

LA TERAPIA NON IMMUNOLOGICA DELLE NEFROPATIE CON INSUFFICIENZA RENALE CRONICA E DELLA DISFUNZIONE CRONICA DA TRAPIANTO

A. Amore¹, R. Camilla¹, C. Rollino², E. Avenatti¹, F. Campolo¹, L. Peruzzi¹, G. Conti³, R. Coppo¹

¹S.C. Nefrologia Dialisi Trapianto, Policlinico Universitario Regina Margherita, Torino

²S.C. Nefrologia Dialisi, Ospedale G. Bosco, Torino

³S.C. Nefrologia Dialisi, Policlinico Universitario, Messina

Non-immunological therapy in nephropathies leading to chronic renal failure and in post-transplant chronic renal dysfunction

With its aging population, the Western world is experiencing a significant increase in the prevalence of chronic kidney disease, which has actually been defined as "pandemic". The high mortality and comorbidity, especially in terms of cardiovascular disease, have led to a significant increase in hospitalizations and rising public health expenditure, setting a trend that will become unsustainable in the next decades, even in the most developed countries. These epidemiological data have underlined the need for prevention campaigns and urged researchers and clinicians to develop new and more specific treatments able to slow down the progression of chronic kidney disease towards dialysis. To obtain such results, a deeper understanding of the pathogenetic mechanisms of nephropathy progression is mandatory. Once sclerosis is established and the initial pathogenetic noxa, whether or not involving the glomeruli, has been extinguished, the sclerotic progression of different nephropathies follows a standard pathway, irrespective of the initial cause. The achievement of an effective therapy for this condition, in native kidneys as well as transplanted organs, is the third-millennium challenge for nephrologists. In this review we will first describe the main risk factors and pathogenetic mechanisms involved in nephropathy progression and then discuss the results obtained with drugs that basic research has identified as potentially useful in experimental animal models as well as rigorous clinical trials. [G Ital Nefrol 2008; 25: (Suppl. S44) S53-63]

Conflict of interest: None

KEY WORDS:

Aldosterone,
Cytokines,
Body weight,
Renal disease
progression,
RAAS system

PAROLE CHIAVE:

Aldosterone,
Citochine,
Peso corporeo,
Progressione
malattie renali,
Sistema RAAS,

✉ Indirizzo degli Autori:

Dr. Alessandro Amore
S.C. Nefrologia Dialisi Trapianto
Policlinico Universitario Regina
Margherita
Piazza Polonia, 94
10126 Torino
e-mail: alessandro.amore@unito.it

PATOGENESI PROGRESSIONE

Ruolo della riduzione della massa nefronica

La conoscenza dei meccanismi legati alla progressione dell'insufficienza renale cronica (CKD), anche quando la noxa patogena iniziale è scomparsa, ha permesso di comprendere che la perdita di una massa critica di nefroni funzionanti è di per sé in grado di innescare meccanismi patogenetici responsabili della perdita progressiva dei restanti nefroni residui funzionanti (1-3), come mostrato nel modello sperimentale di nefrectomia 5/6. Nel restante sesto dei glomeruli, ini-

zialmente istologicamente normali, compaiono lesioni sclerotiche sovrapponibili alla glomerulosclerosi focale e segmentaria (FSGS) ed i ratti sviluppano ipertensione, proteinuria e CKD (4).

L'ipotesi ancestrale suggerita da Brenner individua nell'iperfiltrazione glomerulare con aumento della frazione di filtrazione, conseguente alla relativa maggiore vasodilatazione dell'arteriola afferente rispetto alla efferente (5, 6), l'evento innescante i meccanismi patogenetici responsabili dell'ipertensione glomerulare, della comparsa di proteinuria e della progressiva sclerosi con perdita della funzione renale. La relativa vasoconstrizione dell'arteriola efferente è l'effetto dell'au-

mentata produzione di angiotensina II (Ang II); il blocco del sistema renina-angiotensina (RAS), mediante inibitori dell'enzima di conversione dell'angiotensina (ACE-i) o mediante antagonisti recettoriali (ARB), induce una vasodilatazione dell'arteriola efferente e una caduta della pressione di filtrazione (5, 6). Questa ipotesi è stata dimostrata anche in modelli sperimentali di diabete da streptozotocina con iperfiltrazione ed ipertensione glomerulare, in cui si è osservato un effetto protettivo del blocco del sistema RAS nella comparsa di proteinuria e sclerosi glomerulare (5, 7).

I nefroni residui da nefrectomia 5/6 o da riduzione critica della massa renale vanno incontro ad alterata sintesi di fattori di crescita (8-13). Entrambe le ipotesi, quella emodinamica e quella secondaria ad ipertrofia, suggeriscono un ruolo da attore principale per l'Ang II. Un aumento della sintesi di Ang II attiva una serie di meccanismi di *signalling* intracellulare che portano alla trascrizione di fattori di crescita responsabili dell'ipertrofia, attraverso la sintesi e l'attivazione delle cicline, coinvolte nella duplicazione cellulare. Viene attivata anche la sintesi di collagene proscerotici e di inibitori di enzimi (quali le metalloproteinasi) responsabili del normale *turnover* della matrice interstiziale renale; questo meccanismo determina la comparsa di proteinuria e l'aumento della sintesi e dell'attività di fattori ipertrofici/profibrotici, quali TGF-beta e PAI-1 (8-13).

L'attivazione del sistema RAS agisce indipendentemente dai valori di pressione arteriosa sistemica (14-17). Solo valori di pressione arteriosa sistemica talmente severi da alterare i meccanismi di autoregolazione del flusso renale inducono un danno endoteliale glomerulare con conseguenti danni di tipo ischemico/sclerotico. Se l'autoregolazione renale è alterata, come si osserva nella riduzione di massa nefronica funzionante, anche modeste elevazioni della pressione arteriosa sistemica possono creare modificazioni della pressione arteriosa intracapillare con fenomeni di stress endoteliale e conseguente danno glomerulare (18-21). Evidenze sperimentali mostrano che le lesioni renali che si osservano in queste condizioni sono sovrapponibili a quelli della FSGS in assenza di lesioni endoteliali da ipertensione maligna.

In ogni caso, uno stretto controllo dei valori di pressione arteriosa sistemica è obbligatorio nella strategia di rallentamento dell'evoluzione sclerotica delle nefropatie, particolarmente in quelle forme in cui si raggiunge una riduzione della massa nefronica critica, tale da alterare i meccanismi di autoregolazione renale. Le recenti Linee Guida del trattamento della CKD, in particolare delle forme proteinuriche, suggeriscono un aggressivo trattamento della pressione arteriosa sistemica con target a valori di 125-130/80 mmHg. Nello stesso tempo i valori di pressione sistolica, soprattutto in pazienti non più giovani, non devono essere iper-

corretti a valori inferiori a 110 mmHg.

La correlazione tra l'aumento della pressione di filtrazione glomerulare (e quindi l'aumento di stress di forze fisiche sulle pareti capillari) e l'evoluzione sclerotica, è suggerita dall'osservazione che la barriera di filtrazione glomerulare è costituita da un complesso sistema in cui sono coinvolte tre strutture: lo strato di cellule endoteliali con le fenestrature della parete capillare, la membrana basale e le cellule podocitarie. Lo *slit diaphragm*, descritto morfologicamente da Karnosky circa un trentennio fa, è solo l'ultima delle dogane che si frappongono al passaggio delle proteine del plasma.

La cellula podocitaria gioca un ruolo di primo piano nel mantenimento e nella funzionalità della barriera di filtrazione glomerulare: regola lo sviluppo embrionario ed il trofismo delle cellule endoteliali (attraverso la produzione del VEGF), produce componenti della membrana basale glomerulare (GBM) (comprese le proteine, integrine ed integrino simili, di ancoraggio alla GBM) e produce infine le proteine (podocina, nefrina, CD2dAP, ecc.) che costituiscono il complesso *network dello slit diaphragm*.

Oltre che da stimoli immunologici e non, le cellule podocitarie, così come le cellule endoteliali, sono attivate dalle variazioni di forze emodinamiche di tensione parietale (*shear stress*), in questo caso quelle che si realizzano in corso di riduzione della massa nefronica. Questa attiva sistemi di segnali intracellulari che alterano la biologia delle cellule endoteliali e delle cellule podocitarie, che perdono le caratteristiche fenotipiche mature, presentano una modificazione dell'organizzazione spaziale delle proteine del citoscheletro e dello *slit diaphragm* e perdono l'ancoraggio alla GBM. Il risultato finale è il denudamento di tratti della GBM per apoptosi podocitaria (podocitopenia e podociturgia), con conseguente alterata filtrazione glomerulare e passaggio di proteine nello spazio di Bowman. Queste modificazioni strutturali esitano in un abnorme traffico intratubulare di proteine che, eccedendo la fisiologica capacità tubulare di riassorbimento, determina la comparsa di proteinuria.

Inoltre, l'inusuale presenza di proteine nello spazio di Bowman, induce un'attivazione delle cellule epiteliali parietali, che proliferano occupando progressivamente lo spazio urinifero e provocano il collasso ischemico dei capillari glomerulari; la conseguenza di tale processo è la sclerosi glomerulare, con perdita progressiva dei nefroni residui ed evoluzione verso l'*end stage renal disease* (ESRD) e la necessità di trattamento sostitutivo della funzione renale.

La comparsa di proteinuria, di entità progressivamente più significativa, innesca un circolo vizioso che accelera l'evoluzione sclerotica glomerulare, attraverso l'attivazione delle cellule tubulari e l'induzione al rilascio, da parte del tubulo stesso, di fattori chemiotattici,

con richiamo di cellule mononucleate interstiziali che amplificano il danno.

I podociti, una volta acquisito il fenotipo definitivo, perdono la capacità reduplicativa, che può essere ripristinata soltanto dopo de-differenziazione; i succitati meccanismi di stress possono attivare il meccanismo di de-differenziazione e quindi indurre una rigenerazione delle cellule endoteliali attraverso la sintesi e rilascio di VEGF (fattore neoangiogenetico). Mentre dopo la nascita non possono essere generati nuovi glomeruli, la persistenza di aree integre, con albero capillare conservato, in glomeruli parzialmente sclerotici può portare, grazie ad un'azione guidata soprattutto dalle cellule podocitarie, alla formazione di nuovi capillari e quindi a restaurazione dell'architettura glomerulare (22).

RUOLO DEL SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA-ALDOSTERONE (RAAS) NELLA PROGRESSIONE DEL DANNO RENALE

L'importanza del sistema RAS nella progressione "non immunologica" delle nefropatie è stata suggerita dall'estrema efficacia del suo blocco nel rallentare l'evoluzione verso l'ESRD, sia in modelli sperimentali che in patologia umana. Gli inibitori del sistema RAS (tipo ACE-i) agiscono riducendo la pressione idraulica intracapillare attraverso una dilatazione dell'arteriola efferente con un duplice meccanismo: inibizione della sintesi di Ang II e blocco della degradazione di bradichinina (degradazione indotta dal sistema ACE-i). Al contrario, gli inibitori recettoriali di tipo I (ARB) non hanno effetto sulla bradichinina e sono quindi meno potenti degli ACE-i nell'indurre dilatazione dell'arteriola efferente e nel ridurre la pressione idraulica intracapillare. L'associazione ACE-i e ARB ha mostrato un effetto sinergico nel rallentare l'evoluzione sclerotica dell'IRC in modelli sperimentali e patologia umana (23-25).

Gli ARB in commercio sono specifici per i recettori tipo I dell'Ang II (ATI) e non bloccano gli ATII. Di conseguenza, in corso di utilizzo di ARB, si ha un'aumentata attivazione dell'Ang II dei recettori ATII. I recettori ATII contrastano alcuni effetti mediati dagli ATI: sono meno efficaci nell'indurre vasodilatazione, inibiscono la duplicazione cellulare e favoriscono l'induzione di meccanismi apoptotici (26-30). L'apoptosi è in genere associata ad un danno minore rispetto alla necrosi, poiché le cellule apoptotiche vengono rimosse senza intervento di citochine profibrotiche e di chemochine; l'assenza di ATII, indotta sia farmacologicamente che geneticamente, si associa ad una diminuita apoptosi in risposta a stimoli fibrotici (31, 32).

La combinazione di ACE-i e ARB presenta dal punto di vista teorico dei vantaggi, dal momento che blocca

l'azione dell'Ang II e lascia inalterata l'attività degli ATII (33). Tuttavia in modelli sperimentali la combinazione ACE-i e ARB non ha mostrato effetti additivi nel rallentare la progressione sclerotica delle nefropatie rispetto all'utilizzo di ACE-i come terapia singola, pur con controllo equivalente della PA (34, 35). In topi transgenici che iperesprimono i recettori ATII, i danni sclerotici dopo nefrectomia 5/6 risultano minori (36). Alcuni *trial* clinici, che hanno valutato un basso numero di pazienti, hanno confermato che l'associazione ACE-i/ARB ha un effetto sinergico nel ridurre la proteinuria, non attribuibile al controllo dei valori di PA (37, 38). In un *trial* che ha studiato pazienti diabetici ipertesi l'azione combinata di ACE-i e ARB si è mostrata in grado di ridurre significativamente la pressione arteriosa e l'albuminuria rispetto ad una popolazione simile trattata con ACE-i come singola terapia (32).

Al momento mancano studi che confrontino dosi massimali di duplice terapia (ACE-i/ARB) *versus* monoterapia. La combinazione, in studi su piccoli numeri di pazienti, si è mostrata scevra di effetti collaterali (39).

I migliori effetti della terapia combinata rispetto alla monoterapia di blocco del sistema RAS devono tener conto degli effetti antifibrotici probabilmente secondari all'aumentata sintesi di bradichinina e all'azione degli ATII, come dimostrato da studi sull'escrezione urinaria di *transforming growth factor* (TGF)- β (26).

Il migliore effetto della terapia combinata potrebbe essere legato ad una netta riduzione della generazione di Ang II e all'inibizione dell'azione di un'eventuale produzione residua di Ang II sui recettori ATI. È stato, infatti, dimostrato in modelli sperimentali che anche dosi sovracombinate di ACE-i non inibiscono completamente il sistema RAS (40) e studi *in vivo* su pazienti in trattamento con ACE-i per lunghi periodi hanno evidenziato un'attività RAS residua persistente; questi dati suggeriscono una produzione di Ang II, ACE indipendente, legata probabilmente ad enzimi chimotripsino-simili.

Queste osservazioni hanno spinto la ricerca a sviluppare antagonisti diretti della renina. La renina può, infatti, avere effetti diretti, indipendenti dall'attivazione del sistema RAS, grazie alla presenza di recettori specifici sulle cellule mesangiali (41).

Il ruolo del sistema RAS e dell'Ang II nella progressione sclerotica delle nefropatie non è limitato solo agli effetti emodinamici sull'arteriola efferente; l'Ang II interviene, infatti, anche attraverso un'attività recettore-mediata nell'attivazione di segnali intracellulari con induzione di traslocazione nucleare di fattori trascrizionali, quali NF-kB e AP1; questi fattori di trascrizione regolano il ciclo cellulare ciclina-mediato, inducono la produzione di fattori ipertrofici cellulari e soprattutto regolano la trascrizione di fattori di crescita sclerogenici, di enzimi deputati al normale *turnover* della matri-

ce interstiziale renale e di inibitori di questi enzimi stessi, quali il PAH (42-44).

L'Ang II induce inoltre ipertrofia ed iperplasia delle cellule muscolari lisce delle pareti vascolari e delle cellule mesangiali (45, 46). Infine, i monociti-macrofagi coinvolti nella progressione delle nefropatie sono provvisti del corredo del sistema RAS e rispondono ad ACE-i e ARB.

RUOLO DELL'ALDOSTERONE

Il blocco del sistema RAS, mediante meccanismi emodinamici e non, è capace non solo di esercitare un effetto antiproteinurico, ma anche di rallentare la progressione sclerotica, ottenendo la regressione delle lesioni sclerotiche ed il ripristino di una normale architettura e funzione glomerulare.

In questi ultimi anni un'augmentata attenzione è stata rivolta al prodotto finale dell'attivazione del sistema RAS: l'aldosterone.

L'aldosterone è stato identificato quale potenziale attore protagonista nell'induzione di malattie cardiache croniche e di malattie renali croniche (47). Inoltre è stato ipotizzato che gli effetti deleteri del sistema RAS siano legati all'aldosterone e che gli effetti benefici degli ACE-i siano legati alla ridotta sintesi ed attività dell'aldosterone (34).

La somministrazione prolungata di aldosterone in ratti causa fibrosi miocardica ed ipertrofia ventricolare sinistra (34), mentre l'infusione di aldosterone determina l'effetto renoprotettivo indotto dagli ACE-i o dagli ARB in ratti spontaneamente ipertesi o con nefrectomia 5/6 (48-50). Lo spironolattone, inibitore dell'aldosterone, si è dimostrato capace di ridurre la comparsa di arteriolopatia e di fibrosi interstiziale in modelli sperimentali di tossicità cronica da ciclosporina e di nefropatie attiniche; l'effetto sembra essere mediato dall'inibizione di sintesi di PAI-1 (51, 52).

L'Ang II stimola direttamente la sintesi di PAH via AT₁, indipendentemente dal TGF- β . L'aldosterone interagisce con l'Ang II stimolando la sintesi di PAH (52). Questi dati suggeriscono che l'aldosterone potrebbe avere un effetto nefrolesivo in gran parte legato alla regolazione della sintesi di PAI-1 (52).

L'aldosterone modula il tono vascolare, verosimilmente aumentando l'azione vasocostrittiva delle catecolamine, alterando la risposta vasodilatatoria all'acetilcolina e aumentando l'espressione dei recettori per l'Ang II (53, 54).

L'attività pro-sclerotica dell'aldosterone è indipendente dalla sua azione ipertensiva sodio-ritentiva e si esplica sia direttamente che con un'attività regolatoria trascrizionale (55). L'infusione di aldosterone in ratti normali aumenta la trascrizione renale di TGF- β mRNA. In

ratti uninefrectomizzati l'infusione di aldosterone aumenta l'espressione di TGF- β , ACE e AT₁R.

Il blocco dell'aldosterone previene questi effetti deleteri ed in *trial* clinici lo spironolattone, in associazione con ACE-i e ARB, ha mostrato di potenziare il loro effetto antiproteinurico (56-58): il rischio di iperpotassiemia limita l'utilizzo del blocco aldosteronico in associazione con ACE-i e ARB.

RUOLO DELLA PROTEINURIA NELLA PROGRESSIONE SCLEROTICA DELLE NEFROPATIE

Numerose osservazioni sperimentali e cliniche suggeriscono che le proteine plasmatiche ultrafiltrate nello spazio di Bowman potrebbero essere uno dei fattori chiave nella progressione sclerotica delle nefropatie.

La proteinuria, *marker* di danno glomerulare, è stata individuata come fattore fondamentale nella progressione sclerotica delle nefropatie attraverso l'induzione e la perpetuazione di reazioni infiammatorie (59). L'esposizione sul versante apicale di cellule tubulari renali di proteine quali albumina, IgG e transferrina induce la sintesi di fattori vasocostrittori come l'endotelina-1 (ET-1) e di fattori di crescita responsabili della progressione del danno renale attraverso la proliferazione cellulare; essa inoltre promuove la sintesi di matrice e la produzione di fattori chemoattrattanti, quali MCP-1, RANTES e IL-8 (60-62). Il sovraccarico proteico nelle cellule tubulari induce poi la neo-espressione di *fractalkine*, che promuovono l'adesione di cellule mononucleate alle cellule tubulari via recettori CX3CR1 (63). Anticorpi anti CX3CR1 limitano l'adesione delle cellule monocito-macrofagiche alle cellule tubulari.

La proteinuria attiva la traslocazione nucleare del fattore trascrizionale NF- κ B, regolatore di geni sclerogeni, flogistici e chemiotattici (63). Si ipotizza che l'elemento scatenante indotto dalla proteinuria sia l'attivazione della proteina chinasi C (PKC), responsabile della sintesi di perossido di idrogeno in risposta al sovraccarico proteico tubulare. Un ruolo simile sarebbe svolto dalle MAPK e principalmente dall'isoforma p38 e dalla *stress-signalling pathway* (64).

Le cellule del tubulo prossimale esprimono recettori per le Immunoglobuline e per frazioni complementari; la loro attivazione risulta in una fiammata ossidativa capace di attivare molecole chemoattrattanti. Il tubulo prossimale è infine capace di produrre C3.

RUOLO DELL'INFILTRATO INTERSTIZIALE

L'infiltrato interstiziale è considerato uno specchio della gravità del danno glomerulare ed è ritenuto responsabile dell'effetto ischemico sull'unità nefronica.

La diminuita densità di capillari interstiziali, dipendenti dal VEGF o da altri fattori neoangionetici, è ritenuta responsabile della progressione sclerotica delle nefropatie. Non è al momento ancora ben chiarito se il numero di capillari interstiziali rappresenti la causa o la conseguenza della progressione fibrotica delle malattie renali che esitano in ESRF.

Le cellule che infiltrano l'interstizio renale sono fonte di produzione di citochine sclerogeniche e di fattori vasocostrittori. Tentativi terapeutici atti a ridurre l'influsso di cellule infiammatorie nell'interstizio hanno sortito un effetto favorevole, rallentando la velocità di progressione sclerotica. Gli ACE-i sono in grado di ridurre l'entità dell'infiltrato interstiziale e la fibrosi in modelli di ostruzione ureterale. Nella nefropatia diabetica umana l'infiltrato interstiziale precede l'accumulo di collagene e la riduzione del filtrato glomerulare.

Le cellule infiltranti possono essere rappresentati da miofibroblasti produttori di collageni che esprimono l'alfa-actina muscolare liscia (SMA), un marker di cellule miofibroblastiche sia in modelli sperimentali che in patologia umana.

È stato ipotizzato che queste cellule possano avere un'origine midollare, ma recentemente è stata ipotizzata una trasformazione fenotipica delle cellule epiteliali tubulari. Le cellule tubulari hanno un'origine mesenchimale e la trasformazione epitelio-mesenchimale è al momento la teoria più accreditata.

Le cellule tubulari danneggiate potrebbero modificare il loro fenotipo sia *in vitro* che *in vivo*, esprimere la proteina specifica per i fibroblasti (FSP1) e migrare nell'interstizio per assumere caratteristiche miofibroblastiche. Il processo potrebbe essere regolato dalla matrice circostante, alterata dalle modificazioni proteolitiche che, in collaborazione con fattori di crescita quali l'*insulin-like growth factors II*, *integrin-linked kinases*, EGF, FGF-2 e TGF- β , inizierebbero il processo di trasformazione fenotipica. Sono stati individuati fattori che inibiscono la trasformazione epitelio-mesenchimale, quali l'*hepatocyte growth factor* e il *bone morphogenetic factor-7* (BMP-7), utilizzati in modelli sperimentali per contrastare la fibrosi in diverse forme di malattie renali croniche.

DISLIPIDEMIA

I pazienti affetti da CKD, soprattutto quelli con proteinuria di entità significativa, presentano spesso una dislipidemia; questa alterazione metabolica non solo condiziona negativamente la velocità di progressione della nefropatia, ma aumenta anche significativamente il rischio di morbilità e mortalità cardiovascolare in questi pazienti. Sia le cellule mesangiali che quelle endoteliali esprimono recettori specifici per le LDL, in partico-

lare per le LDL ossidate (LDLox) (recettori LOX). L'attivazione dei LOX induce una fiammata ossidativa e l'attivazione trascrizionale di NF- κ B. A conferma del ruolo dei lipidi, lesioni sclerotiche sono evidenziate in alcune rare forme di malattie familiari, quali il deficit di lecitin-colesterolo aciltransferasi e di apolipoproteine E.

Approcci terapeutici e modificazioni dello stile di vita nella progressione sclerotica delle nefropatie e nella nefropatia cronica da trapianto

Già agli inizi della scorsa decade il gruppo di Bergamo aveva mostrato come la velocità di progressione sclerotica fosse legato all'entità della proteinuria e come questo effetto fosse esaltato da livelli elevati di pressione arteriosa (65). Più recentemente lo studio AASK ha confermato che anche livelli di proteinuria modesti aumentano il rischio relativo di ESRD e il rischio cardiovascolare (66). Sono stati tentati numerosi approcci rivolti a contenere l'entità del traffico glomerulare delle proteine e quindi a rallentare la progressione sclerotica delle nefropatie con CKD. Un concetto importante, introdotto da Jafar, è quello di "proteinuria residua" o "current proteinuria", cioè quella proteinuria che permane dopo il trattamento eziopatogenetico iniziale (67). Secondo Jafar è proprio la proteinuria residua a governare la progressione della malattia renale; il *cut-off* di rischio è definito da livelli di rapporto proteinuria/creatininuria superiori a 0.5 mg/mg.

Quali mezzi abbiamo a disposizione per cercare di contenere la proteinuria residua, e quindi di rallentare la progressione delle nefropatie? Sono stati proposti diversi approcci, la cui messa in atto ha sortito in molti studi effetti positivi.

Qui di seguito verranno discussi i presidi, farmacologici e non, che possono essere utilizzati.

I fattori coinvolti sono i seguenti (Fig. 1):

- il controllo del peso corporeo e quindi l'introito calorico;
- il fumo di sigaretta;
- il controllo dell'apporto di sodio;
- l'uso di diuretici;
- uno stretto controllo della pressione arteriosa;
- il blocco del sistema renina-angiotensina-aldosterone;
- i presidi terapeutici futuribili.

Un eccessivo peso corporeo, con un BMI >27-29, non solo influenza negativamente la velocità di progressione dell'IRC, ma aumenta notevolmente il rischio cardiovascolare nei pazienti nefropatici.

È stato descritto un ceppo di ratti, i ratti Zuckerman, che sono spontaneamente obesi, e che sviluppano nel corso della vita proteinuria e CKD. In questo modello è stato evidenziato come il peso corporeo influenzi direttamente l'entità della filtrazione glomerulare, con feno-

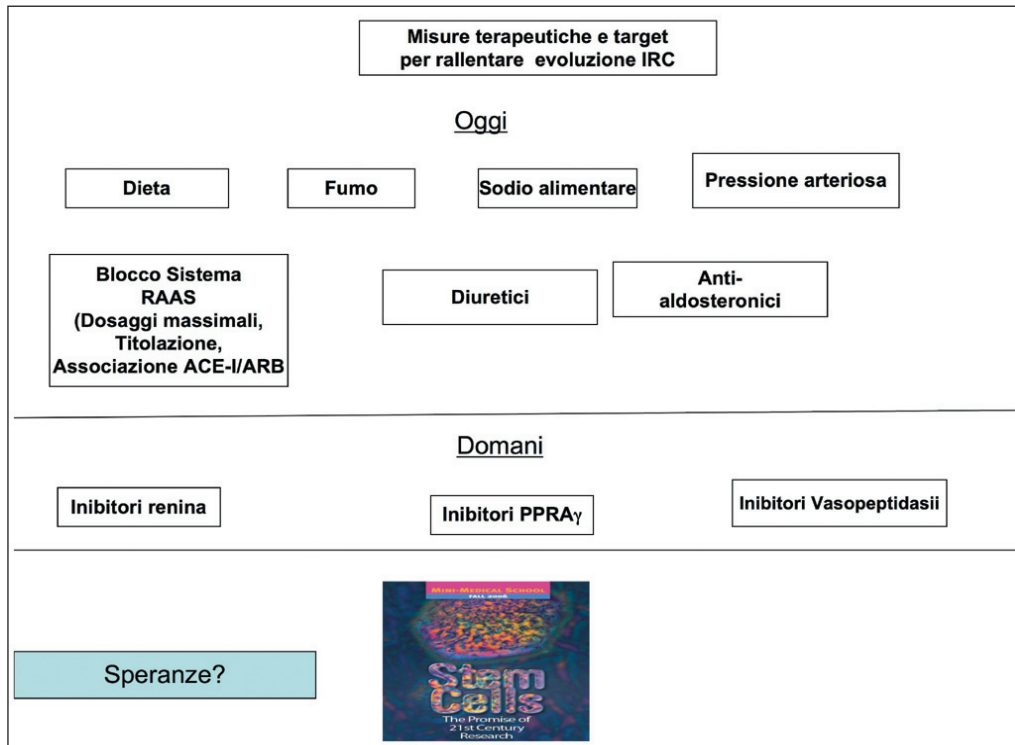


Fig. 1 - Misure terapeutiche attualmente disponibili per rallentare la progressione dell'IRC e prospettive future

meni di iperfiltrazione ed attivazione del sistema RAS; lo stesso tessuto adiposo partecipa sia alla comparsa di proteinuria che alla sclerosi, attraverso la sintesi di citochine e di TGF- β mediata dalle leptine. Questi dati sono stati recentemente confermati da Praga nel 2006 (68). D'altronde Morales (69), già nel 2003, aveva mostrato che una diminuzione del BMI si associava ad una riduzione della proteinuria in malattie renali proteinuriche e viceversa; c'era inoltre una correlazione diretta tra l'entità del peso corporeo e quella della proteinuria. Una riduzione del 5% del peso corporeo si associava ad una riduzione del 30% della proteinuria.

In parte correlato all'obesità nel concorrere all'accelerazione di progressione della CKD, è da tempo noto il rapporto diretto tra introduzione proteica e decadimento funzionale renale. Nel 2001 Giordano (70) aveva mostrato la correlazione diretta tra l'introito proteico e la diminuzione dell'entità della proteinuria. Questo concetto è stato ripreso nel 2007 da Palmer, il quale consiglia un apporto proteico intorno a 0.8 g/die in pazienti con CKD proteinurici (71).

Accanto a quelle alimentari, anche altre abitudini di vita influenzano l'entità della proteinuria e della progressione dell'IRC: tra queste il fumo. Briganti et al. (72) nel 2002 hanno chiaramente mostrato come, in una popolazione di pazienti diabetici trattati con ACE-i, l'abitudine al fumo aumenti significativamente sia il decadimento del GFR sia il rapporto proteinu-

ria/creatininuria (72); questo dato è stato confermato anche in un vasto screening della popolazione di Gubbio (73).

Un altro fattore dietetico che può influenzare l'entità della proteinuria e quindi la progressione è l'apporto sodico; in un trial controllato e randomizzato pubblicato nel 2005 da Swift (74), condotto su una popolazione Afro-Americana, è stato mostrato che una riduzione modesta dell'introito sodico induceva una significativa riduzione sia della pressione arteriosa che della proteinuria in soggetti ipertesi. Riducendo di 169/189 mmol/die l'apporto sodico, si osservava una diminuzione del 30% della proteinuria.

L'apporto sodico introduce un altro fattore importante nel controllo della progressione sclerotica e del contenimento della proteinuria: l'ipertensione arteriosa. Le Linee Guida pubblicate nel 2007 (*Journal of Hypertension*) suggeriscono di mantenere la pressione arteriosa al di sotto di 130/80 mmHg in pazienti diabetici con insufficienza renale, cercando di non ridurre la pressione sistolica al di sotto dei 110 mmHg. Esistono alcuni risultati contraddittori, quali quelli pubblicati da Ruggenti (75), ottenuti in pazienti con insufficienza renale cronica non diabetica, randomizzati in due bracci (con controllo intensificato della pressione arteriosa o controllo convenzionale) e trattati con ACE-i per un follow-up di 54 mesi; anche se al termine dello studio il numero di osservazioni era estremamente

te ridotto, non è stata rilevata una differenza significativa tra i 2 gruppi.

Iperensione arteriosa, apporto sodico, riduzione della massa nefronica, proteinuria, danno ischemico tissutale, iperuricemia e ridotta sintesi di vitamina D idrossilata, sono tutti fattori che intervengono nell'attivazione del sistema RAS.

Fliser (76) ha osservato in pazienti ipertesi e PCR >3 mg/dL, trattati con ACE-i per 6-12 settimane, una riduzione significativa della PCR e dei livelli sierici di IL-6, TNF e MCP-1.

All'inizio degli anni '90 il nostro gruppo aveva mostrato l'attivazione del sistema locale dell'angiotensina II in una popolazione di pazienti affetti da IgAN modestamente proteinurici (77).

È pertanto intuitivo che il blocco del sistema RAS abbia rappresentato nell'ultimo ventennio la potenziale chiave di volta per il rallentamento della progressione sclerotica delle nefropatie. Studi clinici e sperimentali hanno proposto una scaletta di utilizzo dei farmaci bloccanti il sistema RAS, da usare progressivamente al fine di ridurre al minimo l'azione nefrolesiva della proteinuria. Studi basati sull'evidenza e grossi *trial* controllati, randomizzati ed in doppio cieco suggeriscono uno schema che prevede un avvio di terapia con impiego di dosaggi anti-ipertensivi di ACE-i o ARB II (in caso di risposta modesta è prevista l'associazione di un diuretico) e poi l'associazione ACE-i-ARA II fino a dosaggi massimali.

La segnalazione di ruolo protettivo dell'ACE-i nella progressione del danno renale, grazie al controllo della proteinuria, risale ormai a più di un decennio fa; sono stati due gruppi Italiani, guidati da Giuseppe Remuzzi (78) e da Giuseppe Maschio (79), a mostrare come gli ACE-i (ramipril e benazepril) avessero un effetto renoprotettivo in pazienti con IRC a patogenesi sostenuta da malattia non diabetica, indipendentemente dall'entità della proteinuria (25, 78).

Dati simili sono stati ottenuti nel *trial* GISEN, che ha studiato pazienti non diabetici con IRC e proteinuria >3 g/die, trattati con Ramipril o placebo. Si è osservata a 24 e 42 settimane una significativa riduzione sia della proteinuria che della sopravvivenza d'organo (79).

Questo dato è stato riconfermato alcuni anni dopo da Jafar, utilizzando altri farmaci. Lo stesso Jafar, in una meta-analisi di 11 studi, che includeva 1260 pazienti con nefropatia non diabetica (studio AIPRD), ha dimostrato che gli ACE-i hanno un effetto antiproteinurico e che questo è indipendente dal loro effetto anti-ipertensivo e dai fattori di rischio al momento dell'arruolamento. Corretto per i valori di pressione sistolica e di proteinuria, il rischio di progressione della malattia renale cronica è risultato significativamente minore nei pazienti trattati con ACE-i (66). Oltre ad avere un effetto protettivo sulla progressione dell'insufficienza

renale, gli ACE-i si sono mostrati capaci di ridurre l'incidenza di mortalità cardiovascolare in pazienti con IRC, come dimostrato dallo studio HOPE (80).

Lo studio IDNT ha indagato 1590 pazienti con nefropatia diabetica, suddivisi per quartili di valore di pressione sistolica, trattati con un calcio-antagonista (amlodipina 10 mg/die), un placebo o un bloccante recettoriale ARB (irbesartan 300 mg/die), per un *follow-up* di 2.6 anni (81). È stata osservata una significativa riduzione del rischio relativo di raggiungere l'endpoint (raddoppio della creatinemia o ESRD) nei pazienti trattati con ARB. Lo stesso studio ha suggerito che un maggiore controllo della pressione sistolica (tra 120 e 130 mmHg) influenzava positivamente l'*outcome* renale, mentre valori inferiori a 120 mmHg aumentavano la mortalità (81).

Uno studio descritto nel 2004 da Barnett ha indagato l'effetto nefroprotettivo di ACE-i e antagonisti recettoriali nei pazienti affetti da nefropatia diabetica. In questo studio 205 pazienti sono stati trattati con telmisartan 80 mg/die o enalapril 20 mg/die. In un *follow-up* a 5 anni non si sono evidenziate differenze in termini di modificazione della caduta del filtrato glomerulare. La metanalisi di Strippoli del 2004 ha confermato che sia gli ACE-i che gli ARB hanno un effetto protettivo nella nefropatia diabetica in diverse fasi: nel passaggio da micro a macroalbuminuria, nella progressione dell'insufficienza renale e nella mortalità cardiovascolare (82).

L'unico studio con aumento massimale di ACE-i è quello di Russo, in cui sono stati valutati pazienti affetti da nefropatia a depositi IgA (37). Non esistono al momento dati che suggeriscano che un aumento massimale degli ACE-i possa migliorare l'effetto antiproteinurico.

I diuretici amplificano l'effetto degli ACE-i. L'utilizzo dell'idroclorotiazide, associata ad una restrizione sodica dietetica, ha mostrato un effetto antiproteinurico (83).

Mentre nelle nefropatie diabetiche l'associazione ACE-i e ARB non ha mostrato un effetto sinergico, in nefropatie non diabetiche lo studio COOPERATE ha messo in evidenza che l'associazione tra trandolapril e losartan risultava significativamente più efficace nel ridurre la proteinuria e nel ridurre la percentuale di pazienti che raggiungevano l'endpoint dopo un *follow-up* di 36 mesi (84). Nakao, utilizzando trandolapril e losartan in combinazione, ha mostrato che solo l'11% dei pazienti studiati raggiungevano l'endpoint vs un 23% di pazienti trattati con un singolo farmaco, fosse esso ACE o ARB (84).

Questi studi suggeriscono un differente approccio terapeutico in pazienti proteinurici affetti da nefropatie di diversa origine. Nei pazienti con CKD da nefropatia diabetica (studi RENAAL e INDNT) l'impiego dell'irbesartan ha mostrato un effetto nefroprotettivo, indotto dal blocco RAAS con rallentamento significativo dell'e-

voluzione sclerotica. I risultati non sono stati confermati nello studio *DETAIL* (85).

Mentre molti studi sono stati condotti in nefropatie proteinuriche con insufficienza renale su rene nativo, pochi sono i dati in pazienti portatori di trapianto renale con malattia cronica da trapianto.

In un modello sperimentale di trapianto renale con nefropatia cronica da trapianto (CAN), gli ARB tipo I, ma non quelli di tipo II, si sono mostrati capaci di ridurre la severità delle lesioni da CAN, l'entità della proteinuria, la percentuale di apoptosi e di fibrosi (86).

In un piccolo numero di pazienti affetti da CAN, il Losartan ha indotto una significativa riduzione del PAI-1.

In uno studio *crossover* su 18 pazienti trapiantati, solo il Losartan (50-100 mg/die) e non il Carvedilolo (12.5-25 mg/die) si è dimostrato in grado di ridurre alcuni *marker* surrogati di CAN, quali l'escrezione di NAG, TGF- β e procollagene tipo III (87).

In uno studio retrospettivo condotto su 72 pazienti, di cui 23 trattati al trapianto renale con blocco del sistema RAS, sono stati valutati all'analisi multivariata le modificazioni della creatinina nei primi 12 mesi post-trapianto, la proteinuria, il grado di attività istologica e la pressione arteriosa sistolica alla biopsia renale; il blocco del sistema RAS ha indotto un significativo incremento della sopravvivenza d'organo (88).

In un recente studio del 2006, Heinze (89) ha valutato la sopravvivenza del paziente e del rene trapiantato in 2301 pazienti trattati o meno con blocco del sistema RAS. Il blocco RAS non modificava la sopravvivenza dei pazienti né quella dell'organo; tuttavia, considerando la morte come evento, si osservava una differenza statisticamente significativa nella sopravvivenza del rene trapiantato quando i pazienti erano trattati con ACE-i o ARB (89).

Come discusso precedentemente, di recente l'aldosterone sta assumendo un ruolo chiave nella patogenesi della progressione sclerotica delle nefropatie.

Il gruppo di Fogo ha mostrato, in un modello sperimentale di nefrite attinica, che lo spironolattone è capace di ridurre sia l'indice di sclerosi che il traffico tubulare di proteine; quest'azione è condivisa sia dagli antagonisti recettoriali di tipo I che di tipo II (90). Il gruppo fiorentino diretto da Bianchi ha mostrato in pazienti proteinurici una correlazione diretta fra i livelli sierici di aldosterone e la proteinuria ed un effetto protettivo dell'aldosterone al dosaggio di 25 mg/die nella preservazione del filtrato glomerulare e nella riduzione della proteinuria rispetto alla terapia tradizionale (91).

Questo dato è stato riconfermato da Rachmani; questo Autore ha trattato dei pazienti diabetici con spironolattone 100 mg/die per 6 mesi e successivamente 50 mg/die per altri 6 mesi; un questo gruppo di pazienti è stato confrontato con un altro trattato con

ACE-i (cilazapril 5 mg/die per 6 mesi, poi ridotti a 2.5 mg/die); in questo studio è stato osservato che lo spironolattone induceva la riduzione del 52% della proteinuria, contro il 33.8% dell'ACE-i (92). Quando i pazienti trattati con spironolattone assumevano cilazapril, si osservava un'ulteriore riduzione del 12% della proteinuria. Al contrario, nei pazienti trattati con cilazapril cui veniva associato lo spironolattone, la riduzione della proteinuria era inferiore del 38%. Questo apparente paradosso è essenzialmente legato al fenomeno noto come aldosterone-escape (92).

Un ruolo protettivo dell'aldosterone è stato descritto anche nella CAN e nella tossicità da ciclosporina. L'utilizzo degli antialdosteronici in corso di tossicità da ciclosporina proteggerebbe dalla progressiva riduzione sia del flusso plasmatico renale che del filtrato glomerulare (93).

Accanto al blocco del sistema RAS, numerosi altri approcci terapeutici sono stati utilizzati nel tentativo di posporre la necessità di trattamento sostitutivo dialitico. Tra questi si annoverano le statine e il *fish oil* (94, 95). Tuttavia al momento non esistono indicazioni chiare in merito.

La ricerca di base fornirà certamente in futuro nuovi spunti per presidi terapeutici rivolti al rallentamento dell'evoluzione sclerotica delle nefropatie. Tra questi potrebbero figurare gli inibitori dei PPAR, molecole antiflogistiche fisiologiche, inibitori specifici della renina e inibitori delle vaso peptidasi (come l'omopaprilat).

Bisogna tuttavia tener presente che questi sono sistemi fisiologici, che partecipano attivamente alla sopravvivenza di che quello è il più complesso software al mondo, il corpo umano.

Il blocco completo di questi sistemi potrebbe portare ad effetti disastrosi e sta a noi medici pensare prima alla vita dei nostri pazienti, il bene più prezioso, e poi ai loro reni. *Primum non nocere*.

CONCLUSIONI

Questa rassegna non ha avuto la presunzione di essere onnicomprensiva di tutto lo scibile scientifico attualmente nelle nostre mani, ma vuole essere un punto di partenza per approfondire le conoscenze al fine di trattare in maniera mirata i pazienti con insufficienza renale cronica, ritardando il più possibile l'inizio del trattamento dialitico.

RIASSUNTO

Nelle nazioni ad elevato sviluppo industriale, parallelamente all'invecchiamento della popolazione, si sta osservando un aumento del numero dei pazienti affetti da insuff-

ficienza renale cronica, tanto che oramai si parla di pandemia.

L'elevata mortalità e le comorbidità, soprattutto cardiovascolari, hanno aumentato significativamente il numero di ospedalizzazioni con crescita imponente della spesa sanitaria destinata a diventare nei prossimi decenni insostenibile, anche da parte dei paesi più evoluti.

Oltre alla messa in atto di azioni preventive, questi dati epidemiologici hanno spinto i ricercatori di base ed i clinici ad individuare, attraverso un affinamento delle conoscenze dei meccanismi patogenetici responsabili dei fenomeni di progressione delle nefropatie, nuovi farmaci, sempre più specifici, atti a rallentare la velocità di progressione della insufficienza renale cronica verso la necessità di trattamento dialitico sostitutivo.

Una volta instauratasi la sclerosi e "spenta" la noxa patogena iniziale della nefropatia, sia essa glomerulare o meno, la progressione sclerotica delle nefropatie segue

un percorso "monotono", condiviso da tutte le forme di nefropatia indipendentemente dalla causa iniziale.

La ricerca di una terapia efficace in queste condizioni sia su reni nativi che su reni trapiantati, rappresentano per i Nefrologi la sfida del 3° millennio.

In questa rassegna verranno dapprima descritti i principali meccanismi patogenetici responsabili della progressione delle nefropatie, con descrizione dei fattori di rischio e successivamente saranno presi in considerazione i risultati ottenuti con i farmaci suggeriti dalla ricerca di base, sia in modelli sperimentali su animali da esperimento, ma soprattutto in severi trial clinici.

DICHIARAZIONE DI CONFLITTO DI INTERESSI

Gli Autori dichiarano di non avere conflitto di interessi.

BIBLIOGRAFIA

- Brenner BM. Hemodynamically mediated glomerular injury and the progressive nature of kidney disease. *Kidney Int* 1983; 23: 647-55.
- Klahr S, Schreiner G, Ichikawa I. The progression of renal disease. *N Engl J Med* 1988; 318: 1657-66.
- Olson JL, Heptinstall RH. Nonimmunologic mechanisms of glomerular injury. *Lab Invest* 1988; 59: 564-78.
- Shimamura T, Morrison AB. A progressive glomerulosclerosis occurring in partial five-sixths nephrectomized rats. *Am J Pathol* 1975; 79: 95-106.
- Anderson S, Meyer TW, Rennke HG, et al. Control of glomerular hypertension limits glomerular injury in rats with reduced renal mass. *J Clin Invest* 1985; 76: 612-9.
- Neuringer JR, Brenner BM. Hemodynamic theory of progressive renal disease: a 10-year update in brief review. *Am J Kidney Dis* 1993; 22: 98-104.
- Zatz R, Dunn BR, Meyer TW, Anderson S, Rennke HG, Brenner BM. Prevention of diabetic glomerulopathy by pharmacological amelioration of glomerular capillary hypertension. *J Clin Invest* 1986; 77: 1925-30.
- Fogo A, Ichikawa I. Evidence of central role of glomerular growth promoters in the development of sclerosis. *Semin Nephrol* 1990; 9: 329-42.
- Wolf G, Neilson EG. Angiotensin II as a renal growth factor. *J Am Soc Nephrol* 1993; 3: 1531-40.
- Ketteler M, Noble NA, Border WA. Transforming growth factor-beta and angiotensin II: the missing link from glomerular hyperfiltration to glomerulosclerosis? *Annu Rev Physiol* 1995; 57: 279-95.
- Fogo AB. Glomerular hypertension, abnormal glomerular growth, and progression of renal diseases. *Kidney Int Suppl* 2000; 75: S15-21.
- Long DA, Price KL, Herrera-Acosta J, Johnson RJ. How does angiotensin II cause renal injury? *Hypertension* 2004; 43: 722-3.
- Ma LJ, Nakamura S, Aldigier JC, et al. Regression of glomerulosclerosis with high-dose angiotensin inhibition is linked to decreased plasminogen activator inhibitor-1. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 966-76. Epub 2005 Feb 23.
- Stoian M, Radulian G, Chițăc D, Simion E, Stoica V. A clinical approach in regression of glomerulosclerosis. *Rom J Intern Med* 2007; 45 (2): 215-8.
- Ikoma M, Kawamura T, Kakinuma Y, Fogo A, Ichikawa I. Cause of variable therapeutic efficiency of angiotensin converting enzyme inhibitor on glomerular lesions. *Kidney Int* 1991; 40: 195-202.
- Kakinuma Y, Kawamura T, Bills T, Yoshioka T, Ichikawa I, Fogo A. Blood pressure-independent effect of angiotensin inhibition on vascular lesions of chronic renal failure. *Kidney Int* 1992; 42: 46-55.
- Adamczak M, Gross ML, Krtil J, et al. Reversal of glomerulosclerosis after high-dose enalapril treatment in subtotal nephrectomized rats. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 2833-42.
- Bidani AK, Schwartz MM, Lewis EJ. Renal autoregulation and vulnerability to hypertensive injury in remnant kidney. *Am J Physiol* 1987; 252: 1003-10.
- Pelayo JC, Westcott JY. Impaired autoregulation of glomerular capillary hydrostatic pressure in the rat remnant nephron. *J Clin Invest* 1991; 88: 101-5.
- Bidani AK, Hacıoglu R, Abu-Amarah I, Williamson GA, Loutzenhiser R, Griffin KA. "Step" vs. "dynamic" autoregulation: implications for susceptibility to hypertensive injury. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003; 285: F113-20. Epub 2003 Mar 11.
- Griffin KA, Picken MM, Bidani AK. Blood pressure lability and glomerulosclerosis after normotensive 5/6 renal mass reduction in the rat. *Kidney Int* 2004; 65: 209-18.
- Pavenstädt H, Kriz W, Kretzler M. Cell biology of the glomerular podocyte. *Physiol Rev* 2003; 83 (1): 253-307.
- Lewis EJ, Hunsicker LG, Bain RP, Rohde RD. The effect of angiotensin-converting-enzyme inhibition on diabetic nephropathy. *N Engl J Med* 1993; 330: 1456-62.
- Kasiske BL, Kalil RS, Ma JZ, Liao M, Keane WF. Effect of antihypertensive therapy on the kidney in patients with diabetes: a meta-regression analysis. *Ann Intern Med* 1993; 118: 129-38.
- Maschio G, Alberti D, Janin G et al. Effect of the angiotensin-converting-enzyme inhibitor benazepril on the progression of chronic renal insufficiency. The Angiotensin-Converting-Enzyme Inhibition in Progressive Renal Insufficiency Study Group. *N Engl J Med* 1996; 334: 939-45.

26. MacKinnon M, Shurraw S, Akbari A, Knoll GA, Jaffey J, Clark HD. Combination therapy with an angiotensin receptor blocker and an ACE inhibitor in proteinuric renal disease: a systematic review of the efficacy and safety data. *Am J Kidney Dis* 2006; 48: 8-12.
27. Yamada T, Horiuchi T, Dzau VJ. Angiotensin II type 2 receptor mediates programmed cell death. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 156-60.
28. Stoll M, Steckelings M, Paul M, et al. The angiotensin AT2-receptor mediates inhibition of cell proliferation in coronary endothelial cells. *J Clin Invest* 1995; 95: 651-7.
29. Steckelings UM, Kaschina E, Unger T. The AT2 receptor-a matter of love and hate. *Peptides* 2005; 26: 1401-9. Epub 2005 Apr 18.
30. Siragy HM. AT(1) and AT(2) receptors in the kidney: role in disease and treatment. *Am J Kidney Dis* 2005; 36 (3 Suppl. 1): S4-9.
31. Hebert LA, Falkenhain ME, Nahman NS Jr, Cosio FG, O'Dorisio TM. Combination ACE inhibitor and angiotensin II receptor antagonist therapy in diabetic nephropathy. *Am J Nephrol* 1999; 19: 1-6.
32. Mogensen CE, Neldam S, Tikkanen I, et al. Randomised controlled trial of dual blockade of renin-angiotensin system in patients with hypertension, microalbuminuria, and non-insulin dependent diabetes: the candesartan and lisinopril microalbuminuria (CALM) study. *BMJ* 2000; 321: 1440-4.
33. Wolf G, Ritz E. Combination therapy with ACE inhibitors and angiotensin II receptor blockers to halt progression of chronic renal disease: pathophysiology and indications. *Kidney Int* 2005; 67: 799-812.
34. Ots M, Mackenzie HS, Troy JL, Ronnke HG, Brenner BM. Effects of combination therapy with enalapril and losartan on the rate of progression of renal injury in rats with 5/6 renal mass ablation. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9: 224-30.
35. Ma LJ, Nakamura S, Whitsitt JS, Marcantoni C, Davidson JM, Fogo AB. Regression of sclerosis in aging by an angiotensin inhibition-induced decrease in PAI-1. *Kidney Int* 2000; 58 (6): 2425-36.
36. Hashimoto N, Maeshima Y, Satoh M, et al. Overexpression of angiotensin type 2 receptor ameliorates glomerular injury in a mouse remnant kidney model. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004; 286: F516-25. Epub 2003 Oct 28.
37. Russo D, Pisani A, Ballesta MM, et al. Additive antiproteinuric effect of converting enzyme inhibitor and losartan in normotensive patients with IgA nephropathy. *Am J Kidney Dis* 1999; 33: 851-6.
38. Hebert LA, Falkenhain ME, Nahman NS Jr, Cosio FG, O'Dorisio TM. Combination ACE inhibitor and angiotensin II receptor antagonist therapy in diabetic nephropathy. *Am J Nephrol* 1999; 19: 1-6.
39. Taal MW, Brenner BM. Combination ACEI and ARB therapy: additional benefit in renoprotection? *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2002; 11: 377-81.
40. Nishiyama A, Seth DM, Navar LG. Renal interstitial fluid concentrations of angiotensins I and II in anesthetized rats. *Hypertension* 2002; 39: 129-34.
41. Azizi M, Webb R, Nussberger J, Hollenberg NK. Renin inhibition with aliskiren: where are we now, and where are we going? *J Hypertens* 2006; 24: 243-56.
42. Weinberger MH, Luft FC. Comprehensive suppression of the renin-angiotensin-aldosterone system in chronic kidney disease: covering all of the bases. *Kidney Int* 2006; 70: 2051-3.
43. Nyengaard JR. Number and dimensions of rat glomerular capillaries in normal development and after nephrectomy. *Kidney Int* 1993; 43: 1049-57.
44. Marcussen N, Nyengaard JR, Christensen S. Compensatory growth of glomeruli is accomplished by an increased number of glomerular capillaries. *Lab Invest* 1994; 70: 868-74.
45. Orth SR, Weinreich T, Bönnisch S, Weih M, Ritz E. Angiotensin II induces hypertrophy and hyperplasia in adult human mesangial cells. *Exp Nephrol* 1995; 3: 23-33.
46. Pyeritz RE. A small molecule for a large disease. *N Engl J Med* 2008; 358: 2829-31.
47. Brenner BM, Meyer TW, Hostetter TH. Dietary protein intake and the progressive nature of kidney disease: the role of hemodynamically mediated glomerular injury in the pathogenesis of progressive glomerular sclerosis in aging, renal ablation, and intrinsic renal disease. *N Engl J Med* 1982; 307: 652-9.
48. Nath KA, Kren SM, Hostetter TH. Dietary protein restriction in established renal injury in the rat. Selective role of glomerular capillary pressure in progressive glomerular dysfunction. *J Clin Invest* 1986; 78: 1199-205.
49. Hashimoto N, Maeshima Y, Satoh M, et al. Overexpression of angiotensin type 2 receptor ameliorates glomerular injury in a mouse remnant kidney model. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004; 286: F516-25. Epub 2003 Oct 28.
50. Akaoka K, White RH, Raafat F. Glomerular morphometry in childhood reflux nephropathy, emphasizing the capillary changes. *Kidney Int* 1995; 47: 1108-14.
51. Adamczak M, Gross ML, Krtil J, et al. Reversal of glomerulosclerosis after high-dose enalapril treatment in subtotally nephrectomized rats. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 2833-42.
52. Jazayeri A, Meyer WJ 3rd. Mineralocorticoid-induced increase in beta-adrenergic receptors of cultured rat arterial smooth muscle cell. *J Steroid Biochem* 1989; 33: 987-91.
53. Ulian ME, Schelling Jr, Linas SL. Aldosterone enhances angiotensin II receptor binding and inositol phosphate response. *Hypertension* 1992; 20: 67-73.
54. Schmid H, Henger A, Kretzler M. Molecular approaches to chronic kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2006; 15: 123-9.
55. Xu BJ, Shyr Y, Liang X, et al. Proteomic patterns and prediction of glomerulosclerosis and its mechanisms. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 2967-75. Epub 2005 Aug 3.
56. Ma J, Weisberg A, Griffin JP, Vaughan DE, Fogo AB, Brown NJ. Plasminogen activator inhibitor-1 deficiency protects against aldosterone-induced glomerular injury. *Kidney Int* 2006; 69: 1064-72.
57. Bianchi S, Bigazzi R, Campese VM. Long-term effects of spironolactone on proteinuria and kidney function in patients with chronic kidney disease. *Kidney Int* 2006; 70: 2116-23. Epub 2006 Oct 11.
58. Weinberger MH, Luft FC. Comprehensive suppression of the renin-angiotensin-aldosterone system in chronic kidney disease: covering all of the bases. *Kidney Int* 2006; 70: 2051-3.
59. Lee EM, Pollock CA, Drumm K, Barden JA, Poronnik P. Effects of pathophysiological concentrations of albumin on NHE3 activity and cell proliferation in primary cultures of human proximal tubule cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003; 285: F748-57. Epub 2003 Jun 10.
60. Mezzano SA, Droguett MA, Burgos ME, et al. Overexpression of chemokines, fibrogenic cytokines, and myofibroblast in human membranous nephropathy. *Kidney Int* 2000; 57: 147-58.
61. Wang Y, Chen J, Chen L, Tay YC, Rangan GK, Harris DC. Induction of monocyte chemoattractant protein-1 in proximal tubule cells by urinary protein. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8: 1537-45.
62. Zoja C, Donadelli R, Colleoni S, et al. Protein overload stimulates RANTES production by proximal tubular cells depending on NF-kappa B activation. *Kidney Int* 1998; 53: 1608-15.
63. Donadelli R, Zanchi C, Morigi M, et al. Protein overload induces fractalkine upregulation in proximal tubular cells through nuclear factor kappaB- and p38 mitogen-activated protein kinase-dependent pathways. *J Am Soc*

- Nephrol 2003; 14: 2436-46.
64. Morigi M, Macconi D, Zoja C, et al. Protein overload-induced NF-kappaB activation in proximal tubular cells requires H₂O₂ through a PKC-dependent pathway. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 1179-89.
 65. Ruggenenti P, Perna A, Mosconi L, Pisoni R, Remuzzi G. Urinary protein excretion rate is the best independent predictor of ESRF in non-diabetic proteinuric chronic nephropathies. "Gruppo Italiano di Studi Epidemiologici in Nefrologia" (GISEN). *Kidney Int* 1998; 53: 1209-16.
 66. Agodoa LY, Appel L, Bakris GL, et al. African American Study of Kidney Disease and Hypertension (AASK) Study Group. Effect of ramipril vs amlodipine on renal outcomes in hypertensive nephrosclerosis: a randomized controlled trial. *JAMA* 2001; 285 (21): 2719-28.
 67. Jafar TH, Stark PC, Schmid CH, et al. AIPRD Study Group. Progression of chronic kidney disease: the role of blood pressure control, proteinuria, and angiotensin-converting enzyme inhibition: a patient-level meta-analysis. *Ann Intern Med* 2003; 139 (4): 244-52.
 68. Praga M, Morales E. Obesity, proteinuria and progression of renal failure. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2006; 15 (5): 481-6.
 69. Morales E, Valero MA, León M, Hernández E, Praga M. Beneficial effects of weight loss in overweight patients with chronic proteinuric nephropathies. *Am J Kidney Dis* 2003; 41 (2): 319-27.
 70. Giordano M, De Feo P, Lucidi P, et al. Effects of dietary protein restriction on fibrinogen and albumin metabolism in nephrotic patients. *Kidney Int* 2001; 60 (1): 235-42.
 71. Palmer BF. Proteinuria as a therapeutic target in patients with chronic kidney disease. *Am J Nephrol* 2007; 27 (3): 287-93. Epub 2007 Apr 23.
 72. Briganti EM, Branley P, Chadban SJ, et al. Smoking is associated with renal impairment and proteinuria in the normal population: the Aus Diab kidney study. Australian Diabetes, Obesity and Lifestyle Study. *Am J Kidney Dis* 2002; 39: 376-81.
 73. Cirillo M, Senigalliesi L, Laurenzi M, et al. Microalbuminuria in nondiabetic adults: relation of blood pressure, body mass index, plasma cholesterol levels, and smoking: The Gubbio Population Study. *Arch Intern Med* 1998; 28; 158 (17): 1933-9.
 74. Swift PA, Markandu ND, Sagnella GA, He FJ, MacGregor GA. Modest salt reduction reduces blood pressure and urine protein excretion in black hypertensives: a randomized control trial. *Hypertension* 2005; 46: 308-12. Epub 2005 Jun 27.
 75. Ruggenenti P, Perna A, Loriga G, et al. REIN-2 Study Group. Blood-pressure control for renoprotection in patients with non-diabetic chronic renal disease (REIN-2): multicentre, randomised controlled trial. *Lancet* 2005; 365: 939-46.
 76. Fliser D, Buchholz K, Haller H; European Trial on Olmesartan and Pravastatin in Inflammation and Atherosclerosis (EUTOPIA) Investigators. Antiinflammatory effects of angiotensin II subtype 1 receptor blockade in hypertensive patients with microinflammation. *Circulation* 2004; 110: 1103-7. Epub 2004 Aug 16.
 77. Coppo R, Amore A, Gianoglio B, et al. Angiotensin II local hyperactivity in the progression of IgA nephropathy. *Am J Kidney Dis* 1993; 21 (6): 593-602.
 78. Ruggenenti P, Perna A, Gherardi G, et al. Renoprotective properties of ACE-inhibition in non-diabetic nephropathies with non-nephrotic proteinuria. *Lancet* 1999; 354 (9176): 359-64.
 79. Ruggenenti P, Perna A, Gherardi G, et al. Renal function and requirement for dialysis in chronic nephropathy patients on long-term ramipril: REIN follow-up trial. Gruppo Italiano di Studi Epidemiologici in Nefrologia (GISEN). *Ramipril Efficacy in Nephropathy. Lancet* 1998; 352 (9136): 1252-6.
 80. Yusuf S, Sleight P, Pogue J, Bosch J, Davies R, Dagenais G. Effects of an angiotensin-converting-enzyme inhibitor, ramipril, on cardiovascular events in high-risk patients. The Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators. *N Engl J Med* 2000; 342 (3): 145-53.
 81. Pohl MA, Blumenthal S, Cordonnier DJ, et al. Independent and additive impact of blood pressure control and angiotensin II receptor blockade on renal outcomes in the irbesartan diabetic nephropathy trial: clinical implications and limitations. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16 (10): 3027-37.
 82. Barnett AH, Bain SC, Bouter P, et al. Diabetics Exposed to Telmisartan and Enalapril Study Group. Angiotensin-receptor blockade versus converting-enzyme inhibition in type 2 diabetes and nephropathy. *N Engl J Med* 2004; 351 (19): 1952-61. Epub 2004 Oct 31.
 83. Buter H, Hemmelder MH, Navis G, de Jong PE, de Zeeuw D. The blunting of the antiproteinuric efficacy of ACE inhibition by high sodium intake can be restored by hydrochlorothiazide. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 1682-5.
 84. Nakao N, Yoshimura A, Morita H, Takada M, Kayano T, Ideura T. Combination treatment of angiotensin-II receptor blocker and angiotensin-converting-enzyme inhibitor in non-diabetic renal disease (COOPERATE): a randomised controlled trial. *Lancet* 2003; 361: 117-24.
 85. Barnett A. Preventing renal complications in type 2 diabetes: results of the diabetics exposed to telmisartan and enalapril trial. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17 (4 Suppl. 2): S132-5.
 86. Lutz J, Risch K, Liu S, et al. Angiotensin type 1 and type 2 receptor blockade in chronic allograft nephropathy. *Kidney Int* 2006; 70: 1080-8. Epub 2006 Jul 19.
 87. Ishikawa A, Tanaka M, Ohta N, Ozono S, Kitamura T. Prevention of interstitial fibrosis of renal allograft by angiotensin II blockade. *Transplant Proc* 2006; 38 (10): 3498-501.
 88. Tylicki L, Biedunkiewicz B, Chamienia A, Wojnarowski K, Zdrojewski Z, Rutkowski B. Randomized placebo-controlled study on the effects of losartan and carvedilol on albuminuria in renal transplant recipients. *Transplantation* 2006; 81 (1): 52-6.
 89. Heinze G, Mitterbauer C, Regele H, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibitor or angiotensin II type 1 receptor antagonist therapy is associated with prolonged patient and graft survival after renal transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17 (3): 889-99. Epub 2006 Feb 15.
 90. Brown NJ, Nakamura S, Ma L, et al. Aldosterone modulates plasminogen activator inhibitor-1 and glomerulosclerosis in vivo. *Kidney Intl* 2000; 58: 1219-27.
 91. Bianchi S, Bigazzi R, Campese VM. Antagonists of aldosterone and proteinuria in patients with CKD: an uncontrolled pilot study. *Am J Kidney Dis* 2005; 46 (1): 45-51.
 92. Rachmani R, Slavachevsky I, Amit M, et al. The effect of spironolactone, cilazapril and their combination on albuminuria in patients with hypertension and diabetic nephropathy is independent of blood pressure reduction: a randomized controlled study. *Diabet Med* 2004; 21: 471-5.
 93. Bobadilla NA, Gamba G. New insights into the pathophysiology of cyclosporine nephrotoxicity: a role of aldosterone. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 293 (1): F2-9. Epub 2007 Apr 11.
 94. Sandhu S, Wiebe N, Fried LF, et al. Statins for improving renal outcomes: a meta-analysis. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17 (7): 2006-16. Epub 2006 Jun 8.
 95. Lim AK, Manley KJ, Roberts MA, Fraenkel MB. Fish oil treatment for kidney transplant recipients: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Transplantation* 2007; 83 (7): 831-8.