

# UNA NUOVA IPOTESI PATOGENETICA SUL RUOLO DELLA PRESSIONE ARTERIOSA NELLO SVILUPPO DELLA NEFROPATIA DIABETICA

G. GRUDEN

Dipartimento di Medicina Interna, Università di Torino, Torino

## Introduzione

---

La nefropatia diabetica interessa circa un terzo dei soggetti diabetici. Il diabete mellito, in particolare di tipo 2, ha un'elevata prevalenza nella popolazione e l'aumento di tale prevalenza, verificatosi negli ultimi decenni, ha fatto sì che la nefropatia diabetica sia oggi la causa più comune di insufficienza renale cronica terminale nei Paesi occidentali e sia prossima a diventare un'emergenza socio-sanitaria. Ogni sforzo deve pertanto essere fatto al fine di comprenderne i meccanismi patogenetici e prevenirla.

La storia naturale della malattia è caratterizzata da un progressivo aumento della permeabilità glomerulare alle proteine, che si accompagna nelle fasi più avanzate a decadimento della funzionalità renale. Dal punto di vista anatomo-patologico, si possono osservare aumento del volume frazionale del mesangio e ispessimento della membrana basale glomerulare. L'espansione del mesangio, che si verifica a spese del lume capillare glomerulare e dell'area della superficie di filtrazione, è l'alterazione strutturale che meglio correla con il decadimento della funzionalità renale e con lo sviluppo di proteinuria (1). Tale espansione è dovuta ad accumulo di costituenti della matrice extracellulare, quali collagene, fibronectina e laminina (2).

## Iperensione arteriosa e nefropatia diabetica: studi clinici

---

Studi prospettici nel diabete, sia di tipo 1 sia di tipo 2, hanno dimostrato che l'iperglicemia è il fattore più importante nello sviluppo della nefropatia diabetica (3, 4). Tuttavia la maggior parte dei soggetti diabetici (70%) non sviluppa la patologia renale e, sebbene alcune alterazioni istologiche siano osservabili nel rene, la loro funzionalità renale rimane sostanzialmente normale sino alla morte. Ne consegue, per-

tanto, che l'iperglicemia è necessaria, ma non sufficiente a causare il danno renale che conduce a insufficienza renale cronica.

L'ipertensione arteriosa svolge un ruolo critico nella progressione del danno renale ed è ben noto che la normalizzazione dei livelli pressori riduce la proteinuria e rallenta la perdita della funzione del rene (5). Tuttavia, l'ipertensione non è solo un fenomeno collaterale o secondario alla perdita della funzionalità renale. Vi sono, infatti, convincenti dimostrazioni che un aumento dei livelli della pressione arteriosa precede e conferisce suscettibilità allo sviluppo della malattia renale. Studi prospettici hanno dimostrato che i soggetti che svilupperanno microalbuminuria hanno, all'inizio dello studio (quando sono ancora normoalbuminurici), livelli di pressione arteriosa e di HbA<sub>1c</sub> più elevati dei soggetti che rimarranno normoalbuminurici durante il follow up (6, 7). Tale osservazione suggerisce che il passaggio da normo a microalbuminuria richiede la presenza sia di uno scarso controllo glicemico sia di un aumento dei livelli di pressione arteriosa. Negli indiani Pima un elevato livello di pressione arteriosa prima dell'insorgenza del diabete conferisce un più elevato rischio di patologia renale dopo lo sviluppo del diabete (8). Studi condotti sulle famiglie hanno mostrato che una familiarità per l'ipertensione arteriosa predispone al danno renale in presenza di diabete (9) ed è stato calcolato che il rischio di nefropatia nei diabetici di tipo 1 è tre volte maggiore in presenza di familiarità ipertensiva.

## Insulto emodinamico e glomerulosclerosi

---

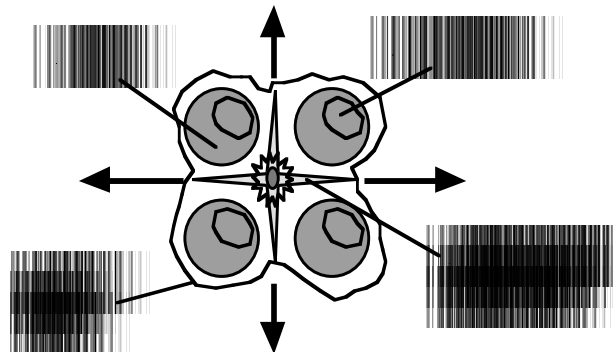
Aumenti anche modesti della pressione arteriosa media, ancora nel range della normotensione, posso-

no essere deleteri per il rene e clinicamente rilevanti in un soggetto diabetico. Questo perché il diabete causa una disfunzione dei meccanismi di autoregolazione della pressione nei capillari glomerulari, con aumento della pressione capillare glomerulare e facilitata trasmissione della pressione sistemica e delle sue oscillazioni al microcircolo renale (10).

Studi autoptici in pazienti diabetici con stenosi unilaterale dell'arteria renale hanno dimostrato che la lesione sclerotica nodulare tipica della glomerulopatia diabetica si sviluppa solo nel rene con l'arteria renale pervia (11). Inoltre, nell'animale, il trattamento con ACE-inibitori, che riporta alla norma la pressione intraglomerulare, previene la sclerosi del glomerulo e la proteinuria (12). Ciò, insieme a molteplici altre evidenze sia nell'uomo sia nell'animale, indica che l'aumento della pressione intraglomerulare svolge un ruolo cruciale nella genesi nella sclerosi del glomerulo renale. È stato, tuttavia, solo recentemente, con la dimostrazione delle peculiari proprietà elastiche del glomerulo e della risposta delle cellule mesangiali in coltura allo stiramento meccanico, che si è chiarito il meccanismo attraverso il quale l'insulto emodinamico a livello dei capillari glomerulari porta a danno renale.

Il glomerulo ha un'elevata compliance e, quando la pressione intraglomerulare aumenta a livelli che approssimano quelli presenti nella nefropatia diabetica, il volume glomerulare aumenta circa del 30%. L'espansione del glomerulo si associa ovviamente a stiramento delle sue componenti strutturali, inclusa la matrice extracellulare e gli elementi cellulari. Studi morfologici hanno dimostrato che il corpo della cellula mesangiale si situa al centro del lobulo glomerulare e che i suoi numerosi prolungamenti citoplasmatici si estendono tra capillari adiacenti e si attaccano saldamente alle regioni perimesangiali della membrana basale glomerulare. Pertanto lo spostamento centrifugo di queste regioni durante l'espansione del glomerulo si traduce in un marcato stiramento tridimensionale della cellula mesangiale (fig. 1) (13)

È possibile mimare *in vitro* tale stiramento meccanico sottoponendo cellule mesangiali in coltura a stretch meccanico. In breve, le cellule sono seminate su piastre di coltura dal fondo flessibile, una pressione negativa è ciclicamente applicata al di sotto delle piastre e ciò provoca la deflessione del fondo flessibile della piastra con conseguente stiramento delle cellule. Usando questo modello *in vitro*, è stato dimostrato che lo stretch meccanico stimola la sintesi e la deposizione di componenti della matrice extracellulare, quali collagene (I, III e IV), fibronectina e laminina, in modo direttamente proporzionale al grado di



**Fig. 1.** I prolungamenti citoplasmatici della cellula mesangiale si estendono tra capillari adiacenti e si attaccano alle regioni perimesangiali della membrana basale glomerulare. L'espansione del glomerulo all'aumentare della pressione intraglomerulare causa uno stiramento tridimensionale della cellula mesangiale.

stretch applicato (14). Pertanto un lieve aumento dei livelli pressori sistemici, trasmesso al glomerulo grazie all'azione permissiva sull'emodinamica renale dell'iperglicemia, induce espansione del glomerulo con stiramento delle cellule mesangiali. La risposta delle cellule mesangiali a tale insulto è un aumento della produzione di matrice extracellulare con conseguente sclerosi.

## Meccanismi cellulari dell'insulto emodinamico

Nell'ultimo decennio si è cercato di chiarire i meccanismi cellulari e intracellulari attraverso i quali l'insulto emodinamico conduce a sclerosi del glomerulo. Questo lavoro, oltre a portare all'identificazione di mediatori di danno e quindi di possibili bersagli terapeutici, è stato importante perché ha permesso di chiarire che l'insulto metabolico dell'iperglicemia e quello emodinamico degli elevati livelli pressori convergono a livello cellulare, influenzando l'espressione e/o l'attività di comuni mediatori cellulari e intracellulari.

Le cellule mesangiali sono un'importante fonte di citochine, che agiscono sulle cellule mesangiali stesse con un meccanismo di tipo autocrino o su cellule vicine in modo paracrino. Il TGF- $\beta$ 1, un potente stimolatore della deposizione di matrice extracellulare, e il Vascular Endothelial Growth Factor/Vascular Permeability Factor (VEGF/VPF), una citochina che aumenta drammaticamente la permeabilità vascolare,

sono ritenuti importanti nella patogenesi della nefropatia diabetica.

Il numero di prove sperimentali e cliniche a sostegno dell'ipotesi del TGF- $\beta$ 1 come mediatore della sclerosi del glomerulo diabetico è oggi impressionante. Per affermare con sicurezza che una citochina è coinvolta in un processo patologico, bisogna dimostrarne la persistente presenza nella sede del danno, provare inoltre che il danno è indotto dalla citochina e prevenuto dalla sua inibizione, infine deve sussistere una plausibilità biologica (15). In soggetti diabetici nefropatici l'espressione del TGF- $\beta$ 1 è persistentemente aumentata nel glomerulo, e tale aumento è proporzionale al grado di accumulo di matrice nel mesangio (16). Nell'animale sano l'infusione di TGF- $\beta$ 1 induce sclerosi del glomerulo e proteinuria, riproduce in pratica le alterazioni osservabili nella nefropatia diabetica (17). Nell'animale diabetico il blocco del TGF- $\beta$ 1 con anticorpi neutralizzanti riduce l'iper-espressione di fibronectina e collagene, e previene la sclerosi del glomerulo (18, 19). Abbiamo quindi la conferma dell'esistenza di un rapporto causale tra l'aumento del TGF- $\beta$ 1 e quello della matrice.

L'esistenza di una plausibilità biologica è indicata da studi condotti in vitro sulle cellule mesangiali, la principale fonte della matrice mesangiale. Le cellule mesangiali producono il TGF- $\beta$ 1 ed espongono recettori per il TGF- $\beta$ . Il legame del TGF- $\beta$ 1 ai suoi recettori stimola la cellula a produrre più matrice e meno metalloproteasi, enzimi deputati alla degradazione della matrice stessa (20, 21). Il risultato ultimo è un accumulo di matrice extracellulare. È noto che il TGF- $\beta$ 1 è responsabile dell'accumulo di matrice extracellulare e dell'ipertrofia cellulare che si verifica in cellule mesangiali esposte ad alti livelli di glucosio (22). Studi recenti indicano inoltre che il TGF- $\beta$ 1 è anche coinvolto nell'iperproduzione di matrice extracellulare indotta dallo stretch meccanico. Lo stretch, infatti, stimola nelle cellule mesangiali umane l'espressione genica e la secrezione proteica del TGF- $\beta$ 1 e anche del recettore di tipo 2 del TGF- $\beta$  (23). Inoltre anticorpi neutralizzanti il TGF- $\beta$ 1 riducono significativamente la produzione di componenti della matrice indotta dallo stretch (24). Pertanto, l'ipertensione a livello dei capillari glomerulari aumenta la deposizione di matrice extracellulare nel mesangio con un meccanismo che è, almeno in parte, mediato dal TGF- $\beta$ 1.

Il VEGF/VPF è una citochina vasoattiva dotata di una potente azione angiogenetica. A livello retinico, il VEGF svolge un ruolo chiave nella neovascolarizzazione della retinopatia proliferante, e strategie terapeutiche atte a bloccarne l'azione sono oggi in corso di studio in trial clinici. Il VEGF/VPF ha inoltre un poten-

te effetto vasopermeabilizzante ed è in tale azione 50.000 volte più potente dell'istamina (25). L'espressione del VEGF e dei suoi recettori è aumentata nel rene in varie glomerulopatie caratterizzate da proteinuria e in modelli sperimentali di nefropatia diabetica a suggerire un ruolo del VEGF nella patogenesi dell'aumentata permeabilità glomerulare del rene diabetico (26). Recettori per il VEGF sono presenti nel rene sia sull'endotelio sia sulle cellule mesangiali (25, 27). Le cellule mesangiali inoltre producono il VEGF e tale produzione aumenta il glucosio (28). Studi utilizzando il modello dello stretch meccanico hanno dimostrato che anche l'insulto emodinamico e l'angiotensina II (Ang II) indipendentemente inducono l'espressione genica e la secrezione proteica del VEGF (29, 30). Tale osservazione assume particolare rilievo alla luce del ben noto effetto proteinurico dell'Ang II e della provata efficacia degli ACE-inibitori e degli antagonisti del recettore AT1 dell'Ang II nel rallentare il progressivo aumento dell'AER in diabetici nefropatici. La pre-esposizione di cellule mesangiali a stretch provoca un drammatico aumento della produzione di VEGF dopo stimolo con Ang II, fenomeno dovuto a un aumento dell'espressione del recettore AT1 dell'Ang II in cellule esposte a stretch (30). Tale osservazione suggerisce che gli effetti deleteri degli elevati livelli di pressione intraglomerulare possono essere conseguenza non solo di un diretto effetto dell'insulto meccanico, ma anche di un aumento della risposta all'Ang II, come citochina (fig. 2).

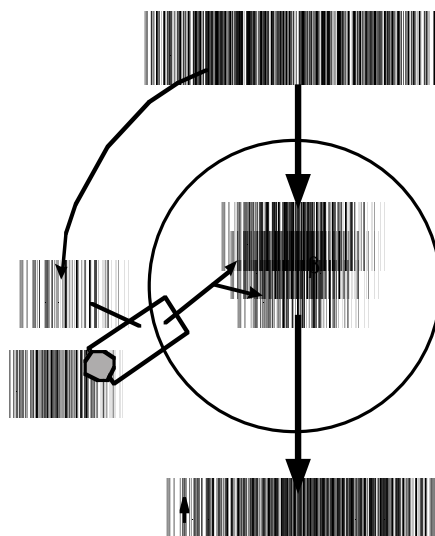


Fig. 2. L'insulto emodinamico può direttamente indurre la produzione di mediatori ad azione prosclerotica e vasopermeabilizzante, quali il TGF- $\beta$ 1 e il VEGF, ed esaltare l'azione dell'Ang II su queste citochine.

## Meccanismi molecolari dell'insulto emodinamico

Quali sono i mediatori intracellulari attivati dall'insulto emodinamico? La trascrizione dei geni che codificano per TGF- $\beta$ 1, VEGF e costituenti della matrice, quali fibronectina e laminina, è controllata a livello nucleare da un fattore di trascrizione noto come AP-1 (31, 32), la cui espressione è aumentata nei glomeruli di ratti diabetici (33, 34). L'espressione dell'AP-1 è a sua volta sotto il controllo di molecole di segnale intracellulare ad attività chinasi.

La proteina chinasi C (PKC), una serina-treonina-chinasi importante nella trasduzione di molteplici segnali extracellulari, induce la produzione di matrice con un meccanismo AP-1-dipendente (35). Nel diabete sperimentale la PKC è attivata nei glomeruli (35) e la sua l'inibizione riduce l'AER e previene l'iper-espressione dei costituenti della matrice e del TGF- $\beta$ 1 (36-38). È ben noto che alti livelli di glucosio stimolano l'attivazione della PKC attraverso un aumento della sintesi *de novo* di diacilglicerolo (35, 39). Sorprendentemente, lo stretch meccanico induce anch'esso una rapidissima attivazione di questa chinasi nelle cellule mesangiali (40). Inoltre, studiando i meccanismi intracellulari che portano alla produzione di VEGF in cellule mesangiali sottoposte a stretch, si è osservato che tale produzione è significativamente ridotta da inibitori della PKC a indicare che la produzione di VEGF è almeno in parte un fenomeno PKC-dipendente (29).

Le Mitogen-Activated Protein Kinases (MAPK: ERK, JNK e p38) sono delle chinasi importanti nella trasduzione di segnali extracellulari al nucleo. Le MAPK sono attivate da varie citochine e stress extracellulari tramite una duplice fosforilazione in corrispondenza di residui di treonina e tirosina. Una volta attive, si muovono nel nucleo dove fosforilano e attivano specifici fattori di trascrizione che regolano l'espressione dell'AP-1 (41). Pertanto le MAPK possono teoricamente controllare l'espressione di matrice, TGF- $\beta$ 1 e VEGF, con un meccanismo AP-1-dipendente. Recenti studi indicano che le MAPK e in particolare la p38 sono importanti nell'accumulo di matrice che si osserva nella nefropatia diabetica.

La p38 è attivata nei glomeruli di ratti diabetici e ciò ne attesta l'importanza in vivo (42). È noto che la p38 può essere attivata da stress di tipo fisico, quali lo stress osmotico e i raggi ultravioletti; è pertanto plausibile che lo stretch meccanico possa alterarne lo stato di attivazione. In accordo con tale ipotesi è stato recentemente provato in cellule mesangiali umane che lo stretch causa una rapida e intensa attivazione della p38. Inoltre in cellule mesangiali sottoposte a

stretch, uno specifico inibitore della p38 annulla l'iperproduzione di fibronectina e TGF- $\beta$ 1, mentre un inibitore della PKC abolisce l'attivazione della p38 (43). Questo prova che la p38 è una molecola di segnale intracellulare che opera a valle della PKC e media l'iperproduzione di costituenti della matrice. Nelle cellule mesangiali la p38 è anche attivata dal TGF- $\beta$ 1 e dall'alto glucosio (43, 44). Inoltre, l'inibizione della p38 blocca la produzione di fibronectina, non solo in cellule esposte allo stretch, ma anche in cellule incubate con TGF- $\beta$ 1 (43). Questi dati confermano l'importanza della p38 nei processi di sclerosi e indicano che la p38 è un mediatore intracellulare su cui convergono plurimi stimoli prosclerotici.

L'insieme di queste e altre evidenze sperimentali ha consentito di delineare la seguente sequenza di eventi nelle cellule esposte a stretch. Lo stretch determina una rapida attivazione PKC-dipendente della p38, che porta a un'indipendente produzione di fibronectina e TGF- $\beta$ 1. Una volta formatosi, il TGF- $\beta$ 1 contribuisce a mantenere la p38 in stato attivo e porta a un'ulteriore produzione di fibronectina in un circolo vizioso che conduce a una protratta deposizione di matrice (43). In conclusione, l'insulto emodinamico può direttamente indurre la produzione di mediatori ad azione prosclerotica e vasopermeabilizzante, quali il TGF- $\beta$ 1 e il VEGF, ed esaltare l'azione dell'Ang II su queste citochine. Le vie di trasduzione del segnale attivate e le citochine prodotte come risposta all'insulto emodinamico appaiono sovrapponibili a quelle indotte dall'iperlipidemia. Ciò suggerisce una convergenza/sinergismo che può spiegare a livello molecolare l'interazione, clinicamente ben nota, tra insulto emodinamico e metabolico nella nefropatia diabetica (fig. 3).

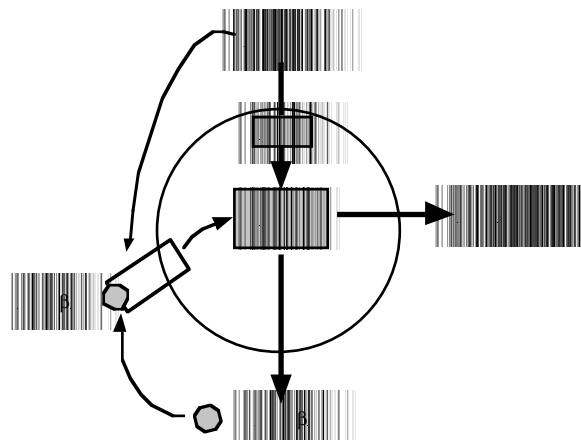


Fig. 3. Lo stretch attiva la p38 con un meccanismo PKC-dipendente. L'attivazione della p38 induce produzione di fibronectina e TGF- $\beta$ 1. Il TGF- $\beta$ 1 contribuisce a mantenere la p38 in stato attivo e stimola un'ulteriore produzione di fibronectina in un circolo vizioso che conduce a una protratta deposizione di matrice.

### Bibliografia

1. Mauer SM, Steffes MW, Ellis EN, Sutherland DER, Brown DM, Goetz FC: Structural functional relationships in diabetic nephropathy. *J Clin Invest* **74**, 1143-1155, 1984
2. Schleicher ED: Biochemical aspects of diabetic nephropathy in the kidney and hypertension in diabetes mellitus. Edited by Mogensen CE. Kluwer Academic Publishers **23**, 223-233, 1997
3. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group: The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* **329**, 977-986, 1993
4. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group: Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* **12**, 352:837-853, 1998
5. Lewis EJ, Hunsicker LG, Bain RP, Rohde RD: The effect of angiotensin-converting-enzyme inhibition on diabetic nephropathy. *N Engl J Med* **329**, 1456-1462, 1993
6. The Microalbuminuria Collaborative Study Group: Predictors of the development of microalbuminuria in patients with Type 1 diabetes mellitus: a seven-year prospective study. *Diabet Med* **16**, 918-925, 1999
7. Ravid M, Brosh D, Ravid-Safran D, Levy Z et al: Main risk factors for nephropathy in type 2 diabetes mellitus are plasma cholesterol levels, mean blood pressure, and hyperglycemia. *Arch Intern Med* **11**, 998-1004, 1998
8. Nelson RG: Prediabetic blood pressure predicts urinary albumin excretion after the onset of type 2 diabetes mellitus in Pima Indians. *Diabetologia* **36**, 998-1001, 1993
9. Krolewski AS, Canessa M, Warram JH, Laffel LM, Christlieb AR, Knowler WC, Rand LI: Predisposition to hypertension and susceptibility to renal disease in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* **318**, 140-145, 1988
10. Hostetter TH: The case for intra-renal hypertension in the initiation and progression of diabetic and other glomerulopathies. *Am J Med* **72**, 375, 1982
11. Thomsen OF, Andersen AR, Christiansen JS, Deckert T: Renal changes in long-term type 1 (insulin-dependent) diabetic patients with and without clinical nephropathy; a light microscopic, morphometric study of autopsy material. *Diabetologia* **26**, 361-365, 1984
12. Anderson S: Pathogenesis of diabetic glomerulopathy: the role of glomerular haemodynamic factors in the kidney and hypertension in diabetes mellitus. Edited by Mogensen CE. Kluwer Academic Publishers **26**, 253-261, 1997
13. Cortes P, Riser BL, Zhao X, Narins RG: Glomerular volume expansion and mesangial cell mechanical strain: mediators of glomerular pressure injury. *Kidney Int* **45** (suppl 45), S11, 1994
14. Yasuda T, Kondo S, Homma T, Harris RC: Regulation of extracellular matrix by mechanical stress in rat glomerular mesangial cells. *J Clin Invest* **98**, 1991-2000, 1996
15. Ziyadeh FN, Han DC: Involvement of TGF- $\beta$  and its receptors in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Kidney Int* **52** (suppl 60), S7-S11, 1997
16. Yamamoto T, Nakamura T, Noble NA, Ruoslihti E, Border WA: Expression of TGF- $\beta$  is elevated in human and experimental diabetic nephropathy. *Proc Natl Acad Sci USA* **90**, 1814-1818, 1993
17. Terrell TG, Working PK, Chow CP, Green JD: Pathology of recombinant human TGF- $\beta$ 1 in rats and rabbits. *Int Rev Exp Pathol* **34B**, 43-67, 1993
18. Sharma K, Jin Y, Guo J, Ziyadeh FN: Neutralization of TGF- $\beta$  by anti-TGF- $\beta$  antibody attenuates kidney hypertrophy and the enhanced extracellular matrix gene expression in streptozotocin-induced diabetic mice. *Diabetes* **45**, 522-530, 1996
19. Ziyadeh FN, Hoffman BB, Han DC et al: Long-term prevention of renal insufficiency, excess matrix gene expression, and glomerular mesangial matrix expansion by treatment with monoclonal anti-transforming growth factor-beta antibody in db/db diabetic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* **97**, 8015-8020, 2000
20. Poncelet AC, Schnaper HW: Regulation of human mesangial cell collagen expression by transforming growth factor-beta1. *Am J Physiol* **275** (3 Pt 2), F458-466, 1998
21. Edwards DR, Murphy G, Reynolds JJ, Whitham SE, Docherty AJ, Angel P, Heath JK: Transforming growth factor beta modulates the expression of collagenase and metalloproteinase inhibitor. *EMBO J* **6** (7), 1899-1904, 1987
22. Ziladeh FN, Sharma K, Ericksen M, Wolf G: Stimulation of collagen gene expression and protein synthesis in murine mesangial cells by high glucose is mediated by activation of TGF- $\beta$ . *J Clin Invest* **93**, 536, 1994
23. Gruden G, Thomas S, Burt D, Sacks S, Gnudi L, Viberti GC: Mechanical stretch induces TGF- $\beta$ 1 and type II-TGF- $\beta$  receptor in human mesangial cells. *Diabetologia* **41** (suppl 1), A38-144, 1998
24. Hirakata M, Kaname S, Chung U, Joki N, Hori Y, Noda M, Takuda Y, Okazaki T, Fujita T, Katoh T, Kurokawa K: Tyrosine kinase dependent expression of TGF- $\beta$  induced by stretch in mesangial cells. *Kidney Int* **51**, 1028, 1997
25. Ferrara N, David-Smith T: The biology of Vascular Endothelial Growth Factor. *Endocrinology Review* **18**, 4, 1997
26. Cooper ME, Vranes D, Youssef S, Stacker SA, Cox AJ, Rizkalla B, Casley DJ, Bach LA, Kelly DJ, Gilbert RE: Increased renal expression of vascular endothelial growth factor and its receptor VEGFR-2 in experimental diabetes. *Diabetes* **48** (11), 2229-2239, 1999
27. Thomas S, Vanuystel J, Gruden G, Rodriguez V, Burt D, Gnudi L, Hartley B, Viberti G: Vascular endothelial growth factor receptors in human mesangium in vitro and in glomerular disease. *J Am Soc Nephrol* **11** (7), 1236-1243, 2000
28. Thomas S, Gruden G, Burt D, Chusney G, Viberti GC: High glucose induces Vascular Permeability Factor pro-

- tein secretion in cultured human mesangial cells. *Diab Med* **13** (10), suppl 7, A40, 1996
29. Gruden G, Thomas S, Burt D, Lane S, Chusney G, Sacks S, Viberti GC: Mechanical Stretch induces vascular permeability factor in human mesangial cells: mechanisms of signal transduction. *Proc Natl Acad Sci USA* **94** (22), 1211-1212, 1997
  30. Gruden G, Thomas S, Burt D, Zhou W, Chusney G, Gnudi L, Viberti GC: Interaction of Angiotensin II and Mechanical Stretch on Vascular Endothelial Growth Factor Production by Human Mesangial Cells. *J Am Soc Nephrol* **10**, 730, 1999
  31. Kim SI, Angel P, Lavatis R et al: Autoinduction of TGF- $\beta$ 1 is mediated by the AP-1 complex. *Mol Cell Biol* **10**, 1492-1497, 1990
  32. Dean DC, McQuillan JJ, Weintraub S: Serum stimulation of fibronectin gene expression appears to result from rapid serum-binding of nuclear proteins to a cAMP response element. *J Biol Chem* **265**, 3522-3527, 1990
  33. Ingram AJ, Scholey JW: Protooncogene expression and diabetic kidney injury. *Kidney Int* **52** (suppl 60), S70-S76, 1997
  34. Shankland SJ, Scholey JW: Expression of growth related protooncogenes during renal hypertrophy. *Kidney Int* **47**, 782-788, 1995
  35. Koya D, King GL: Protein kinase C activation and the development of diabetic complications. *Diabetes* **47**, 859-866, 1998
  36. Ishii H, Jirousek MR, Kojima D, Takagi C, Xia P, Clermont A, Bursell SE, Kern TS, Ballas LM, Health WF, Stram LE, Feener EP, King GL: Amelioration of vascular dysfunction in diabetic rats by an oral PKC- $\beta$ 2 inhibitor. *Science* **272** (5262), 728-731, 1996
  37. Koya D, Jirousek MR, Lin YW, Ishii H, Kuboki K, King GL: Characterization of protein kinase C beta isoform activation on the gene expression of transforming growth factor-beta, extracellular matrix components, and prostanoids in the glomeruli of diabetic rats. *J Clin Invest* **100** (1), 115-126, 1997
  38. Koya D, Haneda M, Nakagawa H et al: Amelioration of accelerated diabetic mesangial expansion by treatment with PKC- $\beta$  inhibitor in diabetic db/db mice, a rodent model for type 2 diabetes. *FASEB J* **14**, 439-447, 2000
  39. Ayo SH, Radnik R, Garoni JA et al: High glucose increases diacylglycerol mass and activates protein kinase C in mesangial cell cultures. *Am J Physiol* **261**, F571-F577, 1991
  40. Homma T, Akai Y, Burns KD et al: Activation of S6 kinase by repeated cycles of stretching and relaxation in rat glomerular mesangial cells. Evidence for involvement of protein kinase C. *J Biol Chem* **267**, 32, 23129-23135, 1992
  41. Seger R, Krebs EG: The MAPK signalling cascade. *FASEB J* **9**, 726-798, 1995
  42. Dunlop ME, Muggli EE: Small heat shock protein alteration provides a mechanism to reduce mesangial cell contractility in diabetes and oxidative stress. *Kidney Int* **57** (2), 464-475, 2000
  43. Gruden G, Zonca S, Hayward A, Thomas S, Maestrini S, Gnudi L, Viberti GC: Mechanical Stretch-Induced Fibronectin and TGF- $\beta$ 1 Production in Human Mesangial Cells is p38 Mitogen Activated Protein Kinase-Dependent. *Diabetes* **49** (4), 655-661, 2000
  44. Kang MJ, Wu X, Ly H, Thai K, Scholey JW: Effect of glucose on stress-activated protein kinase activity in mesangial cells and diabetic glomeruli. *Kidney Int* **55** (6), 2203-2214, 1999

---

*Corrispondenza a: Dott.ssa Gabriella Gruden, Dipartimento di Medicina Interna, C.so AM Dogliotti 14, 10126 Torino  
e-mail: spirali@libero.it*

*Pervenuto in Redazione il 4/10/2000 - Accettato per la pubblicazione il 30/10/2000*