin II- or EGF-stimulated vascular smooth muscle cells in a redox-independent manner. *Cardiovasc Res* 2011; 90: 140-147.
24. Penumathsa SV, Thirunavukkarasu M, Zhan L, et al. Resveratrol enhances GLUT-4 translocation to the caveolar lipid raft fractions through AMPK/Akt/eNOS signaling pathway in diabetic myocardium. *J Cell Mol Med* 2008; 12: 2350-61.