

El Laboratori d'Investigació en Litiasi Renal de l'Institut Universitari d'Investigació en Ciències de la Salut (UIB-CAIB) desvetlla etapes clau dels mecanismes implicats en el desenvolupament de calcificacions cardiovasculars en pacients sotmesos a diàlisi

Els investigadors posen de manifest el paper dels inhibidors de la calcificació i de les proteïnes en grups carboxílics en el desenvolupament de les calcificacions

Membres del Laboratori d'Investigació en Litiasi Renal de l'Institut Universitari d'Investigació en Ciències de la Salut (IUNICS), centre mixt entre la UIB i la CAIB, han comprovat en experiments realitzats amb animals quins són els mecanismes implicats en la resposta immunitària enfront de les calcificacions i el paper fonamental que exerceixen els inhibidors de la cristal·lització en el control del procés patològic.

L'estudi ha estat realitzat en el marc del projecte «Estudis sobre la prevenció del desenvolupament de calcificacions cardiovasculars en pacients dialitzats. Avaluació comparativa dels efectes del fitat i de dos bifosfonats d'aplicació clínica actual», que duu a terme el Laboratori d'Investigació en Litiasi Renal del IUNICS, en virtut del conveni subscrit entre la UIB i la Fundació Barceló.

Aquest conveni, signat el dia 14 de febrer de 2007, va partir de l'interès de la Fundació Barceló a donar suport a la investigació relacionada amb alguns dels problemes detectats en pacients sotmesos a diàlisi; per exemple, l'alta freqüència d'aparició de calcificacions cardiovasculars entre aquests pacients. En efecte, entre un 40 i un 50 per cent de la població dialitzada presenta processos de calcificació arterial que genera hipertensió i augmenta el risc de patir accidents cardiovasculars. A més, la calcificació complica enormement un possible trasplantament renal en aquests pacients, ja que el teixit i els vasos que irriguen els ronyons es tornen rígids i molt fràgils.

El projecte d'investigació, que es desenvoluparà al llarg de cinc anys (2007-2011) i amb un pressupost de 150.000 euros, té com a objectiu principal aclarir els mecanismes inductors de les calcificacions en els pacients dialitzats i els possibles tractaments. La primera fase del projecte, duta a terme al llarg d'aquests tres primers anys, ha consistit a estudiar mitjançant models in vitro i models in vivo (emprant animals d'experimentació) tots aquells aspectes fonamentals implicats en el desenvolupament de la calcificació, al mateix temps que es posava a punt la metodologia que s'utilitzarà durant els pròxims dos anys.

Tal com afirma el doctor Fèlix Grases, "un dels punts més foscs dels processos de calcificació, tant renals com cardiovasculars, ha estat el paper que ocupen les proteïnes, en concret les proteïnes en grups carboxílics, a les quals la literatura científica ha atribuït un efecte inhibidor de la cristal·lització, tal com posseeixen

composts com el pirofosfat o el fitat. De fet -apunta el doctor Grases-, ja en treballs anteriors el nostre grup havia intentat aclarir aquest paper de les proteïnes en grups carboxílics mitjançant experiments realitzats in vitro, sense que l'hipotètic efecte inhibidor resultàs evident".

Amb l'objectiu d'analitzar el paper que ocupa una carboxiproteïna àmpliament relacionada amb processos de calcificació -l'osteopontina-, el grup va dissenyar un experiment amb animals de laboratori consistent a comparar aquest hipotètic efecte de la proteïna amb el d'un compost la capacitat inhibidora de la cristallització del qual està àmpliament contrastada i profundament investigada pel grup, el fitat.

Segons explica el doctor Grases, "l'osteopontina és sintetitzada pels mateixos macròfags. Com que és una proteïna en grup carboxílic, els seus grups carboxil reaccionen amb el calci de la hidroxiapatita i l'osteopontina queda modificada en la seva estructura molecular. Dit de manera senzilla, la proteïna queda "enganxada" a l'estructura del cristall alhora que modifica la seva pròpia forma. Es converteix, per tant, en un senyalitzador cel·lular perquè els macròfags puguin atacar el que fins a aquest moment no havia estat més que una superfície inorgànica. És a dir, els macròfags poden, gràcies a l'osteopontina modificada, reconèixer que els cristalls d'hidroxiapatita són un element aliè al cos que és necessari combatre i eliminar. Només llavors els macròfags ataquen amb àcid la hidroxiapatita senyalitzada i la redissolen".

Aquest efecte senyalitzador de la carboxiproteïna i la posterior dissolució dels cristalls duta a terme per les cèl·lules del sistema immunitari es produeix amb gran eficiència en el cas de rates alimentades amb fitat, ja que en aquest cas les calcificacions provocades experimentalment arriben a assolir una mida petita. Així, la capacitat de detecció i dissolució dels cristalls del sistema immunitari és gairebé immediata. En canvi, en el grup d'animals alimentats sense fitat, el ràpid creixement dels cristalls d'hidroxiapatita redueix l'eficiència del tàndem format per l'osteopontina i els macròfags. És a dir, la capacitat per dissoldre els cristalls resulta insuficient comparada amb la velocitat amb què aquests creixen.

La importància de l'efecte protector del fitat en el desenvolupament de calcificacions cardiovasculars s'ha evidenciat tant en experiments in vitro utilitzant pericardi boví (material utilitzat per fabricar vàlvules cardíaques emprades en humans) com en experiments in vivo amb animals en els quals la calcificació s'ha induït mitjançant vitamina D, nicotina o simplement mitjançant envelliment. Els efectes obtinguts s'han comparat amb els corresponents a un conegut bifosfonat com ara l'etidronat. En totes les situacions el fitat ha demostrat efectes inhibidors de les calcificacions molt eficaces i superiors a les exercides per l'etidronat.

D'aquesta manera, en condicions normals, l'organisme disposa d'un doble sistema de defensa per evitar que una lesió en una paret arterial evolucioni fins a una

calcificació: d'una banda, manté uns bons nivells d'inhibidor en plasma (pirofosfat, fitat...) capaços d'evitar que la cristal·lització (provocada per múltiples factors) pugui avançar; i, per altra banda, disposa d'un sistema immunitari que és capaç en aquestes condicions de redissoldre els cristalls que l'inhibidor no ha pogut evitar que es formassin.

Què ocorre en el cas dels pacients sotmesos a diàlisi? Com en el cas de les persones sense cap tipus de disfunció renal, en aquells pacients que, a causa d'un o diversos factors, són més proclius a desenvolupar calcificacions, la falta d'inhibidor en plasma resulta fatal. I això és el que precisament ocorre en pacients dialitzats. El procés de diàlisi elimina grans quantitats d'inhibidor (pirofosfat, fitat...), i deixa aquests pacients sense defensa enfront de qualsevol petita lesió que pugui evolucionar cap a la calcificació. A més, aquest procés s'agreuja per l'elevada concentració de fosfat i, en ocasions, calci en la sang d'aquests pacients.

Fruit d'aquests treballs han estat diverses publicacions en revistes científiques internacionals de reconegut prestigi com ara *Journal of Nephrology*, *Frontiers in Biosciences*, *Circulation Journal* o *Cardiovascular Pathology*. A més, aquests treballs han donat lloc al desenvolupament de patents nacionals i internacionals que han estat transferides als Laboratoris Sanifit per a la seva comercialització.

Vists els resultats obtinguts fins al moment, en els pròxims anys es pretén desenvolupar un estudi multicèntric aleatoritzat dels efectes dels bifosfonats versus placebo sobre les calcificacions vasculars i densitat òssia en pacients en hemodiàlisi en col·laboració amb el Servei de Nefrologia de l'Hospital Universitari Son Dureta i el Servei de Nefrologia de l'Hospital d'Inca, així com els desenvolupaments preclínic i clínic del fitat per al seu ús en el tractament de la calcificació cardiovascular en pacients sotmesos a hemodiàlisi, a través dels Laboratoris Sanifit.

Publicacions:

Role of phytate and osteopontin in the mechanism of soft tissue calcification, F. Grases, RM Prieto, P Sanchis, C Saus, T de Francisco, *J Nephrol* 2008, 21, 768-775.

Effect of crystallization inhibitors on vascular calcifications induced by Vitamin D- a pilot study in Sprague-Dawley rats. F. Grases. P Sanchis, J Perelló, B Isern, RM Prieto, C Fernández-Palomeque, JJ Torres, *Circ J*, 2007, 71, 1152-1156.

Phytate inhibits bovine pericardium calcification in vitro. F. Grases, P Sanchis, A Costa-Bauzá/. O Bonnín, B Isern, J Perelló, RM Prieto, *Cardiovascular Pathology*, 2008, 17, 139-145.

Phytate (myo-inositol hexakisphosphate) inhibits cardiovascular calcification in rats, F Grases, P Sanchis, J Perelló, B Isern, RM Prieto, C Fernández-Palomeque, M Fiol, O Bonnín, JJ Torres, *Front Biosci*, 2006, 11, 136-142.

Phytate reduces age-related cardiovascular calcification, F. Grases, P. Sanchis, J Perelló, B Isern, RM Prieto, C Fernández-Palomeque, C Saus, *Front Biosci*, 2008, 13, 7115-7122.

Patents:

Patent nacional P200802363.

Patent internacional PCT/ES2009/070156.

Entitat titular: Universitat de les Illes Balears

Llicenciatari: Laboratoris Sanifit, SL