

SGLT2i: le molteplici strade della protezione cardiorenale. Panorama sugli aspetti della deprivazione dei nutrienti

In depth review

Fabio Mazza¹, Francesca Apponi², Angela Ciccirelli¹, Filomena Rubino¹, Ernesto Anselmo Cioffi¹, Roberto Simonelli³

1 UO Nefrologia e Dialisi, Ospedale SS Trinità Sora, Italia

2 UO Nefrologia e Dialisi, Ospedale Fabrizio Spaziani Frosinone, Italia

3 UO Nefrologia e Dialisi, Ospedale di Cassino, Italia

Corrispondenza a:

Fabio Mazza

UO Nefrologia e Dialisi, Ospedale SS Trinità Sora, Italia

Località San Marciano

03039 Sora (FR), Italia

Tel/Fax 07768294193

E-mail: fabio.mazza@aslfrosinone.it



Fabio Mazza

ABSTRACT

Gli inibitori SGLT-2 sono una classe relativamente nuova di farmaci antidiabetici che hanno guadagnato l'attenzione negli ultimi anni. Dal punto di vista molecolare, attivano una risposta trascrizionale simile alla restrizione calorica caratterizzata da un'up-regolazione di sensori proteici coinvolti nella deprivazione di nutrienti quali SIRT1 e AMPK e dalla down-regolazione di mTOR, molecola implicata nella segnalazione di eccesso nutrizionale. Lo scopo di questa rassegna è illustrare i principali pathway nella deprivazione dei nutrienti: un complesso quadro meccanicistico responsabile in parte dei benefici cardio-renali che rendono unici questi farmaci.

PAROLE CHIAVE: SGLT2i, AMPK, mTORC1, autofagia, mitofagia, ROS

Introduzione

Gli inibitori SGLT2, attraverso la glicosuria, simulano uno stato di carenza calorica.

Le cellule inizialmente riducono le scorte di glicogeno e lipidi, passando da un metabolismo ossidativo basato sul glucosio all'ossidazione di acidi grassi producendo corpi chetonici come carburante alternativo per compensare la perdita energetica. Contemporaneamente, lo stato di deprivazione nutrizionale porta all'attivazione di specifici interruttori molecolari: AMPK (AMP-activated protein kinase) e SIRT1 con lo scopo di generare moneta energetica extra attraverso meccanismi di riciclo di componenti cellulari danneggiati tramite autofagia e mitofagia [1].

Inoltre, la rimozione di proteine mal ripiegate, organelli disfunzionali, previene l'insorgenza di fenomeni quali stress ossidativo, l'infiammazione e l'apoptosi, privilegiando la salute e la sopravvivenza rispetto alla crescita e replicazione cellulare [2] (Figura 1).

L'attività degli autofagosomi preserva l'integrità cellulare, soprattutto in organi ricchi di mitocondri come reni e cuore, caratterizzati da un'intensa attività metabolica, particolarmente suscettibili a processi infiammatori e fibrotici soprattutto in presenza di patologia. L'autofagia e mitofagia rappresentano dunque una importante risposta adattativa e riparativa e la loro disfunzione predispone alla malattia d'organo [3].

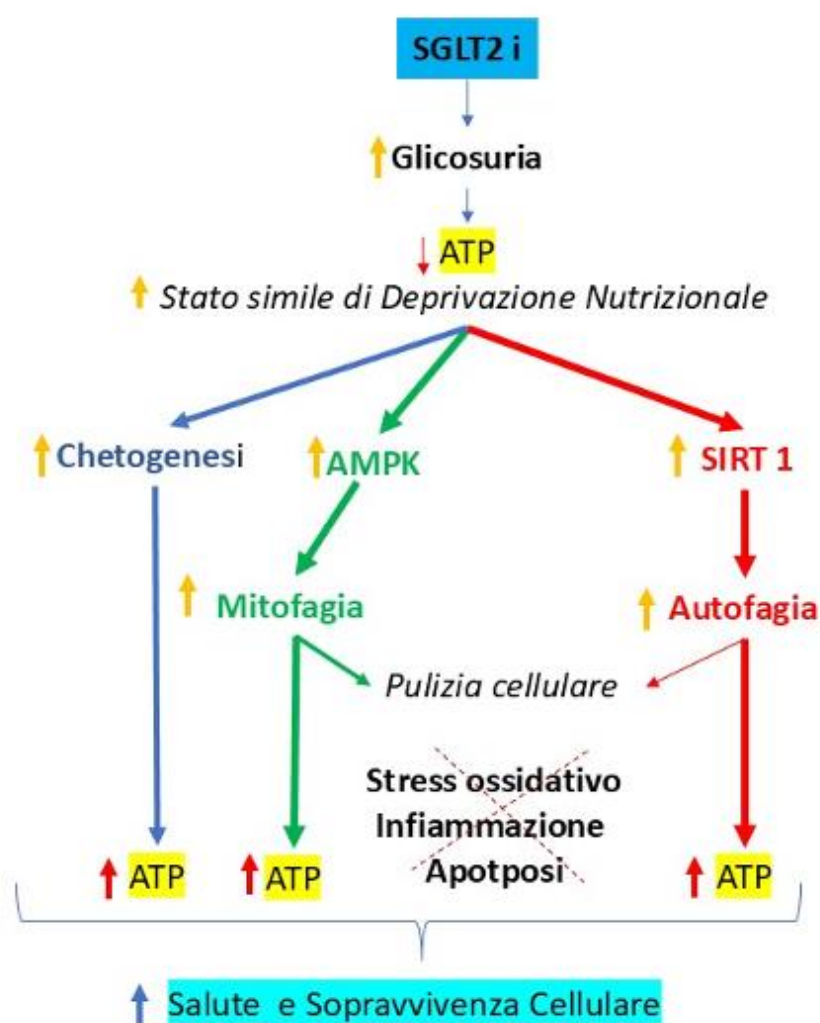


Figura 1. Lo stato simile alla deprivazione nutrizionale attiva diverse vie metaboliche (indicate con colori differenti) non solo per ripristinare i livelli di ATP, ma anche per assicurare, tramite processi cellulari avanzati come l'autofagia e la mitofagia, la salute e la sopravvivenza cellulare. Si veda il testo per maggiori dettagli.

Materiali e metodi

Abbiamo selezionato da PubMed® studi sperimentali che, utilizzando tecniche di biologia molecolare, proteomica e analisi su campioni tissutali (sia animali che umani), illustrano il ruolo di AMPK e SIRT1 quali principali mediatori dei benefici degli SGLT2i (Tabella 1).

Obiettivo dello studio	Materiali e metodi	Risultati	Ref
SGLT2, EPO SIRT1, PGC-1 α , HNF4	Analisi post hoc Biologia molecolare su modelli murini	up-regulation Eritropoietina up-regulation HIF-2 α	[8–11] [15–17]
Knockout SIRT1	Biologia molecolare su modelli murini diabetici e non	Danno renale acuto da sepsi Amplificazione della risposta infiammatoria	[19, 20] [21–24]
knock-in SIRT1	Biologia molecolare su modelli murini	up-regulation HIF- 1 α fibrosi tubulointerstiziale	[25, 26]
Knockout AMPK, SIRT1	Analisi su tessuti istologici renali su modelli diabetici animali e umani	effacement dei podociti	[42, 49]
AGEs knockout AMPK, SIRT1	Analisi biochimiche e istologiche su modelli diabetici animali e umani	Podocitopatia, glomerulosclerosi , proteinuria	[54–58]
knockout α 2-AMPK SIRT1, PGC-1 α	Proteomica: leucociti periferici umani	cardiopatia ischemica e dilatativa idiopatica	[61, 77]
knock-in mTORC1	Proteomica:analisi su campioni biotipici endomiocardici umani	cardiomiopatia dilatativa	[36]

Tabella 1. Sintesi dei lavori inclusi nella rassegna, che evidenzia il quesito scientifico, l'approccio metodologico (modelli animali e umani) e i risultati clinici. AMPK: AMP-activated protein kinase; HNF4: Hepatocyte Nuclear Factor 4; PGC-1 α : Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-gamma Coactivator 1-alpha; AGEs: Advanced Glycation End-products; mTORC1: Target Of Rapamycin Complex 1.

Il ruolo delle sirtuine

Le sirtuine sono una famiglia di deacetilasi istoniche, NAD⁺ dipendenti, redox sensibili che catalizzano modifiche post-traduzionali di centinaia di proteine coinvolte nel metabolismo e nell'omeostasi cellulare [4].

Nei mammiferi, sono state identificate 7 sirtuine, denominate SIRT1, SIRT2, SIRT3, SIRT4, SIRT5, SIRT6 e SIRT7, localizzate sia nel nucleo che nel citoplasma [5].

- SIRT1 la più grande delle sirtuine, presenta segnali di localizzazione nucleare e citoplasmatica, suggerendo la possibilità di traslocare tra i due compartimenti cellulari.
- SIRT2, principalmente localizzata nel nucleo, è coinvolta nei processi di neurodegenerazione.
- SIRT3 coordina l'ossidazione degli acidi grassi. Recenti studi dimostrano che l'inattivazione di tale sirtuina è associata a disfunzione mitocondriale, malattie neurodegenerative, cardiomiopatie, sindrome metabolica, disordini immunitari e neoplasie.
- SIRT4, localizzata nei mitocondri, regola la secrezione di insulina e metabolismo degli aminoacidi. Un recente studio dimostra che tale sirtuina attraverso lo splicing alternativo, modula l'espressione genica di CCN2 (connective tissue growth factor), proteina essenziale nella regolazione della proliferazione e differenziazione della matrice extracellulare in cellule tubulari in risposta a TGF- β . Questo lavoro arricchisce la comprensione dello sviluppo della fibrosi renale offrendo un potenziale approccio terapeutico.

- SIRT5 è coinvolta nei processi di succinilazione, malonilazione e glutarilazione della lisina a livello mitocondriale. I topi *knockout* SIRT5 mostrano una ridotta attività della carbamilfosfato sintetasi 1 (CPS1) con livelli elevati di ammoniaca nel sangue durante il digiuno.
- SIRT6 (proteina nucleare), è essenziale nei processi di riparazione del DNA. Animali privi di SIRT6 mostrano instabilità genomica, gravi disturbi metabolici e cardiovascolari. Per molti autori è considerata la proteina della longevità.
- SIRT7, scoperta di recente, si comporta come una deacetilasi H3K18Ac, rimuovendo il gruppo acetile dalla lisina 18 dell'istone H3. Questa azione ha importanti implicazioni per la regolazione dell'espressione genica nelle cellule tumorali in vivo.

La maggior parte dei lavori disponibili in letteratura documentano un'attivazione diretta di SIRT1 da parte degli inibitori degli SGLT2, tuttavia iniziano a emergere numerosi studi che indagano sulla possibilità che questi farmaci influenzino l'attività di tutte le sirtuine precedentemente menzionate. Una completa comprensione di tali interazioni potrebbe aprire nuove prospettive terapeutiche non solo per il trattamento del diabete ma anche di altre patologie (Tabella 2) [6].

Over espressione	Condizioni cliniche	Upregulation	Downregulation	Risposta	Bibliografia
SIRT1,3,6	Infiammazione	*	NF-kB, HIF-1 α	Ridotta risposta infiammatoria e fibrosi	[6]
SIRT1	Denutrizione	PGC1- α /FOXO1	Akt/mTORC1	ripristino dei livelli di ATP, ridotta concentrazione di ROS	[6]
SIRT1, 3, 6	Stress Ossidativo	FOXO1, FOX3a, Nrf2, Bcl2	P53, BAX, caspasi	Ridotta concentrazione di ROS, apoptosi e infiammazione	[6]
SIRT1, 3	Ipertensione	*	*	*	[6]
SIRT1,2,3,4,6,7	Aterosclerosi	*	*	*	[6]
SIRT1,3,6	Scompenso cardiaco	AMPK2 α PGC1- α	Akt/mTORC1, NF-kB, HIF-1 α , TGF- β	Stimolazione della biogenesi mitocondriale, riduzione infiammazione e fibrosi	[6, 59–62]
SIRT1	Coronaropatia	*	*	*	[6]
SIRT1,3,4,5,6	Danno da Ischemia e ri-perfusione	PGC-1 α , Bcl-2, Nrf2, FOXO1 Beclin1	NLRP3, NF-kB p53, BAX	Ridotti livelli di ROS durante la fase di ischemia che limita la risposta infiammatoria, apoptosi e il fenomeno dell'autofagia sostenuta durante la fase di ri-perfusione	[70–80]
SIRT1,3,4	Nefropatia diabetica (podociti)	Beclin1, PGC1- α AMPK, CCN2	NF-kB, TGF- β /p-Smad3	Riduzione della concentrazione di ROS, fibrosi, integrità del citoscheletro dei podociti	[20–24]
SIRT1,3,6	IRC	Beclin1, AMPK, ULK1, DRP1	Akt/mTORC1, NF-kB, HIF-1 α , TGF- β	Riduzione della concentrazione di ROS, fibrosi, integrità del citoscheletro dei podociti	[20–24]
SIRT1,3,5,6	IRA da sepsi, IRA da CIN	AMPK, Bcl-2, PGC-1 α , Bcl-2, Nrf2, ULK1, DRP1, CPS1	HIF-1 α , NLRP3, NF-kB	Stimolazione della mitofagia e biogenesi mitocondriale, ripristino livelli di ATP, ridotta concentrazione di ROS, apoptosi inibita	[19–24]
SIRT1,3	Calcolosi	FOXO1	*	*	[25–33]
SIRT1	Necrosi corticale renale	*	NF-kB, NLRP3, HIF-1 α	Riduzione infiammazione e fibrosi	[6, 25–33]
SIRT1	Glomerulopatie	Beclin1, AMPK, ULK1, DRP1, FOXO1, FOX3a, Nrf2	Akt/mTORC1, P53, BAX, caspasi	Rimozione mitocondri disfunzionali, ridotti livelli di ROS, incremento della biogenesi mitocondriale	[30–33]

Tabella 2. La stimolazione di specifiche sirtuine in diversi contesti clinici influenza l'attività (upregulation, downregulation) di numerosi fattori di trascrizione, responsabili di risposte metaboliche distinte. ROS: Specie Reattive dell'Ossigeno. *Fattori di trascrizione ancora da indentificare. Si veda il testo per i dettagli.

Energia

La glicosuria da SGLT2i stimola una *up-regulation* sistemica del segnale di privazione nutrizionale in tutti gli organi del corpo. La privazione di glucosio attiva SIRT1. Quest'ultima, attraverso la deacetilazione epatica di PGC-1 α (peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator), ripristina i livelli di energia tramite la glicogenolisi, gluconeogenesi e l'inibizione della glicolisi. Inoltre, la sirtuina-1 stimola la biogenesi mitocondriale, favorendo così un corretto metabolismo energetico (Figura 2 a) [7].

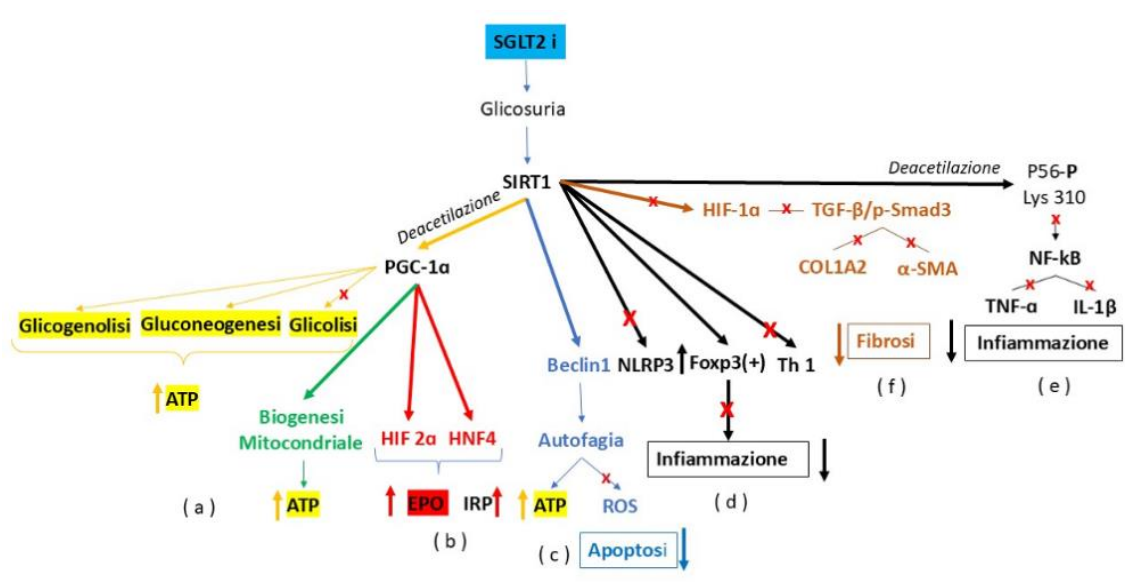


Figura 2. Vie metaboliche (distinte da colori differenti) attivate da SIRT1. Il ripristino dei livelli di ATP avviene mediante il pathway di PGC-1 α e Beclin1. Si ipotizza che SIRT1 possa attivare direttamente HIF-2 α e HNF4, stimolando la sintesi di eritropoietina (EPO) e delle proteine regolatrici del ferro (IRP). La riduzione dei processi infiammatori sarebbe dovuta all'inibizione dell'attività dell'inflammasoma (NLRP3), alla fosforilazione della subunità p56 sul residuo Lys 310 di NF-kB, alla downregulation delle citochine pro-infiammatorie Th1 e alla stimolazione delle cellule T regolatorie Fxp3(+) antinfiammatorie. L'inibizione dell'attività di HIF-1 α contrasta l'evoluzione della fibrosi tessutale. Si veda il testo per maggiori dettagli.

Eritropoietina

Autorevoli studi osservazionali sembrano evidenziare l'esistenza di una relazione diretta tra uso di SGLT2i e l'aumento di eritropoietina. Un'analisi secondaria dello studio randomizzato EMPA-HEART ha mostrato che in 90 pazienti affetti da diabete mellito di tipo 2 e malattia coronarica, dopo 6 mesi di trattamento con empagliflozin, i livelli di eritropoietina plasmatica erano significativamente aumentati rispetto al trattamento con il placebo [8].

L'analisi post-hoc dello studio DELIGHT ha mostrato che il 78% dei partecipanti trattati con dapagliflozin presentava valori aumentati di emoglobina e una significativa riduzione della ferritina. Questo risultato suggerisce un potenziale effetto sul metabolismo del ferro [9].

Lo studio Empire HF ha evidenziato che, nei pazienti non diabetici affetti da insufficienza cardiaca, il trattamento con empagliflozin ha favorito un incremento dell'eritropoietina e una riduzione di epcidina rispetto al placebo dopo 12 settimane [10].

L'analisi post-hoc dello studio CREDENCE evidenzia che il trattamento con canagliflozin, in pazienti con diabete di tipo 2 e malattia renale cronica, è associato a un aumento dell'eritropoiesi in soggetti con funzione renale avanzata [11].

Sono stati proposti diversi meccanismi per tentare di spiegare l'aumento dei valori di EPO durante l'utilizzo di questi farmaci, tra i più citati riportiamo: l'ipotesi della riossigenazione corticale renale indotta da SGLT2i e il fenomeno del riassorbimento contro-regolatorio del sodio a livello distale.

1. L'ipotesi della riossigenazione corticale renale nasce dalle osservazioni di Sano e Goto: l'eccessivo riassorbimento di glucosio impone un eccezionale carico metabolico da parte dei mitocondri per il funzionamento dei trasportatori localizzati a livello dei tubuli renali prossimali, causando ipossia tubulo-interstiziale. Tale condizione sarebbe responsabile della trasformazione dei fibroblasti produttori di eritropoietina in miofibroblasti disfunzionali, i quali generano solo molecole fibrogeniche [12]. Tuttavia, secondo gli autori, l'uso degli SGLT2i allevierebbe le richieste metaboliche, migliorando l'ossigenazione nella corteccia renale e consentendo ai fibroblasti disfunzionali di tornare a un fenotipo capace di sintetizzare eritropoietina.
2. L'ipotesi del riassorbimento contro-regolatorio del sodio a livello distale sostiene che l'azione degli inibitori di SGLT2 nel bloccare il riassorbimento del sodio nel tubulo renale prossimale porta a un aumento della consegna di tale ione alle porzioni più distali del nefrone, dove viene assorbito da meccanismi contro-regolatori (per limitare l'entità della natriuresi) a fronte di un maggiore consumo di ossigeno, predisponendo così all'ipossia tissutale [13]. Quest'ultima condizione determinerebbe un aumento dei livelli di mRNA di eritropoietina, come osservato su modelli animali diabetici con ridotta tensione di ossigeno nella corteccia profonda dopo inibizione acuta e cronica di SGLT2i.

Tuttavia, le prove disponibili non forniscono un supporto univoco per entrambe le ipotesi, inoltre gli inibitori SGLT2 producono una modesta risposta eritrocitaria anche in pazienti affetti da malattia renale cronica avanzata. Questa osservazione solleva la possibilità che sia il fegato a contribuire alla produzione di eritropoietina durante l'uso di questi farmaci [14].

Interazione tra SGLT2i e HIF-2 α : il ruolo di SIRT1

Studi su modelli animali diabetici suggeriscono un ruolo degli inibitori SGLT2 nell'attenuare l'attività di HIF-1 α e stimolare HIF-2 α , contribuendo così a ridurre infiammazione e fibrosi, favorendo al contempo l'eritropoiesi. Come SIRT1 sia in grado di attivare direttamente HIF-2 α è tuttora oggetto di indagine. Recenti lavori hanno dimostrato che l'attivazione del fattore inducibile all'ipossia (HIF) è dovuta alla deacetilazione di alcuni residui di lisina da parte della sirtuina stessa. A livello epatico, la deacetilazione di PGC-1 α attiva anche il fattore di trascrizione HNF4. Quest'ultimo, legandosi alla regione N-TAD del complesso HIF-2 α /HIF- β /p300/CBP, facilita il riconoscimento da parte della RNA polimerasi delle sequenze HERs, promuovendo così la sintesi epatica di EPO [15]. L'attivazione di SIRT1, indotta dagli inibitori SGLT2, potrebbe stimolare la produzione di eritropoietina attivando direttamente HIF-2 α (bypassando così il controllo della prolina idrossilasi) e HNF4 [16]. Con l'attivazione di HIF-2 α , oltre la sintesi di EPO, viene modulata anche la trascrizione delle proteine regolatrici del ferro (IRP) che contribuiscono ad alleviare la carenza marziale (Figura 2 b). Sebbene le tecniche di biologia molecolare forniscano maggiori prove sulla capacità degli inibitori SGLT2 di sovra-regolare HIF-2 α nel cuore, reni e fegato, sono necessari ulteriori studi per confermare o confutare queste ipotesi [17].

Infiammazione

L'infiammazione è la principale risposta immunitaria che contribuisce a mantenere i tessuti sani promuovendo la guarigione in caso di infezione o lesione. Tuttavia, la sua persistenza contribuisce allo sviluppo e all'evoluzione di patologie nuove o già esistenti. Studi in vitro hanno dimostrato che

la sovraespressione di SIRT1 in tessuti renali contribuirebbe ad alleviare infiammazione, stress ossidativo e fibrosi, ritardando la progressione della malattia renale cronica [18].

Il lavoro di Deng e collaboratori mostra che i topi knockout SIRT1, hanno una maggiore probabilità d'insorgenza di danno renale acuto da sepsi rispetto ai topi wild type trattati con SGLT2i [19].

L'attivazione di Beclin1 stimola l'autofagia, processo essenziale per il mantenimento dell'omeostasi energetica, cellulare e sopravvivenza dei tessuti, caratterizzato dalla rimozione di elementi tossici i quali, accumulandosi, sono fonte di stress ossidativo, infiammazione persistente e apoptosi (Figura 2c). Diversi lavori riportano che SIRT1 è direttamente responsabile della downregulation dell'attività NLRP3 (NLR family pyrin domain containing 3) attenuando la risposta infiammatoria.

Secondo Gao e Zhu, tale meccanismo potrebbe rappresentare una valida strategia terapeutica per prevenire o attenuare l'AKI indotta da sepsi [20].

Dati su modelli animali evidenziano che SIRT1 influenza la risposta infiammatoria modulando l'equilibrio tra le cellule Th1 (T helper 1) proinfiammatorie e le cellule Treg Foxp3(+) (forkhead box protein 3) anti-infiammatorie. Il knockout SIRT1 è associato a una maggiore espressione di Th1, con una amplificazione eccessiva del fenomeno infiammatorio in presenza di microbi (Figura 2 d).

Yang e collaboratori hanno dimostrato per la prima volta che SIRT1 attenua la sintesi di alcune citochine infiammatorie quali IL-1 β e TNF α attraverso la via NF- κ B (Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) [21].

La fosforilazione della subunità p65 sul residuo Lys 310 da parte della Sirtuina1 determina la disattivazione del complesso proteico NF- κ B con interruzione a valle della cascata infiammatoria (Figura 2 e) [22].

Per molti autori, questo meccanismo potrebbe avere numerose applicazioni terapeutiche; per esempio, i risultati di uno studio coreano di Jung e collaboratori suggeriscono che la fosforilazione della p65 è un possibile bersaglio terapeutico da parte degli SGLT2i per attenuare la nefrotossicità da cisplatino in pazienti oncologici [23].

Huang et al. suggeriscono che la dapagliflozin riduca la nefropatia acuta da mezzo di contrasto (CIN) nei topi, tramite la *downregulation* di NF- κ B e HIF-1 α [24].

Interazione tra SGLT2i e HIF-1 α

I dati di Chen e collaboratori ipotizzano che ci sia una correlazione inversa tra aumento della concentrazione di SIRT1 e riduzione di HIF-1 α . La riduzione di quest'ultima attenuerebbe la via TGF- β /p-Smad3 responsabile della sintesi di proteine fibrotiche quali fibronectina, COL1A2 e α -SMA, coinvolte nell'insorgenza ed evoluzione della fibrosi tubulointerstiziale (Figura 2f) [25].

In linea con questi esperimenti, diversi lavori hanno evidenziato che gli SGLT2i, attivando SIRT1, inducono una riduzione dell'espressione di HIF-1 α nelle cellule epiteliali tubulari prossimali di modelli murini diabetici. Infine Besho ha trattato topi diabetici maschi con luseogliflozin per 8-16 settimane, osservando una riduzione dell'HIF-1 α tubulare corticale, una diminuzione delle proteine fibrotiche e un aumento dell'attività della proteina chinasi AMPK [26].

Complesso AMPK

Il complesso AMPK (proteina chinasi attivata dall'adenosina monofosfato) è un complesso proteico composto da tre subunità: α (la subunità catalitica), responsabile dell'attività enzimatica, β (la subunità scaffolding), che aiuta a mantenere la struttura del complesso e γ (la subunità regolatoria), che monitora l'equilibrio tra i livelli citosolici di ATP e AMP. La riduzione dei livelli di glucosio indotta

dagli SGLT2i determina un aumento del rapporto AMP/ATP, condizione ideale per l'attivazione di tale proteina chinasi, con lo scopo di promuovere processi catabolici per ripristinare i livelli di ATP [27].

È stato proposto che AMPK promuova upregulation di SIRT1, la quale, attraverso la deacetilazione PGC-1 α , porta all'attivazione di specifici fattori di trascrizione quali FOXO1 (Forkhead box protein O1) implicato nella gluconeogenesi epatica e glicogenolisi e FOXO3a (Forkhead box protein O3a), che regola la biogenesi mitocondriale per rigenerare ATP (Figura 3a) [28].

Studi recenti evidenziano che AMPK controlla la via dell'eliminazione selettiva di mitocondri disfunzionali attraverso l'attivazione di due proteine chiave, quali la DRP1 (Dynamin-related protein 1), che stimola la fissione ovvero la suddivisione dei mitocondri in organelli più piccoli, per poter essere successivamente eliminati (mitofagia) per opera della proteina ULK1 (Unc-51 like autophagy activating kinase 1) (Figura 3b) [29].

Dunque, AMPK rimuove i mitocondri danneggiati, mentre SIRT1 stimola la biogenesi mitocondriale, entrambe le molecole assicurano un controllo di qualità delle centrali energetiche cellulari, garantendo vitalità ai vari organi energivori come cuore e rene [30].

AMPK, come SIRT1, attenua la risposta infiammatoria condividendo la pathway di NF- κ B. Il knockout di AMPK ha determinato la sovra-regolazione di TNF α e IL-6 a causa della mancata fosforilazione della proteina p65 sul residuo Ser276 del complesso proteico NF- κ B (Figura 3c) [31].

In generale, questi risultati fanno intravedere per la prima volta una visione conciliante di differenti vie metaboliche stimulate dai SGLT2i, dovute alle attività di AMPK e SIRT1, sensori molecolari, noti da tempo ma mai collegati [32].

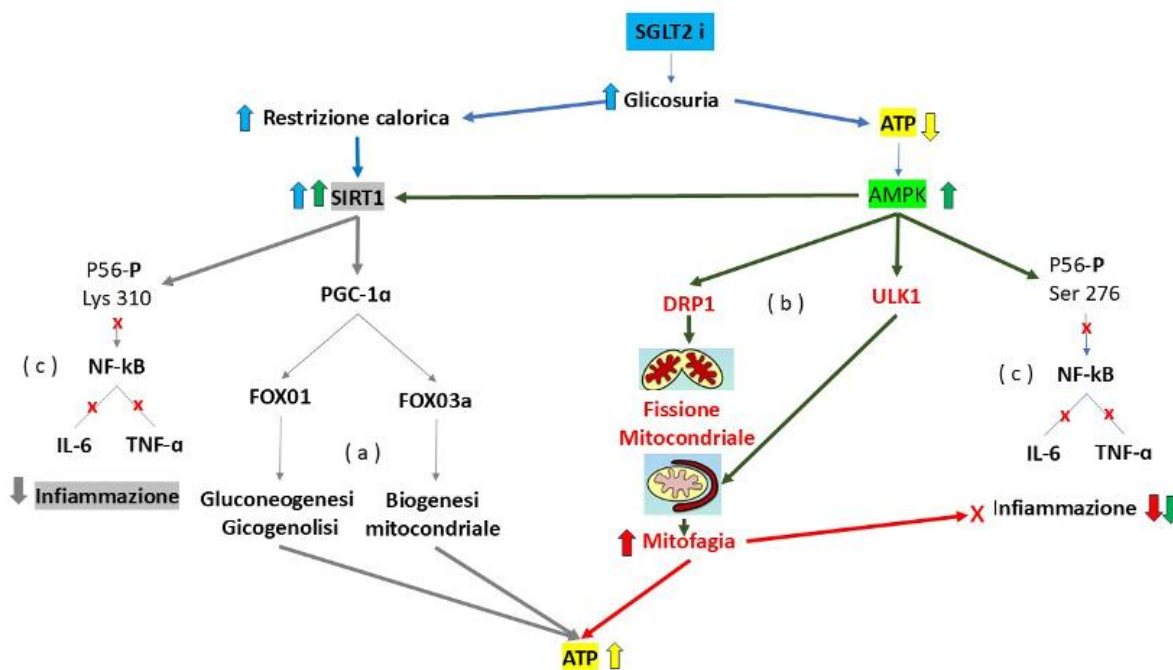


Figura 3. Differenti vie metaboliche attivate dagli SGLT2i, con effetti comuni sulla riduzione dell'infiammazione e sul ripristino dei livelli di ATP. La fosforilazione della subunità p65 sul residuo Lys 310 e Ser 276 da parte di SIRT1 e AMPK determina l'inibizione del complesso proteico NF- κ B. Il pathway PGC-1 α e la stimolazione della mitofagia aiutano a ripristinare i livelli di ATP e a contribuire ulteriormente a ridurre l'infiammazione. Si veda il testo per maggiori dettagli.

Complesso Akt /mTORC1

La proteina chinasi serina/treonina mTOR (mammalian Target of Rapamycin Complex), attivata in condizioni di eccesso nutrizionale, promuove la crescita e la proliferazione cellulare. La sua attività catalitica è posizionata tra due complessi proteici distinti noti come complesso 1 (mTORC1) e complesso 2 (mTORC2) con funzioni differenti. La Akt (proteina chinasi B) potenzia l'attivazione di entrambi i complessi mTORC, ma viene inibita dalla rapamicina [33].

La segnalazione Akt/mTORC1 influenza centinaia di geni necessari per promuovere le vie anaboliche, stimolando l'attività mitocondriale, la replicazione cellulare, l'immunità innata potenziando le vie proinfiammatorie con rilascio di specie reattive dell'ossigeno (Figura 4 a). Studi su modelli murini hanno mostrato che l'espressione di mTORC1 è essenziale per la replicazione dei cardiomiociti durante lo sviluppo fetale. Topi omozigoti mTORC1(-/-) mostrano un fenotipo caratterizzato da grave cardiopatia rispetto ai topi mTORC1(+/-) [34].

Evidenze sperimentali dimostrano che l'inattivazione del complesso mTORC1 in topi adulti determina l'insorgenza di una cardiomiopatia dilatativa severa, frequentemente con esito letale [35].

Tuttavia, numerosi studi sperimentali su modelli animali hanno documentato che anche una eccessiva stimolazione è causa di insufficienza cardiaca. Non solo, in ambito clinico i risultati dello studio di Yano e collaboratori su campioni biopsici endomiocardici di pazienti con cardiomiopatia dilatativa mostrano un'attivazione miocardica aberrante di mTORC1, la cui intensità è associata alla gravità della fibrosi cardiaca con prognosi sfavorevole [36].

Inoltre è stato documentato che l'aumento dell'espressione di Akt nel miocardio umano sarebbe responsabile della transizione dall'ipertrofia ventricolare sinistra ben compensata all'insufficienza cardiaca scompensata [37]. Questa apparente contraddizione evidenzia la complessità del ruolo di mTORC1: proteina con una omeostasi finemente regolata. Sia l'iperattivazione che la delezione possono contribuire all'insorgenza e alla progressione della malattia, mentre la soppressione della segnalazione della via Akt/mTORC1 in determinati contesti migliora lo sviluppo della cardiomiopatia [38].

Sono disponibili numerosi lavori che documentano come l'eccessiva attività di Akt/mTORC1, in condizioni di sovraccarico nutrizionale, possa favorire infiammazione e fibrosi contribuendo così allo sviluppo ed evoluzione anche nella malattia renale cronica. In conclusione, mTORC1 potrebbe essere un biomarcatore per rivelare l'attività della malattia e prevedere la prognosi del paziente [39].

Pertanto le vie SIRT1/AMPK e Akt/mTORC1 sembrano essere strettamente interconnesse a livello molecolare. Quando i nutrienti sono abbondanti, prevale la segnalazione mTORC1 per favorire la crescita e replicazione cellulare. Al contrario, quando i nutrienti sono esauriti, avviene il silenziamento delle vie anaboliche per preservare l'integrità strutturale e funzionale delle cellule esistenti; SIRT1 e AMPK sono fondamentali per questa risposta (Figura 4 b) [40].

Recenti lavori evidenziano che lo stato di deprivazione nutrizionale indotta dai SGLT2i sia responsabile di una inibizione diretta di Akt, mentre AMPK e SIRT1 attivati contribuiscono alla inibizione selettiva di mTORC1 (Figura 3c) [41].

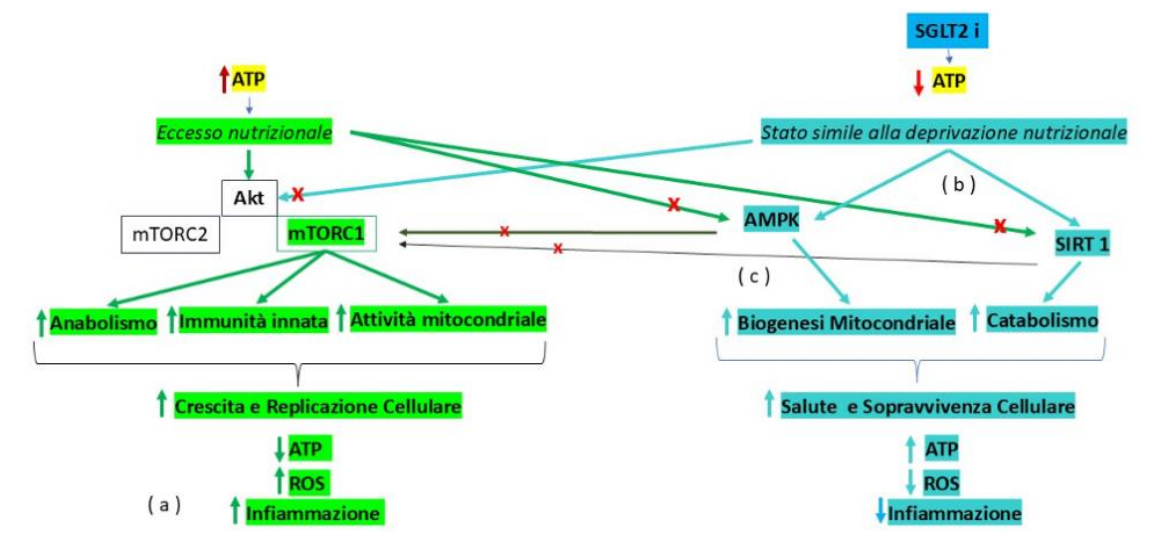


Figura 4. Confronto dei principali pathway in risposta a stati di deprivazione e di eccesso nutrizionale, con effetti opposti. Attualmente, i dettagli molecolari dell'inibizione diretta del complesso mTORC1 da parte di AMPK e della proteina SIRT1 non sono ancora noti. Si veda il testo per maggiori dettagli.

Attenuazione della segnalazione SIRT1/AMPK nella malattia renale cronica secondaria a diabete mellito II

Il ruolo di SIRT1 nel prevenire la podocitopatia

La sindrome metabolica e il diabete mellito di tipo II sono condizioni in cui l'organismo percepisce un eccesso di nutrienti. Questo squilibrio metabolico è caratterizzato da una sovra-regolazione della via Akt/mTORC1 e riduzione del pathway SIRT1/AMPK (Figura 5 a) [42].

Studi sperimentali hanno evidenziato che l'attivazione persistente della via Akt/mTORC1 in cellule renali di topi diabetici obesi, indotta da una dieta ipercalorica, è significativamente associata a infiammazione, podocitopatia, proteinuria e danno renale [43].

Tuttavia, con l'inibizione farmacologica di mTORC1 da rapamicina, si osserva un aumento della densità degli autofagosomi, riduzione di stress ossidativo e apoptosi [44].

Nello specifico, è stato osservato che il blocco del pathway Akt/mTORC1 podocitaria, su colture cellulari animali e umane, per opera degli SGLT2i, è associato a un aumento dell'attività SIRT1 e AMPK, con benefici relativi agli outcome renali [45]. Recentemente è stato documentato che l'insulina riduce direttamente l'attività di SIRT1 interagendo con una sequenza specifica nella regione N terminale della sirtuina (Figura 5 b) [46].

Successivi studi su modelli animali hanno evidenziato che l'induzione sperimentale di SIRT1 e di PGC-1 α nei podociti riduce significativamente l'albuminuria [47]. Il lavoro di Chuang su topi geneticamente modificati con silenziamento inducibile e reversibile di SIRT1 ha mostrato che la sua delezione aggrava il danno podocitario, mentre la sua espressione riduce significativamente l'accumulo di mitocondri dismorfici nei podociti contribuendo così all'integrità strutturale del loro citoscheletro [48].

Dugan ha osservato una significativa riduzione dell'espressione della proteina AMPK sia su colture cellulari di topi diabetici che su vetrini istologici di tessuto renale di pazienti affetti da nefropatia diabetica [49]. Lim e collaboratori ipotizzano che la riduzione della proteinuria, osservata in topi trattati con cinacalcet, potrebbe essere dovuta all'azione del calciomimetico, in grado di attivare selettivamente la proteina AMPK podocitaria [50].

La riduzione delle attività SIRT1/AMPK nei podociti innesca una serie di eventi deleteri per la cellula, dovuti alla ridotta densità degli autofagosomi, responsabili della progressiva scomparsa dei pedicelli (Figura 5 c) [51].

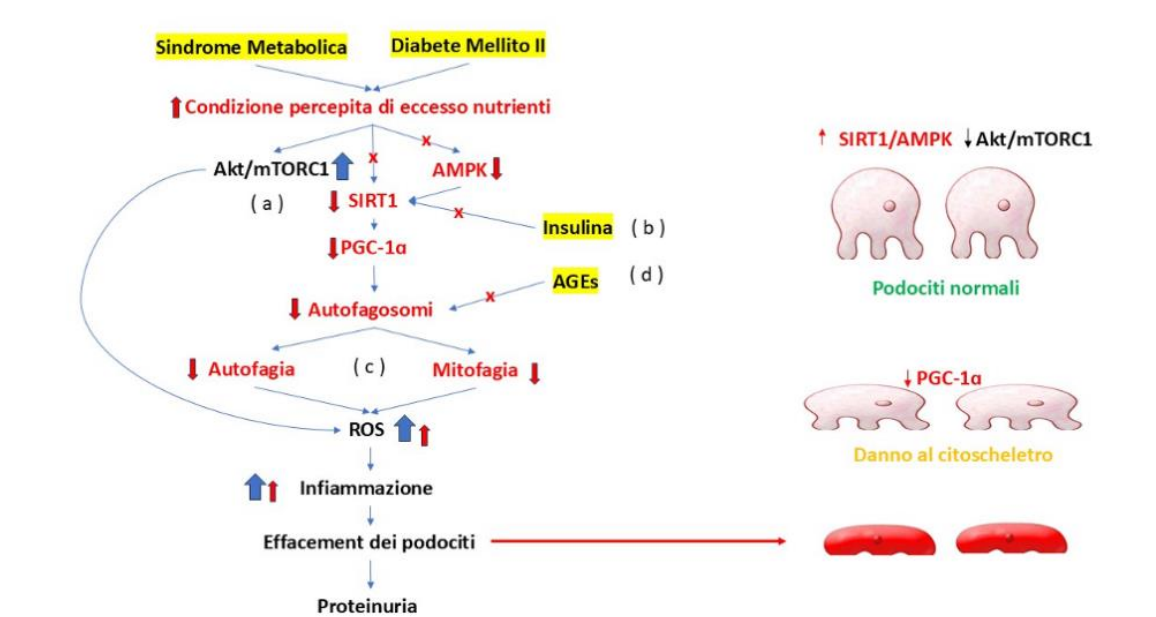


Figura 5. L'attenuazione multifattoriale (evidenziata in giallo) della via SIRT1/AMPK sarebbe responsabile della riduzione della densità degli autofagosomi, con un conseguente aumento dei processi infiammatori che causerebbero un'alterazione strutturale del citoscheletro dei podociti. Si veda il testo per maggiori dettagli.

Il ruolo degli SGLT2i nella podocitopatia AGEs-correlata

Recenti studi epidemiologici hanno evidenziato come, nella nefropatia diabetica, l'attività autofagica venga ulteriormente attenuata dai prodotti finali della glicazione avanzata (AGEs), compromettendo in modo irreversibile la degradazione del contenuto degli autofagosomi [52].

Pertanto, l'accumulo citoplasmatico di molecole parzialmente digerite, può innescare e amplificare complessi fenomeni citotossici che culminano in apoptosi (Figura 5 d) [53].

Gli AGEs vengono principalmente endocitati dai tubuli prossimali renali e, nel tentativo di essere degradati dai lisosomi, quest'ultimi vanno incontro a disfunzione enzimatica. Recentemente sono stati quantificati, attraverso tecniche analitiche (immunofissazione, cromatografia e spettrometria di massa), anche all'interno di altri distretti cellulari [54].

Nuove ricerche hanno evidenziato il ruolo cruciale della disfunzione lisosomiale AGEs-correlata responsabile del fenomeno dell'effacement dei podociti, una condizione che altera la barriera di filtrazione glomerulare favorendo l'insorgenza di glomerulosclerosi e proteinuria [55].

Liu e collaboratori, su modelli animali, sono riusciti a inibire la formazione degli AGEs con la piridossamina, osservando la riattivazione dell'autofagia e della mitofagia [56].

Alla luce di tali dati, gli autofagosomi iniziano a essere considerati come marcatori: un aumento della loro densità nei podociti presagisce un ridotto rischio di progressione di malattia renale in soggetti diabetici, mentre una diminuzione della loro concentrazione è considerata un fattore prognostico negativo soprattutto in casi di trapianto renale [57].

Hob e Chen sono convinti che l'attenuazione farmacologica della disfunzione autofagica possa rappresentare una nuova valida terapia per prevenire il danno podocitario e ridurre la proteinuria nella nefropatia diabetica [58].

Numerose pubblicazioni convergono sul ruolo che la regolazione positiva dei sensori molecolari SIRT1/AMPK da parte degli SGLT2i rappresenta una valida strategia terapeutica per rallentare la progressione del danno renale. Contemporaneamente, sarebbe cruciale identificare nuovi approcci farmacologici utili a rimuovere gli AGEs, potenziando così il turnover cellulare e mitocondriale.

Disfunzione della segnalazione dei sensori di bassa energia nel tessuto cardiaco

Effetti cardioprotettivi degli SGLT2i durante la fase ischemica

Numerosi studi evidenziano il ruolo cruciale della sovraregolazione della proteina SIRT1 nel recupero funzionale cardiaco dopo un evento ischemico seguito da riperfusione (I/R). Tuttavia, i dettagli molecolari dei benefici di SIRT1 nell'attenuare il danno da I/R non sono ancora completamente chiariti. La maggior parte dei lavori ha associato alla sirtuina la proprietà di modulare diversi processi patofisiologici, come lo stress ossidativo, l'infiammazione, l'apoptosi e l'autofagia, attraverso l'interazione con specifici fattori di trascrizione (Figura 6) [59].

In un modello sperimentale di I/R, topi knockout SIRT1 hanno evidenziato un aumento significativo della concentrazione di radicali liberi dell'ossigeno (ROS), correlato a un maggior danno cellulare a livello cardiaco. Al contrario, la sovraespressione di SIRT1 ha esercitato un effetto protettivo, riducendo la tossicità da ROS attraverso l'attivazione del fattore di trascrizione FoxO1 con aumento della sopravvivenza dei cardiomiociti (Figura 6 a) [60].

Zhoo e collaboratori hanno evidenziato che l'upregulation di SIRT1, mediante vettori adenovirali su cardiomiociti isolati, determina l'attivazione di Nrf2 (Nuclear factor erythroid 2-related factor 2) che promuove la sintesi di proteine antiossidanti contribuendo così alla riduzione della concentrazione di ROS (Figura 6 a) [61].

Come già discusso in precedenza, il ruolo di SIRT1 nell'attenuare l'infiammazione riducendo l'espressione di fattori pro-infiammatori quali IL-6, TNF- α e IL-1 β nei cardiomiociti, attraverso l'inibizione delle vie NLRP3 e NF- κ B è stato ampiamente documentato con tecniche di Western Blotting e Immunoistochimica su colture cellulari di modelli murini (Figura 6 b) [62].

Durante il fenomeno di I/R miocardica, si verifica un eccessivo accumulo di ferro con rilascio di radicali liberi stimolando la ferroptosi, una forma letale di morte cellulare, che contribuisce allo sviluppo di malattie cardiovascolari. La sovraespressione di SIRT1 è riuscita a mitigare questi effetti deleteri, aumentando la sopravvivenza dei cardiomiociti con riduzione del danno tissutale in vitro [63].

SIRT1, inibendo l'attività trascrizionale di p53, contrasta l'apoptosi e promuove la sopravvivenza dei cardiomiociti in condizioni di carenza di nutrienti [64].

Contemporaneamente, l'up-regulation di PGC-1 α da parte della Sirtuina1 determina l'inibizione dell'espressione di Bax (proteina pro-apoptotica) e l'attivazione della Bcl-2 (proteina anti apoptotica), proteggendo ulteriormente i cardiomiociti dall'infortunio (Figura 6 c) [65].

Gli effetti cardioprotettivi da SIRT1 sono ulteriormente amplificati dalla proprietà di modulare l'autofagia, processo adattativo e compensativo di pulizia cellulare che garantisce l'omeostasi cellulare ed energetica attraverso la rimozione di aggregati proteici disfunzionali accumulatisi per inibizione del sistema ubiquitina-proteasoma dovuta dall'ischemia (Figura 6 d) [66].

Sybers e collaboratori, tramite microscopia elettronica, hanno osservato la formazione di vacuoli autofagici contenenti organelli disfunzionali in cellule miocardiche di ratto dopo un evento ischemico [67].

Le osservazioni di Decker su cuori di coniglio dopo 20 minuti da un insulto ischemico, hanno evidenziato che l'aumento di densità delle vescicole autofagiche sarebbe correlato direttamente a una riduzione di fenomeni necrotici [68].

Yan e collaboratori hanno notato che i marcatori di autofagia cardiaca in modelli murini non solo aumentano dopo evento di ischemico, ma presentano addirittura un'esacerbazione durante la fase di riperfusione [69].

Si ipotizza che l'autofagia potenziata svolgerebbe un ruolo essenziale per la protezione e sopravvivenza delle cellule cardiache durante un insulto I/R. Al contrario, le ricerche di Levine suggeriscono però che il fenomeno dell'autofagia sostenuta, che si verifica durante la riperfusione dopo un evento ischemico, può risultare addirittura deleterio per la sopravvivenza stessa dell'organo [70].

Sembra che l'autofagia assuma un ruolo duale nell'I/R miocardica. Durante la fase ischemica, l'attivazione autofagica rimuove i rifiuti metabolici in eccesso, organelli disfunzionali e ROS per garantire sopravvivenza dei cardiomiociti (Figura 6 d), mentre l'autofagia sostenuta durante la riperfusione causerebbe l'esaurimento delle componenti intracellulari fino a morte cellulare (Figura 6 e) [71].

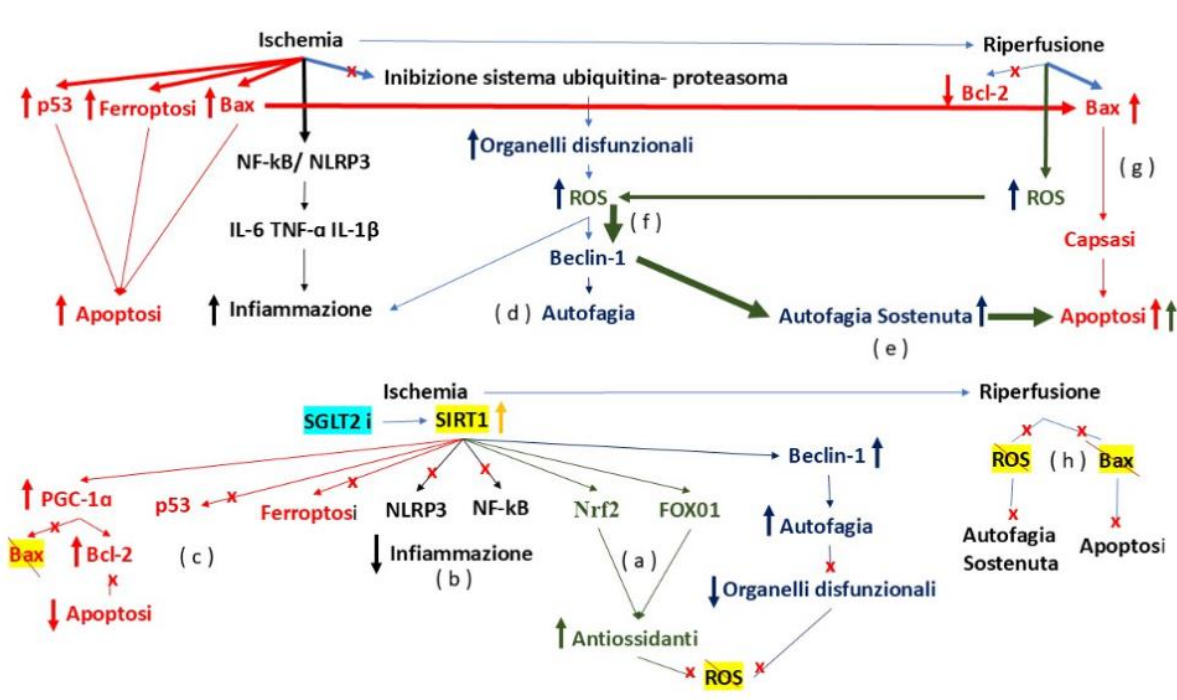


Figura 6. Danno da Ischemia/Riperfusione. Nella parte superiore del grafico è rappresentato il ruolo di Bax e delle specie reattive dell'ossigeno (ROS). Le loro concentrazioni, che aumentano nella fase ischemica, sono poi responsabili dell'autofagia sostenuta e dell'intensa attività apoptotica durante la riperfusione. Nella parte inferiore, invece, l'uso degli SGLT2i contribuisce a prevenire il danno da riperfusione riducendo significativamente Bax e ROS e aumentando l'espressione di Bcl-2. Si veda il testo per maggiori dettagli.

Effetti cardioprotettivi degli SGLT2i durante la riperfusione

Mokhtari e collaboratori ritengono che l'elevata concentrazione di ROS possa essere responsabile del processo autofagico potenziato [72].

I ROS possono indurre l'up-regulation di Beclin-1 (già attiva) nei cardiomiociti durante la fase di riperfusione (Figura 6 f). Diversi studi hanno mostrato che l'autofagia indotta da ROS-Beclin-1 durante la riperfusione è di tipo eccessivo. Nella fase iniziale dell'ischemia, l'attivazione di Beclin-1 è necessaria per l'inizio dell'autofagia, ma un'elevazione sostenuta di Beclin-1 durante la fase di

riperfusion porta a un'iperattivazione del processo autofagico. Il knockdown di Beclin-1 nelle cellule miocardiche ha inibito significativamente tale processo durante la riperfusione, promuovendo la sopravvivenza cellulare [73]. Oltre alla via ROS-Beclin-1, la riperfusione può amplificare il fenomeno dell'apoptosi, alterando l'equilibrio tra Bcl-2 e Bax, favorendo quest'ultima, innescando così il rilascio di fattori che attivano le caspasi (Figura 6g) [74]. Pertanto, l'uso degli SGLT2i durante l'intero periodo ischemico determina una riduzione delle concentrazioni di Bax e ROS, impedendo l'attivazione di apoptosi e autofagia prolungata durante la fase di riperfusione salvaguardando la salute e sopravvivenza dei cardiomiociti (Figura 6h) [75].

Effetti cardioprotettivi degli SGLT2i nello scompenso cardiaco cronico

Un cuore che va incontro a scompenso è spesso visto come carente di energia, ma lo stato metabolico del miocardio nell'insufficienza cardiaca è complesso. Il cuore sano genera ATP, ma durante lo scompenso l'assunzione di acidi grassi e glucosio nei cardiomiociti è mantenuta, tuttavia il consumo di entrambi da parte dei mitocondri disfunzionali è ridotto. Di conseguenza, lipidi e intermedi del glucosio si accumuleranno nel citoplasma, segnalando la presenza di un eccesso di nutrienti intracellulari, con attivazione della via Akt/mTOR e attenuazione della via α 2-AMPK (isoforma cardiaca di AMPK) /SIRT1 (Figura 7) [76].

In ambito clinico, è stata documentata la ridotta attività di SIRT1 e PGC-1 α , non solo sui leucociti periferici di pazienti affetti da cardiopatia ischemica e dilatativa idiopatica, ma anche su campioni istologici di cuori di pazienti deceduti per le medesime patologie [77].

Inoltre, Wang ha individuato mutazioni puntiformi di PGC-1 α in alcuni soggetti affetti da cardiopatia [78]. La downregulation dei sensori molecolari della privazione nutrizionale e la costante attivazione della via di abbondanza di nutrienti sono responsabili della ridotta densità degli autofagosomi e di elevate concentrazioni di ROS. Per molti, l'assenza di vacuoli autofagici nel cuore umano rappresenta un indicatore di prognosi sfavorevole [79]. Prove sperimentali su modelli animali, indipendentemente dallo stato diabetico, dimostrano che gli interventi atti a promuovere la segnalazione di AMPK2 α /SIRT1 sono efficaci nel contrastare lo stress ossidativo, l'infiammazione, la fibrosi e di conseguenza ridurre il rischio sviluppo di cardiomiopatie [80].

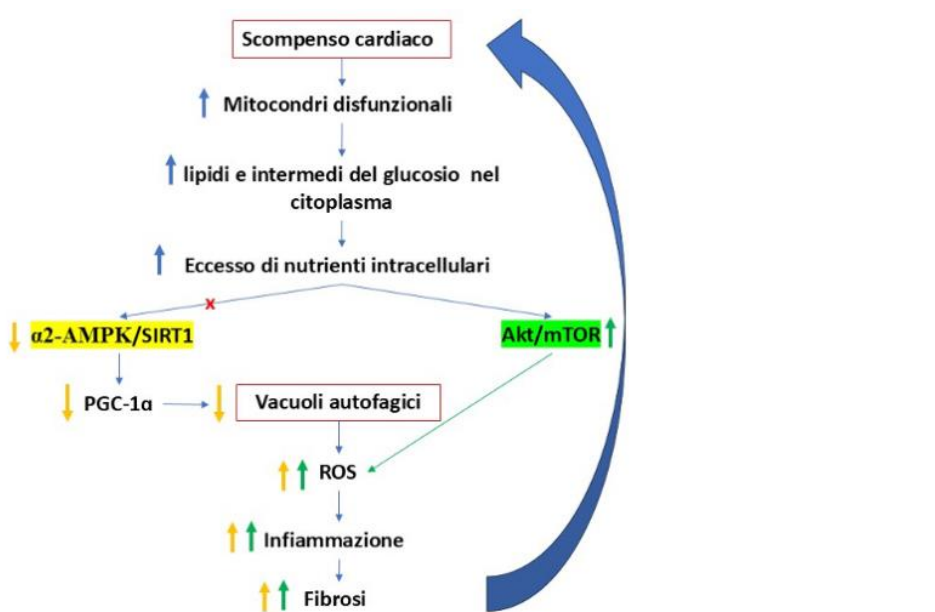


Figura 7. La riduzione della densità dei vacuoli autofagici nel cuore umano, indipendentemente dallo stato diabetico, è interpretata come un fattore prognostico negativo relativo all'evoluzione dello scompenso cardiaco. α 2-AMPK isoforma cardiaca del complesso AMPK. Si veda il testo per maggiori dettagli.

Sintesi e conclusioni

Gli studi sperimentali e clinici precedentemente esposti dimostrano che gli SGLT2i inducono un peculiare profilo di effetti cardio- e reno-protettivi non spiegabili solamente con la glicosuria. Essa stessa, infatti, funge da stimolo per azioni cellulari e molecolari volte a preservare la salute di tutti gli organi e tessuti a prescindere dall'espressione di SGLT2. La stimolazione coordinata di SIRT1/AMPK/HIF-2 α esercita effetti diretti sull'efficienza del metabolismo energetico, eritrocitosi, prevenzione della podocitopatia e infiammazione tubulointerstiziale. La segnalazione SIRT1/2 α -AMPK è cruciale nell'attenuare la disfunzione e la morte dei cardiomiociti dopo un evento ischemico seguito da ri-perfusione. Il silenziamento della via Akt/mTORC1 contribuisce inoltre a rallentare l'evoluzione della insufficienza cardiaca e renale (Tabella 3).

Non solo SIRT1: anche altre sirtuine vengono attivate, esplicando effetti tessuto-specifici che sono attualmente oggetto di approfondita ricerca. Ulteriori approfondimenti sperimentali, integrati da osservazioni cliniche, sono indispensabili per decifrare le complesse interazioni molecolari e le risposte cellulari indotte da questa classe di farmaci, aprendo nuove prospettive per strategie terapeutiche mirate alla prevenzione e al trattamento delle patologie cardiorenali indipendentemente dallo stato diabetico.

Upregulation	Downregulation
SIRT 1-7 ↑ Omeostati cellulare, integrità strutturale e funzionale degli organi	NLRP3, L-1β e TNF α, NF-κB, ↓ Stress ossidativo, infiammazione, apoptosi
SIRT1, PGC-1α. ↑ Glicogenolisi, gluconeogenesi, biogenesi mitocondriale	HIF-1α ↓ Fibrosi tubulointerstiziale
HIF-2α, HNF4 ↑ Eritropoiesi, ↑IRP	Akt/mTORC1 ↓ Proteinuria ↓ Cardiomiopatia dilatativa, ipertrofia ventricolare
AMPK ↑ Integrità strutturale dei podociti ↑ Preservare la funzione renale	Bax, P53, ROS ↓ Ferroptosi, stress ossidativo ↑ Cardioprotezione da ischemia
2α- AMPK ↑ Preservare la funzione cardiaca	ROS, Bax, Capsasi ↑ Cardioprotezione da ri-perfusione

Tabella 3. Le molteplici strade della nefro- e cardioprotezione. Gli SGLT2i, tramite l'attivazione o la soppressione di specifici pathway molecolari, offrono molteplici benefici interconnessi: dal ripristino della salute cellulare e tissutale alla riduzione dell'infiammazione, contribuendo così a proteggere organi vitali come cuore e reni. Si veda il testo per i dettagli.

BIBLIOGRAFIA

1. Packer M. Critical reanalysis of the mechanisms underlying the cardiorenal benefits of SGLT2 inhibitors and reaffirmation of the nutrient deprivation signaling/autophagy hypothesis. *Circulation* 2022;146:1383–1405. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.122.061732>.
2. Packer M. Role of deranged energy deprivation signaling in the pathogenesis of cardiac and renal disease in states of perceived nutrient overabundance. *Circulation* 2020;141: 2095–2105. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.119.045561>.
3. Packer M. Cardioprotective effects of sirtuin-1 and its downstream effectors: potential role in mediating the heart failure benefits of SGLT2 (sodium–glucose cotransporter 2) inhibitors. *Circ Heart Fail* 2020;13:e007197. <https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.120.007197>.
4. North, B. J. & Verdin, E. Sirtuins: Sir2-related NAD-dependent protein deacetylases. *Genome Biol.* 5, 224 (2004). <https://doi.org/10.1186/gb-2004-5-5-224>.
5. Frye, R. A. Phylogenetic classification of prokaryotic and eukaryotic Sir2-like proteins. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 273, 793–798 (2000). <https://doi.org/10.1006/bbrc.2000.3000>.
6. QJ Wu, TN Zhang, HH Chen, XF Yu, JL Lv, YY Liu, X Zhang, C Liu, YH Zhao. The sirtuin family in health and disease. *Signal Transduction and Targeted Therapy* (2022) 7:402 <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01257-8>.
7. Bor Luen Tang. Sirt1 and the Mitochondria. *Cells* 2016; 39(2): 87–95. <http://dx.doi.org/10.14348/molcells.2016.2318>.
8. Mazer CD, Hare GMT, Connelly PW, et al. Effect of empagliflozin on erythropoietin levels, iron stores, and red blood cell morphology in patients with type 2 diabetes mellitus and coronary artery disease. *Circulation*. 2020;141:704–707. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.119.044235>.
9. A Koshino, L. Neuen, N Jongs, C Pollock, et al. Effects of dapagliflozin and dapagliflozin saxagliptin on erythropoiesis, iron and inflammation markers in patients with type 2 diabetes and chronic kidney disease: data from the DELIGHT trial. *Cardiovascular Diabetology* (2023) 22:330. <https://doi.org/10.1186/s12933-023-02027-8>.
10. C Andersen, M Omar, A Glenthø, DFassi, Jørgen Kurtzhals, B Styris have, C Kistorp, Christian Tux, M Schou, J Jensen. Effects of empagliflozin on erythropoiesis in heart failure: data from the Empire HF trial. *European Journal of Heart Failure* (2023) 25, 226–234
- RESEARCH ARTICLE. <https://doi.org/10.1002/ejhf.2735>.
11. M Oshima, B Neuen, M J Jardine, G Bakris, et al. Effects of canagliflozin on anaemia in patients with type 2 diabetes and chronic kidney disease: a post-hoc analysis from the CREDENCE trial. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2020 Nov;8(11):903-914. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(20\)30300-4](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(20)30300-4).
12. Sano M, Goto S. Possible mechanism of hematocrit elevation by sodium glucose co transporter 2 inhibitors and associated beneficial renal and cardiovascular effects. *Circulation* 2019;139:1985–1987. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.118.038881>.
13. Milton Packer. Mechanisms of enhanced renal and hepatic erythropoietin synthesis by sodium–glucose cotransporter 2 inhibitors. *European Heart Journal* (2023) 44, 5027–5035. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehad235>.
14. Kobayashi H, Davidoff O, Pujari-Palmer S, Drevin M, Haase VH. EPO synthesis induced by HIF-PHD inhibition is dependent on myofibroblast transdifferentiation and colocalizes with non-injured nephron segments in murine kidney fibrosis. *Acta Physiol (Oxf)* 2022;235:e13826. <https://doi.org/10.1111/apha.13826>.
15. Mazza, A Ciciarelli, F Rubino, F Apponi, EA Cioffi, R Simonelli. HIF- α : il nuovo target per il trattamento dell'anemia nella MRC. *Aspetti molecolari della via di attivazione sequenze HREs.* *G. Ital Nefrol* 2024 – ISSN 1724-5990 ©2024 Società Italiana di Nefrologia – Anno 41 Volume 3. <https://doi.org/10.69097/41-03-2024-03>.
16. Nicolas G, Chauvet C, Viatte L, et al. The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *J Clin Invest.* 2002; 110:1037–1044. <https://doi.org/10.1172/JCI15686>
17. Yang Z, Li T, Xian J, Chen J, Huang Y, Zhang Q, et al. SGLT2 inhibitor dapagliflozin at tenuates cardiac fibrosis and inflammation by reverting the HIF-2 α signaling pathway in arrhythmogenic cardiomyopathy. *FASEB J* 2022;36:e22410. <https://doi.org/10.1096/fj.202200243R>
18. Kärkkäinen O, Tuomainen T, Mutikainen M, Lehtonen M, Ruas JL, Hanhineva K, Tavi P. Heart specific PGC-1 α deletion identifies metabolome of cardiac restricted metabolic heart failure. *Cardiovasc Res.* 2019;115:107–118. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvy155>.
19. Deng Z, Sun M, Wu J, Fang H, Cai S, An S, et al. SIRT1 attenuates sepsis induced acute kidney injury via Beclin1 deacetylation-mediated autophagy activation. *Cell Death Dis* (2021)

- 12(2):217. <https://doi.org/10.1038/s41419-021-03508-y>.
20. Q Gao, H Zhu. The Overexpression of Sirtuin1 (SIRT1) Alleviated Lipopolysaccharide (LPS)-Induced Acute Kidney Injury (AKI) via Inhibiting the Activation of Nucleotide-Binding Oligomerization Domain-Like Receptors (NLR) Family Pyrin Domain Containing 3 (NLRP3) Inflammasome. *Med Sci Monit.* 2019 Apr 13;25:2718-2726. <https://doi.org/10.12659/MSM.913146>.
 21. Yang, H. et al. SIRT1 activators suppress inflammatory responses through pro motion of p65 deacetylation and inhibition of NF-kappa B activity. *PLoS One* 7, e46364 (2012). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046364>.
 22. Shen, J. et al. SIRT1 Inhibits the Catabolic Effect of IL-1beta Through TLR2/SIRT1/ NF-kappaB Pathway in Human Degenerative Nucleus Pulposus Cells. *Pain. Phys.* 19, E215–E226 (2016).
 23. Jung, Y. J. et al. SIRT1 overexpression decreases cisplatin-induced acetylation of NF-kappaB p65 subunit and cytotoxicity in renal proximal tubule cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 419, 206–210 (2012). <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2012.01.148>.
 24. X Huang, X Guo, Yan, Y Zhang, Y Yao, Y Qiao, D Wang, G Chen, W Zhang, C Tang, F Cao. Dapagliflozin Attenuates Contrast-induced Acute Kidney Injury by Regulating the HIF-1a/HE4/NF-kB Pathway. *J Cardiovasc Pharmacol* Volume 79, Number 6, June 2022. <https://doi.org/10.1097/fjc.0000000000001268>.
 25. J Wang, X Lv, HY Liu, XG Fan, SJ Zhou, P Yu. Canagliflozin alleviates high glucose-induced peritoneal fibrosis via HIF-1 α *Front. Pharmacol.*, 11 May 2023. Volume 14 – 2023 <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1152611>.
 26. R Bessho, Y Takiyama, T Takiyama, H Kitsunai, T Ota. Hypoxia-inducible factor-1 α is the therapeutic target of the SGLT2 inhibitor for diabetic nephropathy. *Sci Rep* . 2019 Oct 14;9(1):14754. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51343-1>.
 27. Hardie DG. Sensing of energy and nutrients by AMP-activated protein kinase. *Am J Clin Nutr.* 2011;93:891S–8916. <https://doi.org/10.3945/ajcn.110.001925>.
 28. Cantó C, Gerhart-Hines Z, Feige JN, Lagouge M, Noriega L, Milne JC, et al. AMPK regulates energy expenditure by modulating NAD+ metabolism and SIRT1 activity. *Nature* 2009;458:1056–1060. <https://doi.org/10.1038/nature07813>.
 29. Kim J, Kundu M, Viollet B, Guan KL. AMPK and mTOR regulate autophagy through direct phosphorylation of Ulk1. *Nat Cell Biol.* 2011 Feb;13(2):132-41. <https://doi.org/10.1038/ncb2152>.
 30. Tang BL. Sirt1 and the mitochondria. *Mol Cells.* 2016;39:87–95. <https://doi.org/10.14348/molcells.2016.2318>.
 31. Y Li, Y Chen, YY Shi, P Zhou, HY Wang, F Li. An Inhibitor of NF- κ B and an Agonist of AMPK: Network Prediction and Multi-Omics Integration to Derive Signaling Pathways for Acteoside Against Alzheimer's Disease. *Front Cell Dev Biol* 2021 Jul 19;9:652310. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.652310>.
 32. NA Teaney, NE Cyr. FoxO1 as a tissue-specific therapeutic target for type 2 diabetes. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2023 Oct 23;14:1286838. <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1286838>.
 33. Kenneth Maiese. Nicotinamide: Oversight of Metabolic Dysfunction through SIRT1, mTOR, and Clock Genes. *Curr Neurovasc Res.* 2020; 17(5): 765–783. <https://doi.org/10.2174/156720261799920111195232>.
 34. Gangloff YG, Mueller M, Dann SG, et al. Disruption of the mouse mTOR gene leads to early postimplantation lethality and prohibits embryonic stem cell development. *Mol Cell Biol.* 2004;24:9508–9516. <https://doi.org/10.1128/MCB.24.21.9508-9516.2004>.
 35. Zhang D, Contu R, Latronico MV, Zhang J, Rizzi R, Catalucci D, Miyamoto S, Huang K, Ceci M, Gu Y, et al. mTORC1 regulates cardiac function and myocyte survival through 4E-BP1 inhibition in mice. *J Clin Invest.* 2010;120:2805–2816. <https://doi.org/10.1172/JCI43008>.
 36. Yano T, Shimoshige S, Miki T, Tanno M, Mochizuki A, Fujito T, Yuda S, Muranaka A, Ogasawara M, Hashimoto A, et al. Clinical impact of myocardial mTORC1 activation in nonischemic dilated cardiomyopathy. *J Mol Cell Cardiol.* 2016;91:6–9. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2015.12.022>.
 37. Haq S, Choukroun G, Lim H, Tymitz KM, del Monte F, et al. Differential activation of signal transduction pathways in human hearts with hypertrophy versus advanced heart failure. *Circulation.* 2001;103:670–677. <https://doi.org/10.1161/01.cir.103.5.670>.
 38. Sang HQ, Jiang ZM, Zhao QP, Xin F. MicroRNA-133a improves the cardiac function and fibrosis through inhibiting Akt in heart failure rats. *Biomed Pharmacother.* 2015;71:185–189. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2015.02.030>.
 39. Mao Z, Tan Y, Tao J, Li L, Wang H, Yu F, Perl A, Zhao M. Renal mTORC1 activation is associated with disease activity and prognosis in lupus nephritis. *Rheumatology (Oxford).* 2022;18:keac037. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/keac037>.
 40. Meijles DN, Zoumpoulidou G, Markou T, Rostron KA, et al. The cardiomyocyte “redox rheostat”: redox signalling via the AMPK-mTOR axis and regulation of gene and protein

- expression balancing survival and death. *J Mol Cell Cardiol.* 2019;129:118–129. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2019.02.006>.
41. Gwinn DM, Shackelford DB, Egan DF, Mihaylova MM, Mery A, Vasquez DS, Turk BE, Shaw RJ. AMPK phosphorylation of Raptor mediates a metabolic checkpoint. *Mol Cell.* 2008;30:214–226. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2008.03.003>.
 42. Paula-Gomes S, Gonçalves DA, Baviera AM, Zanon NM, Navegantes LC, Kettelhut IC. Insulin suppresses atrophy- and autophagy-related genes in heart tissue and cardiomyocytes through AKT/FOXO signaling. *Horm Metab Res.* 2013;45:849–855. <https://doi.org/10.1055/s-0033-1347209>.
 43. Mori H, Inoki K, Masutani K, Wakabayashi Y, Komai K, Nakagawa R, Guan KL, Yoshimura A. The mTOR pathway is highly activated in diabetic nephropathy and rapamycin has a strong therapeutic potential. *Biochem Biophys Res Commun.* 2009;384:471–475. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2009.04.136>.
 44. Liu WJ, Shen TT, Chen RH, Wu HL, Wang YJ, Deng JK, Chen QH, Pan Q, Huang Fu CM, Tao JL, et al. Autophagy-lysosome pathway in renal tubular epithelial cells is disrupted by advanced glycation end products in diabetic nephropathy. *J Biol Chem.* 2015;290:20499–20510. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.666354>.
 45. Yasuda-Yamahara M, Kume S, Maegawa H. Roles of mTOR in diabetic kidney disease. *Antioxidants (Basel Switzerland)* (2021) 10(2):321. <https://doi.org/10.3390/antiox10020321>.
 46. Krzysiak TC, Thomas L, Choi YJ, Auclair S, Qian Y, Luan S, Krasnow SM, Thomas LL, Koharudin LMI, Benos PV, et al. An insulin-responsive sensor in the SIRT1 disordered region binds DBC1 and PACS-2 to control enzyme activity. *Mol Cell.* 2018;72:985–998. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2018.10.007>.
 47. Hong Q, Zhang L, Das B, Li Z, Liu B, Cai G, et al. Increased podocyte Sirtuin-1 function attenuates diabetic kidney injury. *Kidney Int.* 2018;93:1330–43. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2017.12.008>.
 48. Chuang PY, Xu J, Dai Y, Jia F, Mallipattu SK, Yacoub R, et al. In vivo RNA interference models of inducible and reversible Sirt1 knockdown in kidney cells. *Am J Pathol.* 2014;184:1940–56. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2014.03.016>.
 49. Dugan LL, You YH, Ali SS, Diamond-Stanic M, Miyamoto S, DeClevés AE, et al. AMPK dysregulation promotes diabetes-related reduction of superoxide and mitochondrial function. *J Clin Invest* (2013) 123(11):4888–99. <https://doi.org/10.1172/jci66218>.
 50. Lim JH, Kim HW, Kim MY, Kim TW, Kim EN, Kim Y, et al. Cinacalcet mediated activation of the CaMKKb-LKB1-AMPK pathway attenuates diabetic nephropathy in db/db mice by modulation of apoptosis and autophagy. *Cell Death Dis* (2018) 9(3):270. <https://doi.org/10.1038/s41419-018-0324-4>.
 51. Giacco F, Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications. *Circ Res.* 2010;107:1058–1070. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.110.223545>.
 52. Peres GB, Schor N, Michelacci YM. Impact of high glucose and AGEs on cultured kidney-derived cells. effects on cell viability, lysosomal enzymes and effectors of cell signaling pathways. *Biochimie* (2017) 135:137–48. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2017.02.004>.
 53. Rabbani N, Thornalley PJ. Advanced glycation end products in the pathogenesis of chronic kidney disease. *Kidney Int* (2018) 93(4):803–13. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2017.11.034>.
 54. Zhang XM, Gao Y, Yang MX, Zheng XD, Zhang R, Wu YY, et al. Exploration of noninvasive detection of advanced glycation end products in the lens to screen for diabetic kidney disease. *Front Endocrinol* (2022) 13:892070. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.892070>.
 55. Tagawa A, Yasuda M, Kume S, Yamahara K, Nakazawa J, Chin-Kanasaki M, et al. Impaired podocyte autophagy exacerbates proteinuria in diabetic nephropathy. *Diabetes* (2016) 65(3):755–67. <https://doi.org/10.2337/db15-0473>.
 56. Liu R, Zhong Y, Li X, Chen H, Jim B, Zhou MM, et al. Role of transcription factor acetylation in diabetic kidney disease. *Diabetes.* 2014;63:2440–53. <https://doi.org/10.2337/db13-1810>.
 57. Zeng C, Fan Y, Wu J, Shi S, Chen Z, Zhong Y, Zhang C, Zen K, Liu Z. Podocyte autophagic activity plays a protective role in renal injury and delays the progression of podocytopathies. *J Pathol.* 2014;234:203–213. <https://doi.org/10.1002/path.4382>.
 58. Hou B, Li Y, Li X, Zhang C, Zhao Z, Chen Q, et al. HGF protected against diabetic nephropathy via autophagy-lysosome pathway in podocyte by modulating PI3K/Akt-GSK3b-TFEB axis. *Cell Signal* (2020) 75:109744. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2020.109744>.
 59. Han, J. Wang, S. Ma, Y. Chen, F. Cao, SIRT1 as a promising novel therapeutic target for myocardial ischemia reperfusion injury and cardiometabolic disease, *Curr. Drug Targets* 18 (2017) 1746–1753. <https://doi.org/10.2174/1389450116666150630110529>.
 60. P. Hsu, P. Zhai, T. Yamamoto, Y. Maejima, S. Matsushima, N. Hariharan, D. Shao, H. Takagi, S. Oka, J. Sadoshima, Silent information regulator 1 protects the heart from ischemia/reperfusion, *Circulation* 122 (2010) 2170–2182,

- <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.110.958033>.
61. J. Xu, J. Cui, Q. Lin, X.Y. Chen, J. Zhang, E.H. Gao, B. Wei, W. Zhao. Protection of the enhanced Nrf2 deacetylation and its downstream transcriptional activity by SIRT1 in myocardial ischemia/reperfusion injury, *Int. J. Cardiol.* 342 (2021) 82–93, <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2021.08.007>.
 62. Yu, X. Cai, X. Liu, J. Liu, N. Zhu. Betulin alleviates myocardial ischemia- reperfusion injury in rats via regulating the Sirt1/NLRP3/NF- κ B signaling pathway, *Inflammation* 44 (2021) 1096–1107. <https://doi.org/10.1007/s10753-020-01405-8>.
 63. Ma, L. Sun, W. Wu, J. Wu, Z. Sun, J. Ren, USP22 protects against myocardial ischemia-reperfusion injury via the SIRT1-p53/SLC7A11-dependent inhibition of ferroptosis-induced cardiomyocyte death, *Front. Physiol.* 11 (2020), 551318, <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.551318>.
 64. R. Alcendor, L.A. Kirshenbaum, S. Imai, S.F. Vatner, J. Sadoshima. Silent information regulator 2alpha, a longevity factor and class III histone deacetylase, is an essential endogenous apoptosis inhibitor in cardiac myocytes, *Circ. Res.* 95 (2004) 971–980, <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000147557.75257.ff>.
 65. B. Pan, M.X. Ren, W.L. Ding, D.Y. Zha, UBIAD1 effectively alleviated myocardial ischemia reperfusion injury by activating SIRT1/PGC1 α , *Perfusion* (2022), 1961968388 <https://doi.org/10.1177/02676591221097220>.
 66. Yamamoto, J. Sadoshima, Protection of the heart against ischemia/reperfusion by silent information regulator 1, *Trends Cardiovasc. Med.* 21 (2011) 27–32, <https://doi.org/10.1016/j.tcm.2012.01.005>.
 67. D. Sybers, J. Ingwall, M. De Luca. Autophagy in cardiac myocytes. *Recent Adv. Stud. Card. Struct. Metab.* 12 (1976) 453–463.
 68. S. Decker, K. Wildenthal. Lysosomal alterations in hypoxic and reoxygenated hearts. Ultrastructural and cytochemical changes, *Am. J. Pathol.* 98 (1980) 425–444.
 69. Yan, D.E. Vatner, S.J. Kim, H. Ge, et al. Autophagy in chronically ischemic myocardium, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102 (2005) 13807–13812, <https://doi.org/10.1073/pnas.0506843102>.
 70. Levine, G. Kroemer, Autophagy in the pathogenesis of disease, *Cell* 132 (2008) 27–42, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.12.018>.
 71. Mokhtari, R. Badalzadeh, Protective and deleterious effects of autophagy in the setting of myocardial ischemia/reperfusion injury: an overview, *Mol. Biol. Rep.* 49 (2022) 11081–11099. <https://doi.org/10.1007/s11033-022-07837-9>.
 72. Mokhtari, R. Badalzadeh. The potentials of distinct functions of autophagy to be targeted for attenuation of myocardial ischemia/reperfusion injury in preclinical studies: an up-to-date review, *J. Physiol. Biochem.* 77 (2021) 377–404, <https://doi.org/10.1007/s13105-021-00824-x>.
 73. Valentim, K.M. Laurence, P.A. Townsend, C.J. Carroll, S. Soond, T. M. Scarabelli, R.A. Knight, D.S. Latchman, A. Stephanou, Urocortin inhibits Beclin1-mediated autophagic cell death in cardiac myocytes exposed to ischaemia/reperfusion injury, *J. Mol. Cell. Cardiol.* 40 (2006) 846–852. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2006.03.428>.
 74. R. Brady, A. Hamacher-Brady, H. Yuan, R.A. Gottlieb. The autophagic response to nutrient deprivation in the h1-1 cardiac myocyte is modulated by Bcl-2 and sarco/endoplasmic reticulum calcium stores, *Febs J.* 274 (2007) 3184–3197. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2007.05849.x>.
 75. Sridhar, Y. Botbol, F. Macian, A.M. Cuervo, Autophagy and disease: always two sides to a problem, *J. Pathol.* 226 (2012) 255–273. <https://doi.org/10.1002/path.3025>.
 76. Sharma S, Adroque JV, Golfman L, Uray I, Lemm J, Youker K, Noon GP, Frazier OH, Taegtmeier H. Intramyocardial lipid accumulation in the failing human heart resembles the lipotoxic rat heart. *FASEB J.* 2004;18:1692 1700. <https://doi.org/10.1096/fj.04-2263com>.
 77. Akkafa F, Halil Altiparmak I, Erkus ME, Aksoy N, Kaya C, Ozer A, Sezen H, Oztuzcu S, Koyuncu I, Umurhan B. Reduced SIRT1 expression correlates with enhanced oxidative stress in compensated and decompensated heart failure. *Redox Biol.* 2015;6:169–173. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.07.011>.
 78. Wang S, Fu C, Wang H, Shi Y, Xu X, Chen J, Song X, Sun K, Wang J, Fan X, et al. Polymorphisms of the peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1alpha gene are associated with hypertrophic cardiomyopathy and not with hypertension hypertrophy. *Clin Chem Lab Med.* 2007;45:962–967. <https://doi.org/10.1515/CCLM.2007.189>.
 79. Saito T, Asai K, Sato S, Hayashi M, Adachi A, Sasaki Y, Takano H, Mizuno K, Shimizu W. Autophagic vacuoles in cardiomyocytes of dilated cardiomyopathy with initially decompensated heart failure predict improved prognosis. *Au tophagy.* 2016;12:579–587. <https://doi.org/10.1080/15548627.2016.1145326>
 80. Nikolaou PE, Mylonas N, Makridakis M, Makrecka-Kuka M, Iliou A, et al. Cardioprotection by selective SGLT-2 inhibitors in a non-diabetic mouse model of myocardial ischemia/reperfusion injury: a class or a drug effect? *Basic Res Cardiol.* 2022 May 17;117(1):27. <https://doi.org/10.1007/s00395-022-00934-7>.