

IN DEPTH REVIEW

# Prevenzione della nefropatia diabetica: from bench to bedside



Maria Elena Liberti, Adelia Saggiocca, Raffaele Palmisano, Laura Pirro, Michele Provenzano, Roberto Minutolo, Giuseppe Conte, **Luca De Nicola**

*Cattedra di Nefrologia, Seconda Università di Napoli*

## Abstract

All'esordio della nefropatia diabetica si assiste ad un incremento del GFR che, secondo l'ipotesi tubulare, deriva da una alterazione funzionale a carico del tubulo prossimale. Studi sperimentali hanno infatti dimostrato che l'iperglicemia causa un aumento del riassorbimento prossimale secondario alla induzione di ipertrofia delle cellule tubulari con conseguente incremento nel co-trasporto  $\text{Na}^+$ -glucosio. Ciò determina una riduzione della quantità di soluti alla macula densa e, attraverso una deattivazione del Feedback Tubulo-Glomerulare, un aumento del GFR (iperfiltrazione diabetica). Diverse sono le evidenze che indicano l'iperfiltrazione glomerulare come importante fattore di rischio di progressione della malattia renale in pazienti diabetici. Di grande interesse sono quindi gli inibitori del trasportatore SGLT2, nuovi agenti ipoglicemizzanti orali che determinano glicosuria inibendo il riassorbimento di glucosio a livello del tubulo prossimale renale. Tale peculiare meccanismo di azione potrebbe infatti comportare un effetto limitante sulla iperfiltrazione glomerulare. Sono tuttavia necessari studi clinici volti a valutare se il controllo glicemico e l'effetto sul GFR possano migliorare la prognosi renale a lungo termine del paziente diabetico.

Parole chiave: feedback tubulo-glomerulare, inibitori del trasportatore del glucosio SGLT2, iperfiltrazione, iperglicemia, nefropatia diabetica

## Prevention of diabetic nephropathy: from bench to bedside

The early phases of diabetic nephropathy are characterized by an increase of GFR that, according to the tubular hypothesis, is secondary to alterations of proximal tubules. Experimental studies have in fact shown that hyperglycemia induces an increase in proximal re-absorption due to hypertrophy of tubular cells with consequent increment of sodium-glucose co-transport. The increased re-absorption in turn causes a reduction of the distal delivery of solutes and, through activation of tubuloglomerular feedback, an increase in single- nephron GFR. The resulting hyper-filtration has been proposed as a main risk factor for progression of diabetic renal disease. Limiting this early alteration may therefore represent a useful strategy for the prevention of diabetic nephropathy, that represents the major cause of ESRD in the western world today. Dapagliflozin, a competitive and highly selective inhibitor of sodium-glucose co-transport, reduces proximal tubular glucose re-absorption, increases renal glucose excretion, and reduces hyperglycemia in a dose-dependent manner. This singular mechanism of action may also have a limiting effect on diabetic hyper-filtration. Clinical trials are therefore warranted to evaluate the reno-protective efficacy of this drug in the long term.

Key words: diabetic nephropathy, hyperfiltration, hyperglycemia, sodium-glucose transporter 2 inhibitors, tubuloglomerular feedback

## Introduzione

Negli ultimi anni la diffusione del diabete mellito (DM) ha subito un incremento esponenziale, tanto da acquisire, come sottolineato dall' Organizzazione Mondiale della Sanità, i caratteri di una vera e propria epidemia.

Nel giro di 25 anni, infatti, la prevalenza del DM tipo II è raddoppiata negli USA, mentre è aumentata da 3 a 5 volte in Asia [1]. Nel 2010 il DM tipo II ha interessato circa 285 milioni di persone nel mondo e si stima che, nel 2030, i soggetti affetti saranno 438 milioni [2]. Pertanto appare chiaro che la malattia diabetica è da considerarsi problema maggiore di salute pubblica.

Il DM rappresenta una tra le principali cause di ESRD (End Stage Renal Disease). Tra le complicanze più temibili ad esso associate si configura, infatti, la Nefropatia Diabetica (ND), **sindrome** clinica in genere associata a retinopatia diabetica e caratterizzata da **albuminuria** ( $\geq 30$  mg/die), **ipertensione arteriosa**, graduale declino della funzionalità renale ed elevato **rischio di eventi cardiovascolari** (CV) fatali e non fatali. La probabilità di sviluppare questa complicanza non è solo correlata alla durata del diabete. Infatti, il rischio aumenta anche in funzione della qualità del controllo **glicemico**. Numerosi studi clinici e sperimentali hanno dimostrato il ruolo fondamentale dell'iperglicemia nello sviluppo della nefropatia. L'iperglicemia promuove l'ipertensione glomerulare ed induce alterazioni intra- ed extra-cellulari. Le anomalie emodinamiche e biochimiche determinano la perdita della selettività della barriera glomerulare, con variazione dello spessore della membrana basale, e l'espansione della matrice mesangiale e interstiziale, con conseguente glomerulosclerosi e fibrosi tubulo interstiziale [3] [4]. Accanto alla presenza di iperglicemia e di altri fattori di rischio modificabili di ND (ipercolesterolemia, ipertensione, tabagismo) esiste inoltre una predisposizione genetica individuale: il rischio di insorgenza della nefropatia e della sua evoluzione è maggiore in presenza di storia familiare di diabete, ipertensione o malattie cardiovascolari [3].

In realtà, non è ancora chiaro quali siano le esatte cause responsabili dell'esordio della **nefropatia diabetica** e della sua evoluzione verso l'insufficienza renale franca. Tuttavia, si presume che una alterata relazione glomerulo-tubulare possa giocare un ruolo determinante.

## Alterazioni precoci della funzione glomerulo-tubulare

### Iperfiltrazione glomerulare

All'esordio della ND si assiste ad un incremento del filtrato glomerulare (GFR). Sono state ipotizzate diverse alterazioni alla base della riduzione del tono dell'arteriola glomerulare afferente con conseguente comparsa di iperfiltrazione [5] [6]. Inizialmente tale disfunzione arteriolare era stata attribuita all'attivazione di fattori neuro-ormonali e miogenici (ipotesi vasomotoria) [5]. Recentemente, è invece emerso un ruolo patogenetico centrale del tubulo renale; nelle fasi precoci della ND si verifica un cambiamento nel sistema tubulare renale capace di influenzare il tono dell'arteriola afferente. Pertanto è stata formulata una "ipotesi tubulare" dell'iperfiltrazione glomerulare [7] ([full text](#)).

In condizioni fisiologiche esiste una stretta interazione tra glomerulo e tubulo renale, volta essenzialmente alla difesa della volemia e, quindi, della perfusione tissutale ad essa correlata. Primo meccanismo di difesa dalla deplezione di volume è il bilancio glomerulo-tubulare (GTB) che modula il riassorbimento tubulare prossimale in base al GFR affinché sia mantenuta costante la quota percentuale di soluti (e acqua) filtrati che sono riassorbiti

nel tubulo prossimale. Pertanto, un eventuale aumento acuto del GFR provoca un aumento del riassorbimento prossimale secondario all'incremento della pressione oncotica nei capillari peritubulari. Al contrario, una riduzione del GFR comporta il decremento del riassorbimento [8].

Se nel GTB è il GFR a condizionare la funzione tubulare è altrettanto vero che segnali provenienti dai tubuli renali possono influenzare la filtrazione glomerulare con un'azione a "feedback". Quando per riduzioni del riassorbimento tubulare prossimale aumenta la quantità di NaCl presente nel flusso di pre-urina che attraversa il ramo ascendente dell'ansa di Henle e la prima parte del tubulo distale (cosiddetta *delivery distale di NaCl*), diminuisce il GFR nello stesso nefrone. Al contrario, una diminuzione della *delivery distale* da aumento del riassorbimento prossimale determina l'incremento della filtrazione. Questo meccanismo fisiologico, il cui sensore è la macula densa (MD), permette di mantenere costante il carico filtrato di soluti che arriva al tubulo distale. Il meccanismo, noto come Feedback Tubulo-Glomerulare (TGF) (figura 1), è sempre attivo ed ha come mediatore l'adenosina (sostanza vasocostrittrice). Obiettivo del TGF è di limitare la dispersione di NaCl, con relativa deplezione di volume, che si verifica per aumenti acuti del GFR [9]. Entrambi i meccanismi (GTB e TGF) determinano la quantità di NaCl che arriva alle sedi distali del tubulo renale. È importante notare, tuttavia, come alterazioni vascolari primarie causano modifiche del GFR per singolo nefrone (SNGFR) e della quantità di soluti alla MD nella stessa direzione mentre alterazioni tubulari primarie sono responsabili di modifiche del GFR e della *delivery* di soluti alla MD di opposta direzione: ad un aumentato riassorbimento tubulare prossimale si associa una ridotta quantità di soluti alla MD cui consegue un aumento del SNGFR e viceversa. Tali differenze sono ascrivibili ai diversi meccanismi che si attivano a seconda del *primum movens* in quanto un'alterazione primaria nel riassorbimento tubulare causa modifiche del GFR mediante l'azione fisiologica del TGF, mentre un'alterazione vascolare primaria influisce sul GFR provocando un'alterazione secondaria nel riassorbimento tubulare mediata dal GTB.

Nel DM iniziale, ossia prima dell'insorgenza di insufficienza renale, la componente tubulare prevale verosimilmente su quella vascolare determinando in tal modo modifiche in senso opposto del SNGFR e della *delivery* distale di soluti. Studi sperimentali nel ratto diabetico hanno dimostrato che l'iperglicemia causa un aumento del riassorbimento prossimale (evento tubulare primario) secondario alla induzione di ipertrofia delle cellule del tubulo prossimale e un conseguente incremento nel co-trasporto sodio-glucosio. Ciò determina una riduzione della quantità di soluti alla MD e, attraverso una deattivazione del TGF, un aumento del GFR. Tale "*tubular hypothesis*" [7] (full text), così nominata poiché considera le alterazioni tubulari strutturali e funzionali come causa piuttosto che come una conseguenza.

### Aumentato riassorbimento prossimale

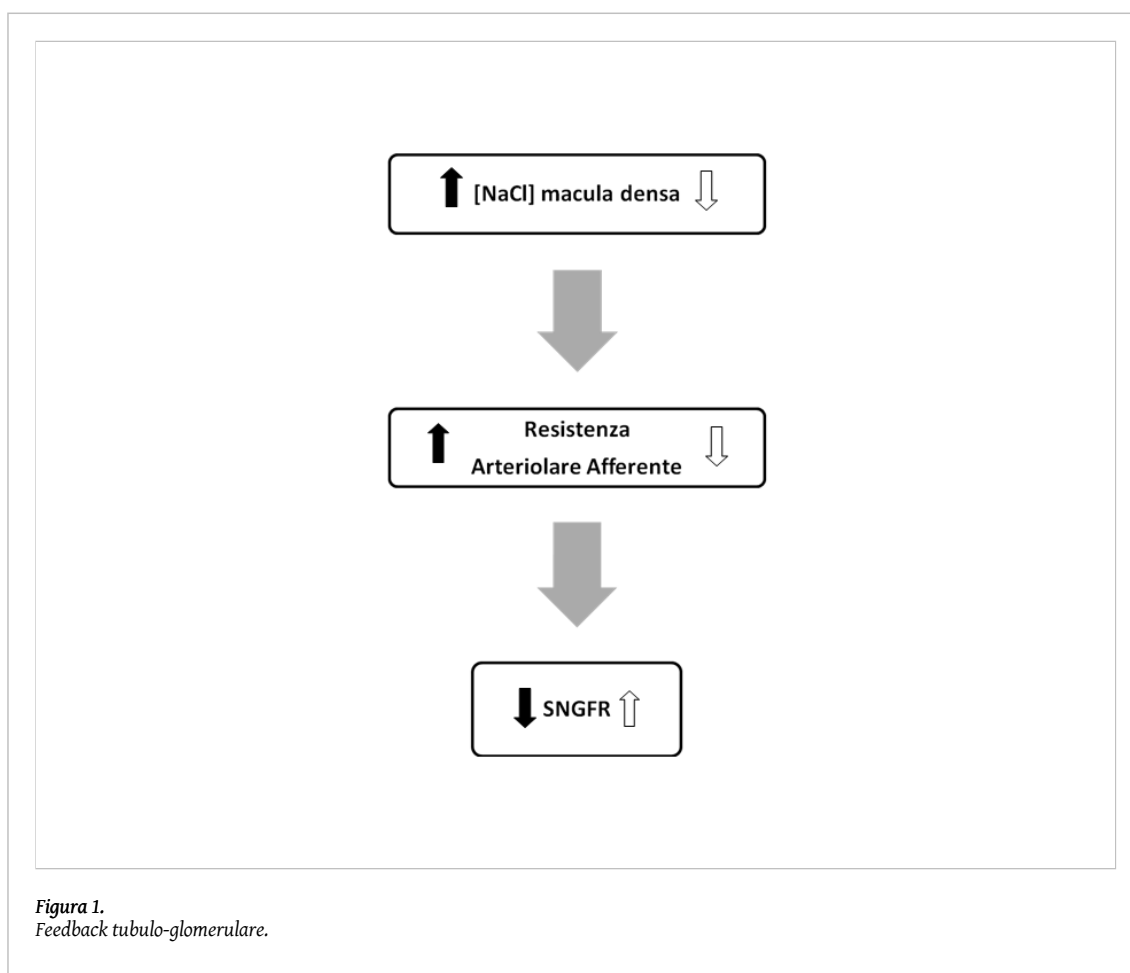
L'esistenza di un aumentato riassorbimento tubulare prossimale e conseguente riduzione della *delivery* distale di NaCl, in pazienti affetti da DM tipo I e II [10] [11], è stata dimostrata già in lavori pubblicati circa 20 anni fa che utilizzavano la clearance del litio come indicatore di riassorbimento prossimale e della *delivery* distale di NaCl. Anche in studi più recenti è stata riscontrata una forte correlazione tra DM di tipo II, iperfiltrazione glomerulare ed aumentato riassorbimento [12] (full text). Hannedouche et al. hanno avanzato anch'essi l'ipotesi che una riduzione della *delivery* distale di NaCl deattiverrebbe la risposta del TGF e contribuirebbe all'iperfiltrazione nei diabetici [13].

Per dimostrare il ruolo svolto dal riassorbimento prossimale tubulare sull'iperfiltrazione glomerulare nelle fasi iniziali del diabete sono stati effettuati diversi studi di micropuntura renale su ratti con diabete indotto sperimentalmente (mediante l'uso di streptozotocina, STZ) [14] (full text) [15]. I risultati di tali esperimenti hanno mostrato che il riassorbimento

tubulare di  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  e  $\text{K}^+$  è significativamente aumentato a livello prossimale rispetto alla MD in ratti diabetici e che, pertanto, la concentrazione di tali ioni al tubulo distale si riduce del 20-28% rispetto ai controlli non diabetici.

Ruolo cruciale nella fisiopatologia della nefropatia diabetica è svolto dunque dal trasporto tubulare di glucosio [16]. La maggior parte del glucosio plasmatico, non essendo legato né a proteine plasmatiche né a macromolecole, viene completamente filtrato dai glomeruli renali assicurando una quota filtrata di glucosio pari a circa 180 g/die. Ciò implicherebbe un'abnorme perdita di glucosio con le urine se non ci fossero meccanismi disposti al recupero delle sostanze filtrate. Il glucosio è un esempio tipico delle sostanze rimosse dall'urina mediante trasporto attivo secondario. Viene, infatti, tutto riassorbito a livello tubulare. La quantità riassorbita è proporzionale alla quantità filtrata e quindi alla concentrazione plasmatica moltiplicata per il valore di GFR fino al trasporto massimo (TmG), superato il quale compare glicosuria. In condizioni normali la quantità di glucosio persa quotidianamente con le urine è minima. Tuttavia, in condizioni particolari come in gravidanza o in presenza di unico rene funzionante, si può avere glicosuria nonostante i normali livelli di glucosio plasmatico. In corso di DM, invece, anche in presenza di iperglicemia può non esserci glicosuria in quanto in tali pazienti esiste una capacità aumentata di riassorbimento tubulare di glucosio [17]. Il fenomeno è probabilmente secondario ad un'aumentata espressione dei trasportatori del glucosio lungo il tubulo prossimale, come risposta fisiologica all'eccessiva quantità di glucosio che giunge a questo livello [18].

Esperimenti su animali condotti nel 1980 hanno mostrato l'esistenza lungo il tubulo prossimale di sistemi di trasporto per il glucosio con caratteristiche peculiari differenti [19]:



- il segmento S1: sistema “high-flux low-affinity”-SGLT2
- il segmento S3: sistema “low-flux high-affinity”-SGLT1

La maggior parte del glucosio filtrato viene riassorbita principalmente lungo il segmento S1 e solo una minima parte nel tratto S3.

Il trasporto del glucosio dal lume tubulare all’interstizio avviene per opera inizialmente di un co-transporto sodio-dipendente (trasportatori SGLTs) presente sulla membrana apicale tubulare che trasferisce il glucosio dal lume all’interno della cellula e, successivamente, per opera di un processo di diffusione facilitata lungo la membrana basolaterale (trasportatori GLUTs) che rilascia il glucosio nell’interstizio. Glucosio e sodio si legano al trasportatore comune SGLT2 nella membrana luminale, e il glucosio viene trasportato nella cellula insieme con sodio che si muove lungo il suo gradiente elettro-chimico, mantenuto dalla pompa  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPasica basolaterale. Il sodio viene trasportato fuori dalle cellule negli spazi intercellulari laterali ed il glucosio trasportato da GLUT 2 nel liquido interstiziale. Studi sperimentali hanno evidenziato che il co-transportatore low-affinity high-capacity SGLT2 è espresso maggiormente lungo i segmenti S1 e S2 del tubulo prossimale ed è responsabile del riassorbimento di oltre il 90% del glucosio filtrato [20]. Pertanto SGLT2 è considerato il principale effettore nel riassorbimento prossimale di glucosio. D’altra parte, mutazioni in omo- ed eterozigosi del gene per SGLT2 si associano alla presenza di glicosuria [21] (full text). SGLT1 (high-affinity low-capacity), al contrario, è responsabile del riassorbimento, a livello di S3, di circa il 10% del glucosio filtrato residuo [22].

Nel DM il normale processo di riassorbimento tubulare di glucosio appare alterato. La comparsa di glicosuria si ha per valori di glucosio plasmatico maggiori rispetto alla norma, essendo aumentato il trasporto massimo di glucosio ( $T_mG$ ) [17]. In realtà, studi su colture cellulari umane di soggetti con DM di tipo II mostrano un aumento del *uptake* di glucosio associato ad una maggiore trascrizione di SGLT2 [23] (full text).

## Aumento delle dimensioni renali

I reni, ed in particolare i tubuli prossimali, aumentano di dimensione nelle prime fasi della nefropatia diabetica [24]. Ad una fase iniziale di iperplasia segue una vera e propria ipertrofia delle cellule tubulari. L’iperplasia è mediata da numerosi fattori di crescita: insulin like growth factor 1 (IGF-1); platelet-derived growth factor (PDGF); vascular endothelial growth factor (VEGF) e epidermal growth factor (EGF) [25] (full text). Le cellule tubulari renali, inoltre, esprimono un sistema renina-angiotensina (RAS) endogeno che viene attivato dagli alti livelli di glucosio e che stimola la sintesi di VEGF attraverso l’attivazione dei recettori AT1 dell’angiotensina II (AgII) [26]. Il glucosio e l’AgII attivano diversi sistemi di trasduzione del segnale intracellulari con l’attivazione finale dell’ornitina decarbossilasi (ODC), enzima coinvolto nella sintesi delle poliamine. Nella nefropatia diabetica incipiente l’aumentata espressione ed attività dell’ODC sono responsabili dell’iperplasia e dell’ipertrofia tubulare [7] (full text).

Si può pertanto dedurre che ad un aumento di dimensioni del tubulo prossimale corrisponda una maggiore capacità di riassorbimento. L’utilizzo di difluorometilornitina (DFMO), inibitore di ODC, limita la crescita tubulare nel diabete-STZ iniziale [27], ed è stato utilizzato per valutare la correlazione tra la crescita dei tubuli e l’aumentato riassorbimento nei soggetti diabetici. L’uso di DFMO non ha portato risultati significativi relativi alle dimensioni tubulari ed al GFR nei topi non diabetici laddove riduce e/o arresta la crescita del tubulo con modulazione dell’iperfiltrazione nei ratti diabetici. In accordo alla “ipotesi tubulare”, l’accrescimento tubulare viene quindi considerato come causa piuttosto che conseguenza dell’iperfiltrazione glomerulare.

## Aumento dell'angiotensina II intrarenale

Nei soggetti diabetici, gli inibitori del sistema renina-angiotensina (ACE inibitori e/o ARB) hanno effetti benefici secondari alla riduzione della proteinuria e della progressione del danno renale, indicando un ruolo centrale dell' Ang II nella nefropatia diabetica franca (ossia con albuminuria già presente). Nello studio IDNT (*Irbesartan type II Diabetic Nephrology Trial*), che includeva pazienti con nefropatia dovuta a diabete di tipo II, l'Irbesartan era associato ad un'incidenza dell'endpoint composito (raddoppio della creatinina sierica, ESRD o morte) inferiore del 20% rispetto a quello del gruppo placebo e del 23% rispetto a quello dell'Amlodipina. La progressione alla dialisi o al trapianto è risultata ridotta del 34% con l'Irbesartan rispetto all'Amlodipina e del 26% rispetto al placebo [28] (full text). I risultati dello studio IDNT sono stati confermati dallo studio RENAAL (*Reduction of Endpoints in NIDDM with Angiotensin II Losartan*). Nei pazienti con DM di tipo II, proteinuria ed elevati livelli di creatinina, trattati con il Losartan è stata osservata una riduzione significativa della progressione della malattia renale. Inoltre è stata anche dimostrata una riduzione nell'incidenza dell'insufficienza cardiaca [29] (full text). Nello studio IRMA-2 (*Irbesartan in type 2 diabetes with Microalbuminuria*), pazienti ipertesi con DM di tipo II e microalbuminuria, ma senza disfunzione renale, hanno presentato una ridotta progressione nella nefropatia diabetica dopo trattamento con Irbesartan [30] (full text). Uno studio successivo confermava l'effetto antialbuminurico di Irbesartan anche nei soggetti con DM di tipo II, microalbuminuria e normotensione [31].

Numerose evidenze supportano l'esistenza di un sistema renina angiotensina intrarenale, sia nei glomeruli sia nei tubuli, che viene attivato dall'iperglicemia, con stimolo alla produzione di Ag II intrarenale, cui consegue, per feedback negativo, un ridotto rilascio di renina a livello sistemico [32].

In realtà è verosimile ipotizzare un ruolo del RAS anche nelle fasi precoci del diabete, ossia ben prima della comparsa di nefropatia. Studi di micropuntura nel ratto hanno mostrato una diversa risposta al carico esogeno di amminoacidi in ratti diabetici, se messi a confronto con ratti sani, sin dagli stadi iniziali del diabete [33]. Nei ratti non diabetici si evidenzia la presenza della Riserva Funzionale Renale (RFR), ossia della risposta vasodilatatoria glomerulare al carico acuto di aminoacidi (glicina) con un aumento del SNGFR e del flusso plasmatico renale, mentre nei ratti diabetici, dopo infusione di glicina, non si assiste ad alcuna variazione né nel SNGFR né negli altri determinanti dell'ultrafiltrazione glomerulare con perdita della RFR. Inoltre dallo studio si evince una stretta correlazione tra la presenza di RFR e riassorbimento tubulare prossimale. Infatti, nei ratti sani, dopo glicina, l'aumento del SNGFR si associa ad un aumentato riassorbimento prossimale conservando intatto il bilancio glomerulo-tubulare fisiologico. Nel gruppo dei ratti diabetici, al contrario, l'assenza di RFR è associata ad un diminuito riassorbimento prossimale. Tuttavia la somministrazione di un ACEi (enalapril) o di un ARB (losartan) nei ratti diabetici permette il ripristino di RFR con un aumento del SNGFR del 44% e del GFR del 29% dopo infusione di glicina. Ciò suggerisce l'importanza svolta dall'Ang II nel determinare la mancata risposta alla glicina nei ratti con DM. Il meccanismo attraverso cui la soppressione di Ag II aumenta il riassorbimento tubulare prossimale non è ben noto. Studi in vitro hanno tuttavia dimostrato un effetto bifasico dell'Ang II a livello tubulare: concentrazioni fisiologiche ( $10^{-10}$ ;  $10^{-12}$  M) aumentano il riassorbimento tubulare mentre concentrazioni più alte e patologiche ( $10^{-6}$ ,  $10^{-8}$  M) lo inibiscono [34] [35].



## Alterazioni renali iniziali e prognosi

Preso atto che l'iperfiltrazione glomerulare é un fenomeno che si verifica negli stadi precoci del diabete, diventa altresì fondamentale stabilire se quest'alterazione influenza la progressione verso la nefropatia diabetica, e quindi la prognosi di questi pazienti.

In Letteratura, fino a poco tempo fa, esistevano dati contrastanti. Se, infatti, in alcuni studi era stato dimostrato che in soggetti diabetici con iperfiltrazione glomerulare esiste il rischio di una progressione più rapida verso ESRD o di sviluppare micro-/macro-albuminuria [36] [37], altri studi non avevano confermato questi dati [38] [39] (full text). Tali differenze erano da attribuirsi verosimilmente alla eterogeneità (nonché al piccolo numero) dei pazienti arruolati.

Ruggenti et al. hanno recentemente condotto uno studio longitudinale con lo scopo di voler chiarire in che modo siano correlati iperfiltrazione glomerulare, rapidità di declino della funzione renale e/o sviluppo della nefropatia diabetica e, inoltre, se la correzione dell'iperfiltrazione possa dimostrarsi reno-protettivo nel lungo termine [40]. Tale studio ha incluso 600 soggetti ipertesi e con DM tipo II. Nel corso dell'arruolamento, i soggetti con un GFR >120 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> sono stati considerati "iperfiltranti" e confrontati con pazienti con valori inferiori di GFR, cosiddetti "normofiltranti". Le conclusioni sono state che il declino di GFR nel lungo termine e la progressione verso la micro-/macro-albuminuria è più rapido nei pazienti con un'iperfiltrazione persistente, rispetto ai pazienti "normofiltranti" ed a quelli in cui l'iperfiltrazione era stata migliorata attraverso un più attento controllo pressorio e metabolico durante i sei mesi di *follow-up*. In particolare, i pazienti appartenenti a questo ultimo gruppo mostrano un grado di progressione di danno renale simile a quello osservato nel gruppo di pazienti "normofiltranti". I dati pertanto confermano che l'iperfiltrazione gioca non solo un ruolo centrale nella patogenesi della nefropatia diabetica, ma che una sua correzione potrebbe essere addirittura nefroprotettiva.

Analogamente anche l'ipertrofia renale è stata associata ad un maggior rischio di progressione della malattia renale [41]. Già Mogensen aveva evidenziato un più elevato rischio di microalbuminuria in pazienti con aumentate dimensioni renali [42] [43]. Successivamente questo concetto è stato enfatizzato da Zerbini et al dimostrando in pazienti affetti da DM tipo I e normoalbuminurici, nel corso di un *follow-up* ecografico durato circa 9 anni, un'incidenza triplicata di microalbuminuria nonché un declino della funzione renale di quasi tre volte superiore in quei soggetti che avevano dimensioni renali aumentate [44] (full text).

L'ipertrofia renale può persistere per anni anche a fronte di un buon controllo glicemico, ma nelle fasi avanzate di insufficienza renale, anche i pazienti diabetici mostrano reni che vanno incontro ad un processo di ipotrofia. Quest'ultima osservazione ha posto pertanto il quesito cui ha cercato di rispondere il gruppo di Rigalleu et al, e cioè se le dimensioni renali restano un marcatore di progressione della malattia renale in pazienti diabetici con nefropatia [45] (full text). In questo studio sono stati arruolati 75 pazienti diabetici (20 pazienti con DM tipo I e 55 con DM tipo II) con nefropatia (definita dalla presenza di albuminuria >30 mg/24h e/o GFR <60 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>). Questi pazienti sono stati sottoposti ad un follow-up durato 5 anni durante il quale si è valutato in che modo le dimensioni renali iniziali influenzassero nel tempo i valori di creatinina sierica, di GFR e la necessità di trattamento dialitico. I pazienti che al momento dell'arruolamento erano stati classificati come "large kidney", non solo in una fase iniziale avevano un GFR maggiore rispetto ai "small kidney", ma essi costituivano anche la maggioranza (81%) dei pazienti che alla fine dei 5 anni avevano iniziato il trattamento dialitico. Gli Autori concludevano che l'ipertrofia renale può essere considerato

un marcatore di progressione anche nelle fasi più avanzate di nefropatia diabetica [45] (full text).

## Prevenzione nefropatia diabetica: ruolo degli inibitori di SGLT2

Per la prevenzione della nefropatia diabetica sono oggi disponibili diverse classi di farmaci (ipoglicemizzanti orali, insulina, ACE inibitori, sartani, diuretici). Tuttavia, l'uso di tali farmaci non è privo di effetti indesiderati (soprattutto ipoglicemia, aumento di peso, ritenzione idrica per gli ipoglicemizzanti, e aumento dei livelli di acido urico ed iperglicemia per i diuretici). Inoltre, tale terapia non è stata in grado di rallentare la crescita progressiva del numero di pazienti che oggi iniziano il trattamento dialitico a causa del DM [2].

Gli inibitori del trasportatore SGLT2 sono nuovi agenti ipoglicemizzanti orali con caratteristiche peculiari sia per le caratteristiche farmaco-cinetiche e farmaco-dinamiche sia per la maggiore tollerabilità. In origine, la Florizina, inibitore naturale non specifico SGLT1/2, aveva già mostrato benefici effetti in ratti diabetici, ma a causa dell'inibizione operata anche su SGLT1 espresso a livello degli enterociti, determinava seri effetti gastro-intestinali (diarrea, malassorbimento) ed è stata pertanto esclusa dalle valutazioni cliniche [46]. Dalla sua struttura si sono ottenuti gli inibitori selettivi di SGLT2 distinti in O-glucosidi (T-1095, sergliflozin, remogliflozin) e C-glucosidi (dapagliflozin e canagliflozin), e tra questi, dapagliflozin (DAPA) è stata di recente registrata come farmaco ipoglicemizzante in Europa e sarà disponibili in Italia per fine 2013 [47].

Come prima evidenziato, nel DM di tipo II, l'iperglicemia non solo è responsabile di un aumentato riassorbimento prossimale di glucosio, che contribuisce ai valori glicemici, ma anche della iperfiltrazione glomerulare secondaria a deattivazione del TGF. Recenti studi sperimentali hanno dimostrato che l'inibizione di SGLT2, principale responsabile del riassorbimento di glucosio a livello del tubulo renale (80-90% del glucosio filtrato), corregge queste alterazioni determinando glicosuria e limitando iperglicemia e iperfiltrazione glomerulare in assenza di aumentata incidenza di infezioni urinarie o morte [48] [49]. Gli effetti del blocco acuto e cronico sulla funzione glomerulare e tubulare, per opera degli inibitori specifici di SGLT2, mostrano come ad un ridotto riassorbimento prossimale di glucosio si associ un'aumentata *delivery* distale di sodio ai segmenti distali con attivazione del TGF e conseguente riduzione del GFR (riduzione GFR del 20% nel blocco acuto e del 15% nel blocco cronico) [48].

Nell'uomo, gli inibitori SGLT2 agiscono inducendo glicosuria con meccanismo insulino-indipendente e ciò permette un loro utilizzo sia in monoterapia che in associazione con altri farmaci [47] [50] [51]. Oltre alla glicosuria, si osserva una riduzione della pressione arteriosa e del peso corporeo [52] [53]. La riduzione del peso è solo in parte dovuta alla riduzione del volume dei liquidi corporei da diuresi osmotica (circa 200-600 ml/die); in corso di terapia cronica, infatti, si osserva anche una riduzione di massa grassa; la perdita di glucosio corrisponde infatti ad una perdita di calorie (1 g di glucosio escreto nelle urine = perdita di 4 Kcal). Altri effetti terapeutici svolti da tali inibitori sono mostrati in tabella 1.

Sono stati effettuati vari studi randomizzati sull'uso di DAPA in soggetti diabetici Tipo 2, di cui i principali sono riportati in tabella 2 [51] [52] [53] [54]. I trials randomizzati, della durata di 6 mesi, evidenziano sia in pazienti naïve, sia in quelli trattati con ipoglicemizzanti orali o insulina, la riduzione dei livelli di HbA1c (0,6-0,9%) associata alla riduzione del peso corporeo (1-3 kg). Da non sottovalutare, inoltre, il dato "secondario" che nei soggetti trattati con insulina, DAPA consentiva l'uso di minori dosi di insulina, riducendo, in tal modo, il



rischio di aumento ponderale, ipoglicemia, ritenzione idrica e scompenso cardiaco congestizio che si possono correlare all'utilizzo di dosaggi più elevati di insulina.

Durante il trattamento con DAPA, non si è riscontrato un aumento di casi di ipotensione, disidratazione o ipovolemia né di alterazioni della funzionalità renale versus placebo; tuttavia si è avuto un maggior numero (9-10% versus 3-5% del placebo) di casi di infezioni urinarie e genitali.

Dagli studi effettuati sinora si comprende come l'uso degli inibitori selettivi del trasportatore SGLT2 del glucosio migliori il controllo glicemico, stabilizzi il dosaggio necessario di insulina e riduca il peso corporeo. Per l'effetto glicosurico, il paziente trattato con DAPA deve essere invitato a inserire/accentuare nel suo stile di vita l'abitudine a bere. Ciò consente eventuali rischi di disidratazione e di infezioni del tratto-urogenitale. In realtà, questa raccomandazione è valida per tutti i diabetici.

Deve essere infine sottolineato che tali farmaci, attraverso l'innovativo meccanismo d'azione, sebbene nati come ipoglicemizzanti orali, sembrerebbero svolgere anche un po-

**Tabella 1.** Effetti terapeutici e caratteristiche cliniche degli inibitori del trasportatore tubulare del glucosio SGLT2.

|  |
|--|
| Ridotto rischio di ipoglicemia   |
| Assenza di effetti gastrointestinali   |
| Riduzione dell'iperglicemia e della gluco-tossicità  |
| Lieve riduzione dei livelli plasmatici di trigliceridi (studi su animali)                                    |
| Riduzione dei valori di HbA1c di 0,5-1,5% a seconda dei livelli iniziali di HbA1c)                           |
| Miglioramento della risposta all'ipoglicemia per aumento del contenuto di glucagone nelle isole pancreatiche |
| Miglioramento del quadro isto-patologico dei reni diabetici  |
| Prevenzione della nefropatia diabetica (?)   |

**Tabella 2.** Principali trials randomizzati e controllati sull'efficacia di Dapagliflozin nel Diabete Mellito Tipo 2.

| Trial             | N   | Popolazione  | Disegno   | Follow up | End point primario   | End point secondario  | Risultati   |
|-------------------|-----|--|---|-----------|----------------------|---|---|
| Bailey (2010)     | 546 | DM tipo II ed inadeguato controllo glicemico con metformina            | Randomizzazione 1:1:1:1 Dapa 2,5 mg/die vs Dapa 5 mg/die vs Dapa 10 mg/die vs placebo | 6 mesi    | Variazione HbA1c (%) | Variazioni glicemia (mmol/L) e PC (Kg)  | End point primario conseguito con riduzioni di HbA1c di 0,67%, 0,70%, 0,84% rispettivamente nei pz con Dapa vs 0,30% nei pz placebo<br><br>Riduzioni della glicemia di 0,99; 1,19; 1,30 mmol/l rispettivamente nei pz con Dapa vs -0,33 mmol/l nei pz placebo   |
| Wilding (2012)    | 808 | DM tipo II ed inadeguato controllo glicemico con insulina              | Randomizzazione 1:1:1:1 Dapa 2,5 mg/die vs Dapa 5 mg/die vs Dapa 10 mg/die vs placebo | 6 mesi    | Variazione HbA1c (%) | Variazioni PC (Kg); glicemia (mmol/L) e dose giornaliera di insulina richiesta (IU) | Riduzioni di HbA1c di 0,79; 0,89; 0,96% rispettivamente nei pz con Dapa vs -0,39% nei pz placebo<br><br>Riduzioni del PC di 0,92; 1,00 e 1,61 Kg rispettivamente nei pz con Dapa vs 0,43 Kg nei pz placebo. Insulina ridotta di 1,95; 0,63 e 1,18 UI rispettivamente nei pz con Dapa vs increment of 5,65 UI nei pz placebo |
| Ferrannini (2010) | 485 | DM tipo II ed inadeguato controllo glicemico con dieta/attività fisica | Randomizzazione 1:1:1:1 Dapa 2,5 mg/die vs Dapa 5 mg/die vs Dapa 10 mg/die vs placebo | 6 mesi    | Variazione HbA1c (%) | Variazioni glicemia (mg/dl) e PC (Kg)   | HbA1c ridotta di 0,58; 0,77 e 0,89% rispettivamente nei pz con Dapa vs 0,23% pz placebo<br><br>Glicemia ridotta di 15,2; 24,1 e 28,8 mg/dl rispettivamente nei pz con Dapa vs 4,1 mg/dl nei pz placebo. PC ridotto di 3,3; 2,8 e 3,2 kg nei pz con Dapa vs 2,2 kg nei pz placebo  |

tenziale ruolo nefroprotettivo. Infatti, mediante l'inibizione del riassorbimento di glucosio a livello del tubulo prossimale tali agenti determinano attivazione del fisiologico TGF con conseguente riduzione dell'iperfiltrazione glomerulare. In particolare, nei soggetti trattati con DAPA, è stata osservata una modesta riduzione del GFR di circa 2 ml/min per 1,73 m<sup>2</sup> rispetto ai soggetti in terapia con placebo [51] [54]. Tuttavia, gli studi effettuati non erano mirati a queste valutazioni e, pertanto, sono necessari ulteriori studi specifici ed a lungo termine volti a valutare se si conferma la riduzione del GFR tramite metodiche sensibili (radioisotopi) e se ciò possa migliorare la prognosi renale di questi pazienti (minore incidenza di ESRD). In conclusione, questa nuova classe di farmaci, risulterebbe essere capace di intervenire sui diversi aspetti della malattia diabetica e delle sue complicanze, migliorando il controllo glicemico, riducendo l'iperfiltrazione e, probabilmente, la progressione del danno renale. Inoltre, questi farmaci, oltre a ridurre la glucotossicità, possono contribuire a migliorare gli outcome CV del soggetto diabetico mediante la perdita di peso e la riduzione della PA, rendendo il loro profilo di efficacia ancora più promettente nell'ambito delle nuove strategie preventive sulle complicanze del DM. Sono quindi attesi studi a lungo termine che valutino l'efficacia degli inibitori SGLT2 anche su endpoints "hard", quali l'ESRD e gli eventi CV.

## Bibliografia

- [1] Atkins RC, Zimmet P Diabetic kidney disease: act now or pay later. *Kidney international* 2010 Mar;77(5):375-7
- [2] Rossing P, de Zeeuw D Need for better diabetes treatment for improved renal outcome. *Kidney international. Supplement* 2011 Mar;(120):S28-32
- [3] Viberti GC, Walker JD, Pinto J. Diabetic nephropathy. In: Alberti KGMM, De Fronzo RA, Keen H, Zimmet P (eds). *International Textbook of Diabetes Mellitus*. John Wiley & Sons Ltd, 1992; pp 1267-328
- [4] Hostetter TH Diabetic nephropathy. Metabolic versus hemodynamic considerations. *Diabetes care* 1992 Sep;15(9):1205-15
- [5] Vallon V, Komers R Pathophysiology of the diabetic kidney. *Comprehensive Physiology* 2011 Jul 1;1(3):1175-232
- [6] Kanwar YS, Sun L, Xie P et al. A glimpse of various pathogenetic mechanisms of diabetic nephropathy. *Annual review of pathology* 2011;6:395-423
- [7] Thomson SC, Vallon V, Blantz RC et al. Kidney function in early diabetes: the tubular hypothesis of glomerular filtration. *American journal of physiology. Renal physiology* 2004 Jan;286(1):F8-15 (full text)
- [8] Häberle DA, von Baeyer H Characteristics of glomerulotubular balance. *The American journal of physiology* 1983 Apr;244(4):F355-66
- [9] Schnermann J, Briggs JP The macula densa is worth its salt. *The Journal of clinical investigation* 1999 Oct;104(8):1007-9
- [10] Ditzel J, Lervang HH, Brøchner-Mortensen J et al. Renal sodium metabolism in relation to hypertension in diabetes. *Diabetes & metabolisme* 1989;15(5 Pt 2):292-5
- [11] Mbanya JC, Thomas TH, Taylor R et al. Increased proximal tubular sodium reabsorption in hypertensive patients with type 2 diabetes. *Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association* 1989 Sep-Oct;6(7):614-20
- [12] Pruijm M, Wuerzner G, Maillard M et al. Glomerular hyperfiltration and increased proximal sodium reabsorption in subjects with type 2 diabetes or impaired fasting glucose in a population of the African region. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 2010 Jul;25(7):2225-31 (full text)
- [13] Hannedouche TP, Delgado AG, Gnionsahe DA et al. Renal hemodynamics and segmental tubular reabsorption in early type 1 diabetes. *Kidney international* 1990 Apr;37(4):1126-33
- [14] Vallon V, Richter K, Blantz RC et al. Glomerular hyperfiltration in experimental diabetes mellitus: potential role of tubular reabsorption. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 1999 Dec;10(12):2569-76 (full text)
- [15] Thomson SC, Deng A, Bao D et al. Ornithine decarboxylase, kidney size, and the tubular hypothesis of glomerular hyperfiltration in experimental diabetes. *The Journal of clinical investigation* 2001 Jan;107(2):217-24
- [16] Mather A, Pollock C Glucose handling by the kidney. *Kidney international. Supplement* 2011 Mar;(120):S1-6
- [17] Mogensen CE Maximum tubular reabsorption capacity for glucose and renal hemodynamics during rapid hypertonic glucose infusion in normal and diabetic subjects. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation* 1971 Sep;28(1):101-9
- [18] Bakris GL, Fonseca VA, Sharma K et al. Renal sodium-glucose transport: role in diabetes mellitus and potential clinical implications. *Kidney international* 2009 Jun;75(12):1272-7

- [19] Barfuss DW, Schafer JA Differences in active and passive glucose transport along the proximal nephron. *The American journal of physiology* 1981 Sep;241(3):F322-32
- [20] Lee YJ, Lee YJ, Han HJ et al. Regulatory mechanisms of Na(+)/glucose cotransporters in renal proximal tubule cells. *Kidney international. Supplement* 2007 Aug;(106):S27-35
- [21] Vallon V, Platt KA, Cunard R et al. SGLT2 mediates glucose reabsorption in the early proximal tubule. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2011 Jan;22(1):104-12 (full text)
- [22] Quamme GA, Freeman HJ Evidence for a high-affinity sodium-dependent D-glucose transport system in the kidney. *The American journal of physiology* 1987 Jul;253(1 Pt 2):F151-7
- [23] Rahmoune H, Thompson PW, Ward JM et al. Glucose transporters in human renal proximal tubular cells isolated from the urine of patients with non-insulin-dependent diabetes. *Diabetes* 2005 Dec;54(12):3427-34 (full text)
- [24] Vallon V The proximal tubule in the pathophysiology of the diabetic kidney. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology* 2011 May;300(5):R1009-22
- [25] Wolf G, Ziyadeh FN Molecular mechanisms of diabetic renal hypertrophy. *Kidney international* 1999 Aug;56(2):393-405 (full text)
- [26] Feliers D, Kasinath BS Mechanism of VEGF expression by high glucose in proximal tubule epithelial cells. *Molecular and cellular endocrinology* 2010 Jan 15;314(1):136-42
- [27] Pedersen SB, Flyvbjerg A, Richelsen B et al. Inhibition of renal ornithine decarboxylase activity prevents kidney hypertrophy in experimental diabetes. *The American journal of physiology* 1993 Feb;264(2 Pt 1):C453-6
- [28] Lewis EJ, Hunsicker LG, Clarke WR et al. Renoprotective effect of the angiotensin-receptor antagonist irbesartan in patients with nephropathy due to type 2 diabetes. *The New England journal of medicine* 2001 Sep 20;345(12):851-60 (full text)
- [29] Brenner BM, Cooper ME, de Zeeuw D et al. Effects of losartan on renal and cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes and nephropathy. *The New England journal of medicine* 2001 Sep 20;345(12):861-9 (full text)
- [30] Parving HH, Lehnert H, Bröchner-Mortensen J et al. The effect of irbesartan on the development of diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes. *The New England journal of medicine* 2001 Sep 20;345(12):870-8 (full text)
- [31] Sasso FC, Carbonara O, Persico M et al. Irbesartan reduces the albumin excretion rate in microalbuminuric type 2 diabetic patients independently of hypertension: a randomized double-blind placebo-controlled crossover study. *Diabetes care* 2002 Nov;25(11):1909-13
- [32] Burns KD Angiotensin II and its receptors in the diabetic kidney. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation* 2000 Sep;36(3):449-67
- [33] De Nicola L, Blantz RC, Gabbai FB et al. Renal functional reserve in the early stage of experimental diabetes. *Diabetes* 1992 Mar;41(3):267-73
- [34] Harris PJ, Young JA Dose-dependent stimulation and inhibition of proximal tubular sodium reabsorption by angiotensin II in the rat kidney. *Pflügers Archiv : European journal of physiology* 1977 Jan 17;367(3):295-7
- [35] Chatsudthipong V, Chan YL Inhibitory effect of angiotensin II on renal tubular transport. *The American journal of physiology* 1991 Mar;260(3 Pt 2):F340-6
- [36] Magee GM, Bilous RW, Cardwell CR et al. Is hyperfiltration associated with the future risk of developing diabetic nephropathy? A meta-analysis. *Diabetologia* 2009 Apr;52(4):691-7
- [37] Moriya T, Tsuchiya A, Okizaki S et al. Glomerular hyperfiltration and increased glomerular filtration surface are associated with renal function decline in normo- and microalbuminuric type 2 diabetes. *Kidney international* 2012 Mar;81(5):486-93
- [38] Chaiken RL, Eckert-Norton M, Bard M et al. Hyperfiltration in African-American patients with type 2 diabetes. Cross-sectional and longitudinal data. *Diabetes care* 1998 Dec;21(12):2129-34
- [39] Nelson RG, Bennett PH, Beck GJ et al. Development and progression of renal disease in Pima Indians with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetic Renal Disease Study Group. The New England journal of medicine* 1996 Nov 28;335(22):1636-42 (full text)
- [40] Ruggenenti P, Porrini EL, Gaspari F et al. Glomerular hyperfiltration and renal disease progression in type 2 diabetes. *Diabetes care* 2012 Oct;35(10):2061-8
- [41] Kleinman KS, Fine LG Prognostic implications of renal hypertrophy in diabetes mellitus. *Diabetes/metabolism reviews* 1988 Mar;4(2):179-89
- [42] Mogensen CE, Andersen MJ Increased kidney size and glomerular filtration rate in early juvenile diabetes. *Diabetes* 1973 Sep;22(9):706-12
- [43] Mogensen CE, Christensen CK Predicting diabetic nephropathy in insulin-dependent patients. *The New England journal of medicine* 1984 Jul 12;311(2):89-93
- [44] Zerbini G, Bonfanti R, Meschi F et al. Persistent renal hypertrophy and faster decline of glomerular filtration rate precede the development of microalbuminuria in type 1 diabetes. *Diabetes* 2006 Sep;55(9):2620-5 (full text)
- [45] Rigalleau V, Garcia M, Lasseur C et al. Large kidneys predict poor renal outcome in subjects with diabetes and chronic kidney disease. *BMC nephrology* 2010 Mar 3;11:3 (full text)
- [46] Ehrenkranz JR, Lewis NG, Kahn CR et al. Phlorizin: a review. *Diabetes/metabolism research and reviews* 2005 Jan-Feb;21(1):31-8
- [47] Hanefeld M, Forst T Dapagliflozin, an SGLT2 inhibitor, for diabetes. *Lancet* 2010 Jun 26;375(9733):2196-8
- [48] Thomson SC, Rieg T, Miracle C et al. Acute and chronic effects of SGLT2 blockade on glomerular and tubular function in the early diabetic rat. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology* 2012 Jan 1;302(1):R75-83
- [49] Vallon V, Rose M, Gerasimova M et al. Knockout of Na-glucose transporter SGLT2 attenuates hyperglycemia and glomerular hyperfiltration but not kidney growth or injury in diabetes mellitus. *American journal of physiology. Renal physiology* 2013 Jan 15;304(2):F156-67
- [50] Ferrannini E, Solini A SGLT2 inhibition in diabetes mellitus: rationale and clinical prospects. *Nature reviews. Endocrinology* 2012 Feb 7;8(8):495-502
- [51] Bailey CJ, Gross JL, Pieters A et al. Effect of dapagliflozin in patients with type 2 diabetes who have inadequate glycaemic

control with metformin: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2010 Jun 26;375(9733):2223-33

[52] Wilding JP, Woo V, Soler NG et al. Long-term efficacy of dapagliflozin in patients with type 2 diabetes mellitus receiving high doses of insulin: a randomized trial. *Annals of internal medicine* 2012 Mar 20;156(6):405-15

[53] Ferrannini E, Ramos SJ, Salsali A et al. Dapagliflozin monotherapy in type 2 diabetic patients with inadequate glycemic

control by diet and exercise: a randomized, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Diabetes care* 2010 Oct;33(10):2217-24

[54] Strojek K, Yoon KH, Hruby V et al. Effect of dapagliflozin in patients with type 2 diabetes who have inadequate glycaemic control with glimepiride: a randomized, 24-week, double-blind, placebo-controlled trial. *Diabetes, obesity & metabolism* 2011 Oct;13(10):928-38