

GLI INFINITI MODI CON CUI IL DIABETE PEGGIORA ESPRESSIONI E PROGnosi DELLA MALATTIA CARDIO-VASCULO-RENALE

P. Brunetti

**Centro Regionale di Riferimento per il Diabete,
Dipartimento di Medicina Interna, Università degli Studi di Perugia.**

È ben noto come il diabete mellito sia caratterizzato, nella sua storia naturale, da una incidenza particolarmente elevata di incidenti cardiovascolari. Numerosi studi epidemiologici e, fra questi, lo studio di Framingham, hanno infatti dimostrato come i soggetti diabetici vadano incontro a complicanze cardiovascolari, quali infarto del miocardio, ictus cerebrale ischemico o insufficienza arteriosa degli arti inferiori, in una misura da 2 a 4 volte superiore a quella dei soggetti non diabetici ¹. Al proposito, è sintomatico il fatto che il rischio di sviluppare un infarto del miocardio, durante un periodo di osservazione di sette anni, sia lo stesso, secondo uno studio condotto in Finlandia, in soggetti non diabetici che abbiano già subito in precedenza un infarto ed in pazienti diabetici indenni da una storia anteriore di infarto del miocardio ². Inoltre, secondo lo studio OASIS (Organisation to Assess Strategies for Ischemic Syndromes), di dimensioni maggiori rispetto al precedente, per la partecipazione al progetto di sei Paesi e per il maggior numero di soggetti coinvolti, il rischio di mortalità a due anni di soggetti diabetici ricoverati per angina instabile o infarto non-Q, ma senza precedenti cardiovascolari, è lo stesso di quello di soggetti non diabetici ricoverati per la stessa causa ma già affetti in precedenza da malattia cardiovascolare ³. Nella definizione dei soggetti ad alto rischio di sviluppare una malattia cardiovascolare – rischio superiore al 20% in un periodo di osservazione di 10 anni, secondo la proiezione di Framingham – insieme ai pazienti già affetti in passato da cardiopatia coronarica, sono stati inclusi, perciò, nella linea guida del National Cholesterol Education Program, Adult Treatment Panel III (ATP III), i pazienti affetti da diabete di tipo 2, anche se indenni da coronaropatia. Il diabete è stato quindi considerato equivalente alla cardiopatia coronarica, nella determinazione del rischio, insieme ad altre patologie specificamente cardiovascolari come l'arteriopatia ostruttiva periferica, l'aneurisma dell'aor-

ta addominale e la malattia oclusiva della carotide ⁴.

I principali fattori di rischio ai quali viene attribuito il danno vascolare presente in corso di diabete comprendono l'iperglicemia, l'iperinsulinemia, la resistenza insulinica, la dislipidemia e l'ipertensione arteriosa. Meno frequentemente, viene citata la disfunzione renale che rimane ancora la "Cenerentola del profilo di rischio cardiovascolare" ⁵. Eppure la presenza di una nefropatia diabetica e quindi della microalbuminuria, che della nefropatia rappresenta un indice precoce, aumenta in maniera assai consistente il rischio di insorgenza di una patologia cardiovascolare. Inoltre, la diffusione di tipo epidemico del diabete che si sta realizzando a livello planetario fa sì che il diabete sia oggi la causa più importante di insufficienza renale terminale con necessità di ricorso a dialisi o trapianto (Fig. 1) ⁶.

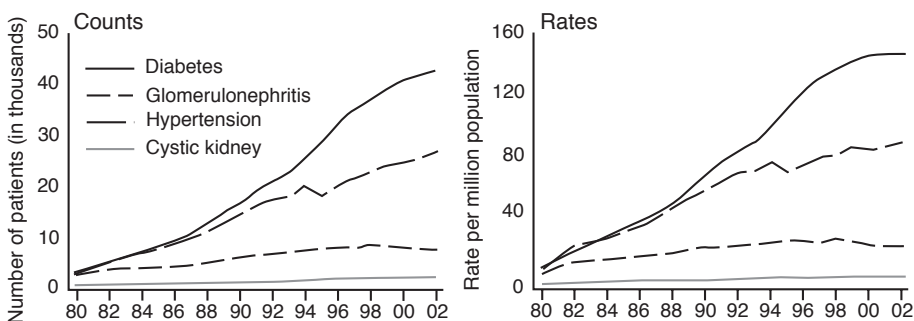


Fig.1. Cause di insufficienza renale terminale. Nel corso degli anni, il diabete mellito è divenuto, rispetto ad altre patologie, nella popolazione degli Stati Uniti, la causa predominante di insufficienza renale terminale, con necessità di dialisi o trapianto.

Microalbuminuria

Per microalbuminuria, sinonimo di nefropatia incipiente, si intende una eliminazione urinaria di albumina, compresa fra 30 e 300 mg, nell'arco delle 24 ore, oppure, utilizzando un diverso metro di valutazione, fra 20 e 200 μg per minuto. Valori superiori a 300 mg nelle 24 ore o a 200 μg per minuto, dosabili anche con mezzi convenzionali (strisce reattive), identificano una nefropatia conclamata. Data la grande variabilità giornaliera del reperto, la presenza di microalbuminuria deve essere confermata in almeno due su tre valutazioni eseguite ad intervalli di tempo l'una dall'altra. Una valutazione della microalbuminuria a scopo di screening, può essere eseguita anche su un campione estemporaneo di urina, determinando il rapporto albumina/creatinina, in condizioni normali inferiore a 2.5 nell'uomo e a 3.5 nella donna (Tab. I).

La presenza di microalbuminuria è strettamente correlata con la durata del diabete. Nel tipo 1 raggiunge il 40-50% dopo 30 anni di malattia ⁷. Si stima che l'incidenza annuale di microalbuminuria sia dell'ordine del 2% ⁸ anche se il mantenimento di un buon controllo metabolico ne può diminuire la frequenza. Secondo i primi studi, più del 75% dei pazienti diabetici di tipo 1, microalbuminurici, avrebbero sviluppato una nefropatia clinica con proteinuria.

Tabella I - Definizione della microalbuminuria

	Valori normali	Microalbuminuria (Nefropatia incipiente)	Nefropatia clinica manifesta	Unità di misura
Albumina urinaria nelle 24 ore	<30	30-300	>300	mg/die
Velocità di escrezione urinaria dell'albumina	<20	20-200	>200	μ/min
Rapporto albumina/ creatinina urinaria	<2.5 M <3.5 D	10-25	>25	mg/mmol

Dati più recenti indicano invece che il 50% dei soggetti microalbuminurici rimane tale, senza una ulteriore evoluzione, il 30% vede la regressione della microalbuminuria, mentre solo il 20% evolve verso una condizione di proteinuria clinica, in un periodo di 5-9 anni ⁹.

Nel diabete di tipo 2, studi trasversali hanno dimostrato la presenza di microalbuminuria nel 10-40% dei pazienti ¹⁰. La velocità di progressione dalla normoalbuminuria alla microalbuminuria è dell'ordine del 2-4%, anche più elevata, quindi, di quella che caratterizza il diabete di tipo 1 ¹¹. Dopo 20 anni di durata del diabete di tipo 2, circa un terzo dei pazienti microalbuminurici sviluppa una nefropatia clinica ¹². L'evoluzione verso l'insufficienza renale terminale è tuttavia meno frequente per i diabetici di tipo 2, molti dei quali muoiono prima a causa di eventi cardiovascolari.

Indipendentemente dalla sua capacità di predire l'evoluzione verso una nefropatia conclamata, la microalbuminuria ha assunto sempre più il significato di un fattore di rischio cardiovascolare. Nel diabete di tipo 1, il rischio di sviluppare precocemente una malattia cardiovascolare è aumentato del 20% (RR=1.2) nei pazienti con microalbuminuria ¹³ e almeno di 10 volte in quelli con nefropatia clinicamente evidente ¹⁴. L'entità della escrezione urinaria di albumina è un indice prognostico di mortalità da ogni causa. La mortalità aumenta progressivamente, nel diabete di tipo 1 ¹⁵, come nel diabete di tipo 2 e nei soggetti non diabetici ¹⁶ nel passaggio dalla normoalbuminuria, alla microalbuminuria ed alla proteinuria clinica (Fig. 2).

Nel diabete di tipo 2, il rischio cardiovascolare è aumentato di 2-3 volte nei pazienti microalbuminurici ¹⁶ e almeno di 9 volte in quelli con proteinuria clinica ¹⁷. In uno studio dedicato a pazienti diabetici di tipo 2, la mortalità era significativamente aumentata (28%) nei pazienti con microalbuminuria rispetto a quelli che non l'avevano (5%) ¹⁸ e il potere predittivo della microalbuminuria persisteva anche dopo l'aggiustamento per i maggiori fattori di rischio. Inoltre, è stato osservato che l'albuminuria si correlava con maggior forza con la morte prematura da cause cardiovascolari che con l'insufficienza renale terminale. Infatti, dopo 10 anni di follow-up solo il 7% dei pazienti moriva per insufficienza renale, mentre ben il 69% moriva per infarto del miocardio, ictus o scompenso di cuore ¹⁹. In sintesi, la microalbuminuria nei pazienti diabetici di tipo 2 è più rilevante come marker di morbilità e mortalità cardiovascolare che di insufficienza renale.

È intuibile poi come, sia i diabetici di tipo 1 che di tipo 2 affetti da una

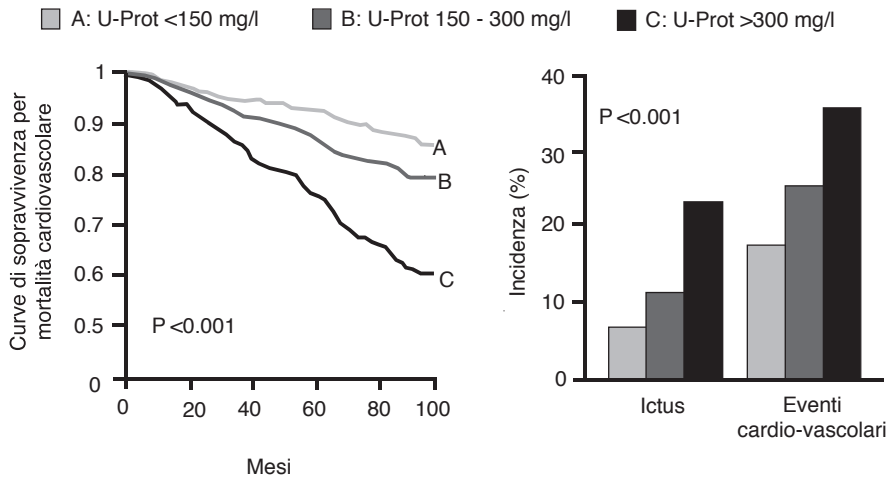


Fig. 2. La proteinuria predice l'ictus e gli eventi cardiovascolari nel diabete di tipo 2. L'incidenza di eventi cardiovascolari e di ictus nei pazienti con diabete di tipo 2, aumenta progressivamente nel passaggio dalla normoalbuminuria, alla microalbuminuria, alla proteinuria clinica. U-Prot = Proteinuria (mg/l)¹⁶.

nefropatia conclamata con proteinuria, abbiano un rischio di complicanze anche più alto di quello dei pazienti con sola microalbuminuria. Infatti, pazienti diabetici di tipo 2 con insufficienza renale terminale e con necessità di accedere ad una terapia dialitica sostitutiva, hanno una prognosi particolarmente infausta con un rischio di mortalità per causa cardiovascolare, a 3 anni, del 50%.

È infine importante rilevare come l'aumento del rischio cardiovascolare sia evidente anche se ci muoviamo all'interno dell'ambito fisiologico di escrezione urinaria dell'albumina²⁰. Il valore prognostico della albuminuria, aumenta infatti passando dall'area di normalità alla microalbuminuria e quindi alla proteinuria clinica, assumendo perciò le caratteristiche di un fattore di rischio continuo. Ad ulteriore riprova di questo concetto, lo studio Hope (Heart Outcome Prevention Evaluation) ha dimostrato un significativo incremento del rischio cardiovascolare dei soggetti diabetici, anche per minimi incrementi della concentrazione plasmatica di creatinina²¹.

L'iperglicemia rappresenta l'anello di congiunzione fra danno renale e rischio cardiovascolare. Per effetto dell'iperglicemia, una maggiore quantità di glucosio entra liberamente nelle cellule endoteliali, non insulino-dipendenti, dove causa un'eccessiva generazione mitocondriale di specie reattive di ossigeno (ROS) che, a loro volta, inducono la formazione di metilgliosale e di prodotti avanzati della glicazione (AGE). Questi sono responsabili della generazione di nuovi radicali liberi di ossigeno, della attivazione del fattore di trascrizione nucleare kB (NFkB) e, infine, della espressione di fattori di crescita e di citochine dannose per l'endotelio vasale come per le cellule glomerulari, le cellule mesangiali ed i podociti. Secondo questa visione, la microalbuminuria è espressione di una disfunzione endoteliale generalizzata che comprende i capillari glomerulari come le arterie. L'abnorme permeabilità all'albumina propria dei capillari glomerulari si traduce, a livello delle arterie, in una più faci-

le penetrazione di lipidi nella parte arteriosa che conduce alla aterosclerosi ²². Sono espressione di danno endoteliale anche l'aumento del fibrinogeno, dell'attività e dell'antigene del fattore VII, dell'antigene von Willebrand e del PAI-1 che caratterizzano lo stato protrombotico proprio del diabete.

Un legame fra microalbuminuria e rischio cardiovascolare è stato anche riconosciuto nella produzione in eccesso, indotta dall'iperglicemia, del fattore di crescita vascolare endoteliale (VEFG) ²³. L'aumento del VEFG indurrebbe un aumento della permeabilità vascolare con conseguente incremento della albuminuria e del rischio cardiovascolare.

Una volta instaurata, l'eccessiva escrezione di albumina accelera l'evoluzione della nefropatia. Infatti, il riassorbimento tubulare di albumina, in soggetti con microalbuminuria, tende a produrre necrosi tubulare e fibrosi interstiziale, dando così origine ad un circolo vizioso deleterio ²⁴ che conduce alla riduzione del filtrato glomerulare ²⁵.

Nella valutazione del rischio cardiovascolare dei pazienti diabetici, è perciò necessario tenere nel debito conto, insieme ai più classici fattori di rischio, anche la microalbuminuria o, ove presente, la proteinuria, perché l'omissione di questa informazione porterebbe ad una chiara sottovalutazione del rischio.

Studi epidemiologici ²⁶ e di intervento ^{27,28} hanno dimostrato che non soltanto la proteinuria ma anche la riduzione del filtrato glomerulare al di sotto di 60 ml/min per 1.73 m², si correla con un esito avverso consistente nell'aumento della mortalità da ogni causa e di endpoints cardiovascolari e renali. In uno studio condotto su pazienti diabetici di tipo 2 cinesi ²⁹, il rischio era manifesto anche in soggetti con insufficienza renale lieve, cioè con un filtrato glomerulare compreso fra 60 e 89 ml/min per 1.73 m², corrispondente allo stadio 2 della malattia renale.

A sottolineare il ruolo prognostico della insufficienza renale, l'analisi del decorso clinico dei diabetici di tipo 2, ipertesi, inclusi negli studi LIFE (Losartan Intervention For Endpoint reduction in hypertension) ³⁰ e RENAAL (Reduction of Endpoints in NIDDM with the Angiotensin II Receptor Antagonist Losartan) ³¹, valutati sia separatamente che in forma congiunta, ha dimostrato un aumento progressivo del rischio, per un endpoint composito costituito da infarto del miocardio, ictus e morte cardiovascolare, parallelo all'incremento della creatininemia.

Fra i meccanismi attraverso cui la disfunzione renale esplica i suoi effetti negativi, un posto preminente è occupato dal potenziamento dei classici fattori di rischio quali la dislipidemia e l'ipertensione arteriosa.

Ipertensione arteriosa

Fra i vari fattori di rischio capaci di produrre un circolo vizioso con la nefropatia diabetica, il più importante è rappresentato dall'ipertensione arteriosa. L'ipertensione arteriosa è infatti, nei pazienti diabetici, un fattore di rischio cardiovascolare di primaria importanza. Dall'UKPDS si evince che un più stretto controllo della pressione arteriosa (144/82 vs 154/87 mmHg), mantenuto per 8 anni, può produrre un netto miglioramento della prognosi ³². In particolare, si è assistito ad una riduzione del 44% della incidenza di ictus e del 56% dello scompenso di cuore. Al tempo stesso, si è registrata una riduzione del 29% della incidenza di microalbuminuria, a testimonianza del fatto che un

unico fattore è in grado di aumentare il rischio cardiovascolare e quello renale fra loro intimamente legati.

Una ipertensione arteriosa è documentabile nel 90% dei diabetici di tipo 2 con microalbuminuria³³ e, molto spesso, l'ipertensione precede quest'ultima di molti anni. Vi è anche una stretta correlazione positiva, nei pazienti diabetici di tipo 2, microalbuminurici, fra l'entità della microalbuminuria e il valore sistolico medio della pressione arteriosa delle 24 ore³⁴.

Inoltre diabetici ipertesi hanno, rispetto ai normotesi, una maggiore riduzione del filtrato glomerulare. Infine, la perdita di filtrato glomerulare in pazienti con una pressione arteriosa media di 91 mmHg è pari ad un terzo di quella dei diabetici con pressione media di 112 mmHg³⁵. Gli effetti nefrolesivi della ipertensione arteriosa sistemica, estesamente indagati, sono da riferire alla parallela ipertensione intraglomerulare che conduce alla comparsa di glomerulosclerosi.

Se è indubbio che l'ipertensione produce un danno renale, è altrettanto vero che la nefropatia, una volta instaurata, determina od aggrava l'ipertensione, in un circolo vizioso destinato a sfociare in una maggiore probabilità di eventi cardiovascolari. Infatti, durante le fasi iniziali della nefropatia diabetica, ancor prima che questa sia rilevabile clinicamente, anomalie del flusso ematico intrarenale producono un rilascio di renina dall'apparato juxtaglomerulare. La renina libera dall'angiotensinogeno angiotensina I che, a sua volta, viene convertita in angiotensina II dall'enzima di conversione (ACE) presente in molti tessuti. L'angiotensina II esercita i suoi effetti ipertensivi attraverso una potente azione diretta vasocostrittrice ed una attività idro-sodio-ritentiva mediata dall'aldosterone. Inoltre, esercita un'azione differenziata sulle arteriole glomerulari, promuovendo una vasocostrizione selettiva della arteriola efferente. Ne risulta un'ipertensione intraglomerulare che porta ad iperfiltrazione ed a danno progressivo del glomerulo. L'angiotensina aumenta infine la permeabilità della membrana basale del glomerulo, facilitando l'insorgenza della microalbuminuria e stimola la proliferazione delle cellule mesangiali e la deposizione della matrice, avviando il processo che conduce alla glomerulosclerosi.

Questi meccanismi costituiscono la base razionale per l'uso preferenziale di farmaci ACE-inibitori e, in alternativa o in associazione, di farmaci bloccanti i recettori della angiotensina II per la terapia della ipertensione arteriosa ed il controllo della nefropatia diabetica. Il trattamento per due anni con irbesartan di soggetti ipertesi con diabete di tipo 2 e microalbuminuria, ha consentito di ottenere, nei pazienti trattati con 300 mg del farmaco, in confronto con il gruppo trattato con placebo, a parità di valori di pressione arteriosa, una riduzione del 70% della evoluzione verso la nefropatia clinica³⁶. In un secondo studio, il trattamento di pazienti con diabete di tipo 2, affetti da nefropatia clinica, con irbesartan o con amlodipina ha consentito di ottenere, nei primi rispetto ai secondi, una riduzione del raddoppio della creatinina, nei due anni e mezzo di osservazione, del 37% ed una riduzione della evoluzione verso la nefropatia terminale del 23%³⁷. Risultati simili sono stati ottenuti, sia in soggetti ipertesi che normotesi, nel confronto fra valsartan ed amlodipina. A parità di valori della pressione arteriosa e di riduzione della pressione, la terapia con valsartan ha prodotto una riduzione della microalbuminuria significativamente superiore a quella ottenuta con amlodipina³⁸. Questi risultati indicano chiaramente che i bloccanti il recettore della angiotensina II, al pari degli

ACE-inibitori, esercitano sulla proteinuria un effetto reno-protettivo indipendente da quello ipotensivo (Viberti).

Dislipidemia

La dislipidemia che caratterizza il diabete mellito di tipo 2 e la sindrome metabolica che, nella stragrande maggioranza dei casi, ne sta alla base, è costituita da un aumento delle lipoproteine a molto bassa densità (VLDL) ricche in trigliceridi, da una diminuzione delle lipoproteine HDL e da un aumento delle particelle LDL piccole e dense. Nell'insieme, queste anomalie, tutte riconducibili alla resistenza insulinica di base, costituiscono, pur in assenza di un aumento del colesterolo totale o LDL, un fenotipo lipoproteico fortemente aterogeno (atherogenic lipoprotein phenotype o ALP). La riduzione delle lipoproteine HDL e particolarmente delle HDL2 preposte al trasporto inverso del colesterolo hanno la maggiore responsabilità nel determinare l'elevato rischio cardiovascolare dei pazienti diabetici. Tuttavia, anche l'aumento delle LDL piccole e ad elevata densità (fenotipo B), particolarmente suscettibili di ossidazione, contribuisce al marcato potenziale aterogeno dei pazienti diabetici. Infatti, le LDL, una volta ossidate, hanno una ridotta affinità per il recettore specifico e, pertanto, la loro clearance è rallentata e la concentrazione plasmatica aumentata.

In studi caso-controllo condotti su soggetti non diabetici, è stato dimostrato un aumento di tre volte del rischio di infarto del miocardio o di malattia coronarica evidenziata angiograficamente in presenza di LDL del fenotipo B (piccole e dense)³⁹. Studi di intervento eseguiti per correggere questa dislipidemia con l'impiego di atorvastatina o di preparati di acido nicotinico ad effetto pronto o ritardato hanno dimostrato una riduzione del rischio cardiovascolare⁴⁰.

Nel diabete di tipo 1, la dislipidemia è riconducibile al difetto di insulina, mentre, nel diabete di tipo 2 la dislipidemia è secondaria alla resistenza insulinica ed è presente anche nella sindrome metabolica che precede la comparsa del diabete. I momenti determinanti la comparsa della dislipidemia sono rappresentati dalla aumentata disponibilità di acidi grassi liberi – secondaria alla prevalenza dei fenomeni lipolitici nel tessuto adiposo viscerale – per la sintesi epatica dei trigliceridi, dalla aumentata sintesi di apoproteina B e di VLDL ricche di trigliceridi, dalla attivazione della lipasi epatica e, viceversa, dal deficit di lipoproteinlipasi. La presenza della tipica dislipidemia diabetica è il fondamento del rischio cardiovascolare dei pazienti diabetici, malgrado il colesterolo totale e quello LDL siano generalmente normali o solo di poco aumentati.

Ciò che è meno noto è che la dislipidemia può avere un ruolo causale nel determinare l'insorgenza o nell'aggravare la nefropatia diabetica⁴¹. Studi animali dimostrano che la nefropatia è accelerata dalla dislipidemia e può essere in parte ridotta con la sua correzione⁴². Inoltre, studi umani più recenti diretti a valutare l'epidemiologia della nefropatia diabetica suggeriscono che la dislipidemia può causare la nefropatia diabetica indipendentemente da altri fattori di rischio riconosciuti, come l'ipertensione e l'iperglicemia.

In studi prospettici a lungo termine, la riduzione del colesterolo HDL si è

rivelata, insieme all'aumento del colesterolo totale e LDL, un fattore di rischio indipendente per la riduzione del filtrato glomerulare ⁴³. Inoltre, studi umani diretti a seguire la progressione della microalbuminuria nei pazienti diabetici, hanno dimostrato che la dislipidemia caratterizzata dall'aumento dei trigliceridi e dalla riduzione del colesterolo HDL è il maggior predittore di una progressione rapida ⁴⁴. In oltre 12000 partecipanti allo studio ARIC (Atherosclerosis Risk in Communities study), l'aumento della concentrazione plasmatica di trigliceridi e la riduzione del colesterolo HDL si sono dimostrati efficaci predittori di malattia renale. Infine, studi di intervento condotti nell'uomo, hanno dimostrato che una terapia con statine è in grado di preservare il filtrato glomerulare e di ridurre la proteinuria in soggetti con nefropatia diabetica ⁴⁵.

Un ulteriore meccanismo riconducibile alla dislipidemia è rappresentato dalla formazione di anticorpi diretti contro le LDL ossidate e capaci di dare origine a complessi immuni. Recentemente, alla presenza di complessi immuni, costituiti da LDL ossidate e dai relativi anticorpi, è stato attribuito il peggioramento della micro e della macroalbuminuria ⁴⁶.

Se quindi è vero che la dislipidemia diabetica è, al tempo stesso, un fondamentale fattore di rischio cardiovascolare ed un elemento determinante od aggravante la nefropatia diabetica, è altrettanto vero che la nefropatia, una volta instaurata, aggrava la dislipidemia attraverso un circolo vizioso che tende ad esaltare ulteriormente il rischio cardiorenale ⁴¹.

Infatti, la nefropatia, di per sé, può provocare una dislipidemia caratterizzata da ipertrigliceridemia, riduzione del colesterolo HDL e delle particelle HDL2 ed aumento delle particelle LDL piccole e dense, del tutto simile a quella che si ritrova nei pazienti diabetici ⁴⁷. Sia nel diabete di tipo 1 che di tipo 2, la dislipidemia associata alla malattia diabetica è aggravata dalla presenza della nefropatia ^{47,48}. In presenza di nefropatia avanzata, con proteinuria clinica ed aumento della creatinemia, è stato rilevato un aumento significativo del colesterolo e dei trigliceridi associati alle IDL. I meccanismi che conducono alle anomalie dell'assetto lipoproteico del siero nei pazienti nefropatici sono riconducibili alle modificazioni subite da alcune attività enzimatiche in corso di insufficienza renale e, in particolare, all'aumento della lipasi epatica (HL), fortemente correlato con la riduzione del colesterolo HDL e con l'aumento delle particelle LDL piccole e dense ⁴⁹.

Iperglicemia

L'iperglicemia, causata dal deficit assoluto di insulina nel diabete di tipo 1 e dalla resistenza insulinica, cui si aggiunge un deficit relativo di insulina, nel diabete di tipo 2, è il *primum movens* dell'intero processo che conduce alla nefropatia diabetica e, con il contributo di questa, all'elevato rischio di malattia cardiovascolare. Il rapporto fra iperglicemia e danno microangiopatico, espresso dalla comparsa di micro e macroalbuminuria come di retinopatia, è stato chiaramente dimostrato dagli studi di intervento randomizzati e controllati eseguiti sia nel diabete di tipo 1, il DCCT (Diabetes Control and Complications Trial) ⁵⁰, che nel diabete di tipo 2, l'UKPDS (United Kingdom Prevention Diabetes Study) ⁵¹.

L'importanza del controllo glicemico nella prevenzione delle complicanze renali del diabete emerge con grande chiarezza anche dai risultati dello studio

osservazionale DCCT/EDIC ⁵². A distanza di 9 anni dalla conclusione del DCCT, tutti i pazienti che hanno accettato di continuare lo studio osservazionale, sia che fossero inizialmente in terapia intensiva o convenzionale, hanno registrato un identico valore di emoglobina glicata, intorno all'8%. Ciononostante, i pazienti che provenivano dal braccio della terapia intensiva del DCCT hanno visto una riduzione di circa il 50% della incidenza di nuovi casi di microalbuminuria o di proteinuria clinica. Significativa anche la riduzione della incidenza di nuovi casi di ipertensione arteriosa, a sottolineare la stretta relazione esistente fra diabete e nefropatia. Gli stessi pazienti hanno anche registrato una netta riduzione della incidenza di eventi cardiovascolari a testimoniare il ruolo che un controllo stretto della glicemia ha nella prevenzione delle complicanze aterosclerotiche, anche a distanza di anni dalla cessazione della terapia intensiva ⁵³.

Che le lesioni glomerulari tipiche della nefropatia diabetica siano dovute alla esposizione protratta a concentrazioni elevate di glucosio è dimostrato, infine, dalla reversibilità delle lesioni quando un rene diabetico venga trapiantato in un animale non diabetico e quindi con livelli normali di glicemia ⁵⁴. Analogamente, in pazienti diabetici affetti da una nefropatia caratterizzata da un moderato danno glomerulare, si è ottenuta la scomparsa delle lesioni glomerulari dopo 10 anni di normalizzazione della glicemia ottenuta con il trapianto di pancreas ⁵⁵.

I meccanismi biochimici attraverso cui l'iperglicemia può produrre la microangiopatia e, in particolare, la nefropatia diabetica sono i seguenti:

1. formazione intracellulare in eccesso di prodotti avanzati della glicazione (AGE)
2. attivazione della via dei polioli
3. attivazione della via delle esosamine
4. attivazione delle isoforme della proteinchinasi C (PKC).

Una ipotesi unificante attribuisce tutti i meccanismi indicati all'abnorme produzione mitocondriale di superossido causata dall'eccessivo flusso di glucosio.

Glicazione

Gli AGE si formano per effetto della reazione del glucosio o di prodotti da questo derivati (dicarbonili, gliossale, ecc.) con le proteine o altre molecole con lunga emivita quali gli acidi nucleici. La reazione, non enzimatica, procede attraverso vari stati di cui i più precoci sono reversibili, mentre i successivi, caratterizzati dalla formazione di legami crociati con le molecole proteiche sono irreversibili e, in quanto tali, provocano profonde alterazione della struttura e della funzione delle proteine glicate.

L'opinione oggi prevalente è che la formazione degli AGE, sia intracellulari che extracellulari, derivi dalla eccessiva concentrazione intracellulare di glucosio che dà origine ad una serie di composti dicarbonilici ⁵⁶. Dal glucosio può derivare infatti, per autoossidazione, gliossale, mentre dalla decomposizione di un prodotto di Amadori deriva 3-deossiglucosone e dalla frammentazione della gliceraldeide-3-fosfato, deriva metilgliossale. Tutti questi composti dicarbonilici reagiscono prontamente con le proteine intra ed extracellulari per formare AGE.

La produzione di AGE a carico delle proteine intracellulari ne altera in vario modo la funzione. Analogamente, la glicazione delle proteine della matrice extracellulare, quali il collagene, ne modifica le modalità di assemblaggio e ne riduce la velocità di turnover. Una delle conseguenze è l'ispessimento della membrana basale capillare cui corrisponde un aumento della permeabilità che favorisce il passaggio di albumina.

Nei monociti e nei macrofagi sono stati identificati recettori specifici per gli AGE. Il legame degli AGE con i propri recettori stimola i macrofagi a produrre citochine quali la interleuchina-1, il tumor necrosis factor- α o TNF- α , il transforming growth factor- β o TGF- β , l'insulin-like growth factor o IGF-1 e i fattori capaci di stimolare la formazione di colonie di macrofagi e granulociti (MCSF e GCSF). Questi fattori sono in grado di promuovere una maggiore sintesi glomerulare di collagene di tipo IV e di stimolare la chemiotassi dei macrofagi e delle cellule muscolari lisce^{57,58}. Anche nelle cellule endoteliali, sono stati identificati recettori per gli AGE che modificano l'espressione di diversi geni con effetti protrombotici e proinfiammatori^{59,60}.

Via dei polioli

L'iperglicemia esplica la sua tossicità anche attraverso l'attivazione della via dei polioli, fisiologicamente poco attiva per la ridotta affinità per il glucosio dell'enzima limitante la catena metabolica, l'aldoso-reduttasi. Questo enzima è presente nel glomerulo, nella retina, nei nervi, nel cristallino e nella parete vascolare, tessuti non insulino-dipendenti. Quando la concentrazione intracellulare di glucosio sale, per effetto della iperglicemia e della insulino-indipendenza, il glucosio viene incanalato non solo lungo la via glicolitica promossa dalla glucochinasi, ma anche lungo la via dei polioli stimolata dalla attivazione della aldoso-reduttasi. L'aldoso-reduttasi trasforma il glucosio in sorbitolo, con consumo di NADPH ossidato a NADP⁺, mentre la sorbitolo deidrogenasi trasforma il sorbitolo in fruttosio, con consumo di NAD⁺, ridotto a NADH.

Diversi sono i meccanismi proposti per spiegare il danno tessutale prodotto dalla attivazione della via dei polioli. Fra le ipotesi oggi più accreditate, vi è quella secondo cui l'aumento del rapporto citosolico NADH/NAD⁺ inibirebbe l'enzima glicer aldeide-3-fosfato (GAPDH) con conseguente incremento della concentrazione intracellulare di trioso-fosfati. Dai trioso-fosfati deriverebbe, infatti, la formazione di metilgliosale, un composto molto attivo nella glicazione proteica e nella formazione di AGE e di diacilglicerolo (DAG), originato dal glicerolo-3-fosfato, che attiva la protein-chinasi C (PKC).

Un'altra ipotesi è quella che fa riferimento alla riduzione della concentrazione intracellulare di NADPH, coenzima necessario per la rigenerazione del glutatione ridotto (GSH) ad opera della glutatione-reduttasi. Il difetto di GSH potrebbe indurre od accentuare una condizione di stress ossidativo.

Via delle esosamine

L'eccesso di glucosio intracellulare determina anche una eccessiva sintesi di glucosamina-6-fosfato. Questa deriva dalla interazione del fruttosio-6-fosfato prodotto dalla glicolisi con la glutamina. La glucosamina-6-fosfato viene trasformata a sua volta in UDP-N-acetilglucosamina responsabile della glicazione di una serie di fattori di trascrizione e, quindi, della aumentata espres-

sione dei geni preposti alla sintesi dell'inibitore dell'attivatore del plasminogeno o PAI-1 e del transforming growth factor- β 1 o TGF- β 1.

Attivazione della PKC

Un importante ruolo nella interpretazione della glicotossicità è stato attribuito alla attivazione della PKC, un enzima capace di fosforilare diverse proteine, di cui esistono diverse isoforme e suscettibile di attivazione da parte del diacilglicerolo o DAG. L'attivazione della PKC, in condizioni di iperglicemia, deriva dalla aumentata formazione di trioso-fosfati attraverso la via glicolitica e dalla inibizione della glicerinaldeide-3-fosfato-deidrogenasi indotta dall'aumento del rapporto NADH/NAD⁺, secondario all'attivazione della via dei polioli. Sia nella retina che nei glomeruli di animali diabetici, è stata dimostrata l'attivazione delle isoforme β e δ della PKC⁶¹. L'attivazione della PKC produrrebbe una riduzione della produzione di NO ed un aumento della produzione di endotelina da parte del glomerulo con conseguente riduzione del flusso sanguigno, una stimolazione della via MAP-chinasica nelle cellule mesangiali glomerulari con conseguente stimolo alla proliferazione cellulare, un accumulo di proteine della matrice, un aumento della permeabilità delle cellule endoteliali, una aumentata espressione del PAI-1 e l'attivazione del fattore nucleare κ B (NF κ B) che svolge un ruolo centrale nel meccanismo della infiammazione.

La molteplicità degli effetti prodotti dalla attivazione della PKC ha fatto ritenere che questo meccanismo avesse un'importanza determinante nella patogenesi delle complicanze del diabete ed ha indotto la ricerca farmacologica a produrre un inibitore specifico dell'isoforma β dell'enzima che, nell'animale da esperimento, si è rilevato efficace nel ridurre l'entità della microalbuminuria e della espansione mesangiale del glomerulo.

Stress ossidativo

In realtà, studi più recenti hanno dimostrato il ruolo centrale svolto dalla formazione di superossido e di altri radicali liberi di ossigeno da parte del ciclo degli acidi tricarbossilici della catena respiratoria mitocondriale per l'eccessivo afflusso di glucosio⁶². Infatti l'inattivazione del superossido da parte della manganese superossido dismutasi è in grado di neutralizzare gli effetti dell'iperglicemia. In questa ottica, sia l'attivazione della via dei polioli che della glucosamina, al pari della formazione degli AGE e della attivazione della PKC sarebbero fenomeni secondari, derivati dalle azioni esercitate, ai diversi livelli, dai radicali liberi di ossigeno. Queste osservazioni aprono la strada al possibile impiego di antiossidanti come strumento di prevenzione della nefropatia diabetica secondaria ad un aumento dello stress ossidativo.

L'iperglicemia, oltre che essere causa di microangiopatia, rappresenta anche un fattore di rischio per la patologia cardiovascolare. Ciò è stato dimostrato in molti studi epidemiologici⁶³⁻⁶⁵, ma non in maniera conclusiva in studi prospettici di intervento eseguiti nel diabete di tipo 2. Infatti, il più autorevole studio clinico controllato e randomizzato, impostato per dare una risposta definitiva a questo quesito, l'UKPDS (UK Prospective Diabetes Study), mentre ha dimostrato un chiaro effetto di prevenzione del controllo metabolico sulla insorgenza delle complicanze microvascolari, ha fornito risultati equivoci

per quanto concerne le complicanze cardiovascolari, con un effetto di prevenzione dell'infarto del miocardio del 16%, ai limiti della significatività statistica ($p=0.06$)⁵¹. A prescindere dalle limitazioni intrinseche dello studio – che, in conformità agli indirizzi terapeutici allora vigenti, non aveva previsto un tempestivo potenziamento della terapia ipoglicemizzante per evitare il progressivo deterioramento del controllo metabolico – i risultati ottenuti possono essere interpretati positivamente alla luce delle informazioni derivate, più recentemente, dallo studio DCCT/EDIC.

A distanza di 9 anni dalla conclusione del DCCT, tutti i pazienti che avevano accettato di continuare lo studio osservazionale, sia che fossero inizialmente in terapia intensiva o convenzionale, hanno registrato un identico valore di emoglobina glicata, intorno all'8%. Cionostante, i pazienti che provenivano dal braccio della terapia intensiva del DCCT hanno visto una riduzione del 42% di ogni evento cardiovascolare e del 57% di un endpoint composito rappresentato da infarto del miocardio non fatale, ictus e morte. I risultati testimoniano in modo chiaro il ruolo che un controllo stretto della glicemia ha nella prevenzione delle complicanze cardiovascolari, anche a distanza di anni dalla cessazione della terapia intensiva⁵³. Lo studio DCCT/EDIC è rivolto a pazienti affetti da diabete di tipo 1 ma non vi sono motivi per ritenere che i risultati ottenuti, a riprova della glicotossicità cardiovascolare, non siano estensibili anche al diabete di tipo 2.

Che l'iperglicemia sia l'elemento determinante per la comparsa della microangiopatia ed uno degli elementi causali delle complicanze cardiovascolari, può ritenersi perciò dimostrato da un'ampia evidenza clinica e sperimentale. Non altrettanto noti sono gli effetti che il rene, ancor prima della insorgenza della nefropatia o subito dopo il suo esordio, può esercitare sulla stessa iperglicemia, potenziandola attraverso un circolo vizioso comune a tutti i fattori di rischio cardiorenale.

È stato infatti dimostrato che il rene contribuisce alla genesi della iperglicemia attraverso una eccessiva produzione e rilascio di glucosio (neoglucogenesi)⁶⁶. Infatti, la liberazione di glucosio da parte del rene è simile quantitativamente al glucosio liberato dal fegato durante lo stato post-absorbitivo. Se valutato in termini percentuali, si scopre che, nei soggetti diabetici, la produzione di glucosio da parte del rene è aumentata del 300% contro solo il 30% della produzione epatica. Parallelamente, si assiste tuttavia ad un aumento della captazione renale di glucosio che tende ad eguagliare l'eccesso di produzione, con una neutralizzazione parziale del suo effetto.

È stato inoltre osservato come, già nelle fasi iniziali della nefropatia, si assista ad un deterioramento del controllo metabolico rispetto a soggetti sicuramente indenni dalla malattia renale⁶⁷ e come perciò, anche attraverso questa via, si giunga ad una accentuazione della iperglicemia.

La sindrome metabolica

Il diabete di tipo 2 rappresenta, nella quasi totalità dei casi, il punto di arrivo della sindrome metabolica, intendendosi con questa denominazione una aggregazione di fattori di rischio cardiovascolare che tendono a raggrupparsi nello stesso individuo e nello stesso ceppo familiare. La definizione oggi più accreditata di sindrome metabolica è quella proposta dal NCEP ATP III che

prevede la contemporanea presenza di almeno tre dei cinque fattori di rischio considerati: obesità viscerale, definita come circonferenza alla vita superiore a 102 cm nell'uomo e 88 cm nella donna, ipertensione arteriosa (valori superiori a 130/85 mmHg), aumento della concentrazione plasmatica di trigliceridi (superiore a 150 mg/dl), riduzione del colesterolo HDL (inferiore a 40 mg/dl nell'uomo e a 50 mg/dl nella donna) e iperglicemia, ivi inclusa la alterata glicemia a digiuno o IFG (compresa fra 101 e 125) ⁴.

La valutazione di un ampio campione di popolazione (oltre 6000 persone), compreso nella third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III) ha dimostrato una forte e significativa correlazione positiva fra la sindrome metabolica, da un lato, e la microalbuminuria e la malattia cronica renale, definita come riduzione del filtrato glomerulare al di sotto di 60 ml per 1.73 cm², dall'altro. Lo studio ha anche dimostrato come il rischio aumenti progressivamente con l'aumentare del numero dei componenti della sindrome metabolica ^{68,69}.

Una componente fondamentale della sindrome metabolica è l'obesità viscerale. Dalla elaborazione di alcuni dati tratti dallo studio DCCT/EDIC è emerso che è proprio il grasso intra-addominale e non il grasso sottocutaneo ad esser correlato con la comparsa di microalbuminuria, in maschi diabetici di tipo 1 ⁷⁰.

Altri studi hanno dimostrato l'esistenza di una associazione fra insulino-resistenza e microalbuminuria anche in soggetti non ancora diabetici ⁷¹. Anche fra i partecipanti non diabetici alla NHANES III, la resistenza insulinica, valutata con il metodo HOMA è stata associata all'aumento del rischio di malattia renale cronica ⁷².

Sebbene i meccanismi che legano l'obesità e la sindrome metabolica non siano sufficientemente chiari, è possibile ipotizzare che l'infiammazione subcronica che caratterizza il tessuto adiposo intra-addominale abbia un ruolo nel determinare il danno renale e la disfunzione endoteliale attraverso la liberazione di composti pro-infiammatori da parte degli adipociti insulino-resistenti. L'aumentata secrezione di proteina C reattiva (CRP), leptina, interleuchina 6, e TNF- α può essere coinvolta nella genesi del danno renale ^{73,74}. D'altro canto, l'adiponectina, alla quale sono riconosciute proprietà anti-diabetogene e di protezione cardiovascolare e che è l'unica adipochina prodotta in difetto nella sindrome metabolica, si correla in maniera inversa con la presenza di danno renale in soggetti diabetici di tipo 2 ⁷⁵.

La disfunzione renale con microalbuminuria e riduzione del filtrato glomerulare può quindi precedere il diabete, così come avviene per le complicanze cardiovascolari, riconoscendo la sua causa nei fattori di rischio che caratterizzano la sindrome metabolica che del diabete può essere considerata l'antefatto.

Conclusioni

La storia naturale del diabete è caratterizzata da una elevata incidenza di eventi cardiovascolari e di nefropatia cronica. I fattori di rischio che conducono al danno renale ed a quello aterosclerotico sono i medesimi e si identificano nella ipertensione arteriosa, nella iperdislipidemia, nella stessa iperglicemia, ma anche nella obesità viscerale e nello stato proinfiammatorio e protromboti-

co che caratterizza il diabete come la sindrome metabolica. Fra la nefropatia ed alcuni fattori di rischio si stabilisce una sorta di circolo vizioso che tende inevitabilmente a peggiorare la prognosi. La nefropatia produce ipertensione arteriosa che a sua volta peggiora la nefropatia ed entrambe sono fattori di rischio cardiovascolare. La dislipidemia diabetica contribuisce all'aggravamento della nefropatia che, di per sé, può essere causa di una alterazione dello spettro lipidico del siero. L'insufficienza renale determina un incremento della concentrazione plasmatica di markers infiammatori e, al tempo stesso, una infiammazione subcronica come quella che sottende il diabete e la sindrome metabolica può essere un fattore di aggravamento della malattia renale.

Per interrompere la catena di eventi che dall'iperglicemia conduce alle complicanze cardiovascolari e alla insufficienza renale è perciò necessario intervenire precocemente e intensamente, correggendo quanto più possibile tutti i fattori di rischio presenti. Lo studio Steno 2⁷⁶ dimostra l'efficacia di questo approccio terapeutico.

BIBLIOGRAFIA

- 1) *Castelli WP*. Epidemiology of coronary heart disease: the Framingham study. *Am J Med* 1984; 76:4-12
- 2) *Haffner SM, Lehto S, Ronnema T et al*. Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in non diabetic subjects with and without prior myocardial infarction. *N Engl J Med* 1998; 338:229-34
- 3) *Malmberg K, Yusuf S, Gerstein HC et al*. Impact of Diabetes on long-term prognosis in patients with unstable angina and non-Q-wave myocardial infarction: results of the OASIS (Organisation to assess Strategies for Ischemic Syndromes) Registry. *Circulation* 2000; 102:1014-19
- 4) Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III): *JAMA* 2001; 285:2486-97
- 5) *Ruilope LM, van Veldhuisen DJ, Ritz E et al*. Renal function: the Cinderella of cardiovascular profile. *J Am Coll Cardiol* 2001; 38:1782-87,5
- 6) USRDS 2004 Annual report data
- 7) *Mackin P, Macleod JM, New JP et al*. Renal function in long-duration type 1 diabetes. *Diabetes Care* 1996; 19:249-51
- 8) *The Microalbuminuria Collaborative Study Group*. Predictors of the development of microalbuminuria in patients with type 1 diabetes mellitus: a seven year prospective study. *Diabet Med* 1999; 18:918-25
- 9) *Myers BD, Nelson RG, Tan M et al*. Progression of overt nephropathy in non-insulin dependent diabetes. *Kidney Int* 1995; 47:1781-85
- 10) *Marshall SM, Alberti KG*. Comparison of the prevalence and associated features of abnormal albumin excretion in insulin-dependent and non-insulin-dependent diabetes. *Q Med J* 1989; 70:61-71
- 11) *Forsblom CM, Groop PH, Ekstrand A et al*. Predictors of progression from normal albuminuria to microalbuminuria in NIDDM. *Diabetes Care* 1998; 21:1932-38
- 12) *Schmitz A, Vaeth M, Mogensen CE*. Systolic blood pressure relates to the rate of progression of albuminuria in NDDM. *Diabetologia* 1994; 37:1251-58
- 13) *Deckert T, Yokoyama H, Mathiesen E et al*. Cohort study of predictive value of urinary albumin excretion for atherosclerotic vascular disease in patients with insulin dependent diabetes. *BMJ* 1996; 312:871-74

- 14) *Borch-Johnsen K, Kreiner S*. Proteinuria: Value as predictor of cardiovascular mortality in insulin diabetes mellitus *BMJ* 1989; 294:1651-54
- 15) *Rossing P, Honggaard P, Borch-Johnsen K et al*. Predictors of mortality in insulin dependent diabetes: 10 years follow-up study. *BMJ* 1996; 313:779-84
- 16) *Dinneen SF, Gerstein HC*. The association of microalbuminuria and mortality in non-insulin-dependent diabetes mellitus. A systematic overview of the literature. *Arch Intern Med* 1997; 157:1413-18
- 17) *Miettinen H, Haffner SM, Lehto S et al*. Proteinuria predicts stroke and other cardiovascular disease events in non diabetic and non-insulin-dependent diabetic subjects. *Stroke* 1996; 27:2033-2035
- 18) *Fuller JH, Stevens LK, Wang SL*. Risk factors for cardiovascular mortality and morbidity: the WHO Multinational Study of Vascular Disease in Diabetes. *Diabetologia* 2001; 44(suppl 2):S54-64
- 19) *Pourjabbar A, Lapointe N, Ronleau JL*. Angiotensin receptor blockers: Powerful evidence with cardiovascular outcomes? *Can J Cardiol* 2002; 18 (Suppl A):7A-11A
- 20) *Parving HH, Mauer M, Ritz E*. Diabetic nephropathy, in: *The Kidney*, 7th edition, editor: Brenner BM, Saunders, Philadelphia, 2004; 1777-818
- 21) *MacLeod JM, Lutale J, Marshall SM*. Albumin excretion and vascular deaths in NIDDM. *Diabetologia* 1995; 38:610-16
- 22) *Mann JF, Gerstein HC, Pogue J et al*. Renal insufficiency as a predictor of Cardiovascular outcomes and the impact of ramipril: the HOPE randomized trial. *Ann Intern Med* 2001; 134:629-36
- 23) *Yuyun MF, Khaw KT, Luben R et al*. Microalbuminuria independently predicts all-cause and cardiovascular mortality in a British population: the European Prospective Investigation into Cancer in Norfolk (EPIC-Norfolk) population study. *International J Epidemiol* 2004; 33:189-98
- 24) *Asselberg FW, de Boer RA, Diercks GFH et al*. Vascular endothelial growth factor: the link between cardiovascular risk factors and microalbuminuria? *Int J Cardiol* 2004; 93:211-15
- 25) *Eddy AA*. Interstitial nephritis induced by protein-overload proteinuria. *Am J Pathol* 1989; 135:719-33
- 26) *Remuzzi G, Bertani A*. Is glomerulosclerosis a consequence of altered glomerular permeability to macromolecules? *Kidney Int* 1990; 38:384-94
- 27) *Go AS, Chertow GM, Fan D et al*. Chronic kidney disease and the risk of death, cardiovascular events and hospitalization. *N Engl J Med* 351; 1296-305
- 28) *Anavekar NS, McMurray JJ, Velasquez EJ et al*. Relation between renal dysfunction and cardiovascular outcomes after myocardial infarction. *N Engl J Med* 2004; 351:1285-95
- 29) *Levin A, Djurdjev O, Barrett B et al*. Cardiovascular disease in patients with chronic kidney disease: getting to the heart of the matter. *Am J Kidney Dis* 2001; 38:1398-407
- 30) *So WY, Kong APS, Ma RCW et al*. Glomerular filtration rate, cardiorenal end points, and all cause mortality in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 2006; 29:2046-52
- 31) *Dalhof B, Devereux RB, Kjeldsen SE et al*. Cardiovascular morbidity and mortality in the Losartan Intervention For Endpoint reduction in hypertension study (LIFE): a randomised trial against atenolol. *Lancet* 2002; 359:995-1003
- 32) *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. *N Engl J Med* 2001; 345:861-69
- 33) *UK Prospective Diabetes Prospective Study group*. Tight blood pressure control and risk of macrovascular and microvascular complications in the type 2 diabetes: UKPDS 38. *BMJ* 1998; 317:703-13

- 34) *Tarnow L, Rossing P, Gall MA.* Prevalence of arterial hypertension in diabetic patients before and after the JNC-V. *Diabetes Care* 1994; 17:1247-51
- 35) *Schmitz A, Mau Pedersen M, Hansen KW.* Blood pressure by 24 h in ambulatory recording in type 2 (non-insulin-dependent) diabetics. Relationship to urinary albumin excretion. *Diabete Metab* 1991; 17:301-7
- 36) *Hovind P, Rossing K, Tarnow L et al.* Progression of diabetic nephropathy. *Kidney Int* 2001; 59:702-9
- 37) *Parving HH, Lehmert H, Bruchner-Mortensen J et al.* The effect of irbesartan on the development of diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2001; 345: 870-78
- 38) *Lewis EJ, Hunsicher LG, Clarke WR et al.* Renoprotective effect of angiotensin-receptor antagonist irbesartan in patients with nephropathy due to type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2001; 345:651-60
- 39) *Viberti G, Wheeldon NM and for the MicroAlbuminuria Reduction with VALsartan (MARVAL) Study Investigators.* Microalbuminuria reduction with valsartan in patients with type 2 diabetes mellitus: a blood pressure independent effect. *Circulation* 2002; 106:627-28
- 40) *Austin MA, Breslow JL, Hennekens CH et al.* Low-density lipoprotein subclass patterns and risk of myocardial infarction. *JAMA* 1998; 260:1917-21
- 41) *Miller BD, Alderman EL, Haskell WL et al.* Predominance of dense low-density lipoprotein particles predicts angiographic benefit of therapy in the Stanford Coronary Risk Intervention Project. *Circulation* 1996; 94:2146-53
- 42) *Charles MA, Selam JL.* Cyclic relationship between diabetic nephropathy and cardiovascular risk factors. *Metabolic Syndrome and Related Disorders* 2006; 3:203-12
- 43) *Harris KPG, Purkerson ML, Yates J et al.* Lovastatin ameliorates the development of glomerulosclerosis and uraemia in experimental nephrotic syndrome. *Am J Kidney Dis* 1997; 15:16-23
- 44) *Appel GB, Radhakrishnan J, Avram MM et al.* Analysis of metabolic parameters as predictors of risk in the RENAAL Study. *Diabetes care* 2003; 26:1402-7
- 45) *Smulders YM, Rakic M, Stehouwer CDA et al.* Determinants of progression of microalbuminuria in patients with NIDDM. *Diabetes care* 1997; 20:999-1005
- 46) *Bianchi S, Bigazzi R, Caiazza A et al.* A controlled, prospective study of the effects of atorvastatin in proteinuria and progression of kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2003; 41:565-70
- 47) *Atchley DH, Lopes-Virella MF, Zheng D et al.* Oxidized LDL-anti-oxidized LDL immune complexes and diabetic nephropathy. *Diabetologia* 2002; 45:1562-71
- 48) *Sibley SD, Hokanson JE, Steffes MW et al.* Increased small, dense LDL and intermediate-density lipoprotein with albuminuria in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 1999; 22:1165-70
- 49) *Nielsen FS, Voldsgarrd AI, Gall MA et al.* Apolipoprotein (a) and cardiovascular disease in type 2 (non-insulin-dependent) diabetic patients with and without nephropathy. *Diabetologia* 1993; 36:438-44
- 50) *Packard CJ, Shephard J.* Lipoprotein heterogeneity and apolipoprotein B metabolism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 3542-56
- 51) *Diabetes Control and Complication Trial Research group.* The effect of intensive treatment of Diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1993; 329:977-86
- 52) *UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group:* Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* 1998; 352:837-853
- 53) *DCCT/EDIC Study Research Group.* Sustained effect of intensive treatment of type 1 diabetes mellitus on development and progression of diabetic nephropathy. The Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (EDIC) Study.

- JAMA 2003; 290: 2159-67
- 54) *DCCT/EDIC Study Research Group*. Intensive diabetes treatment and cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes. *N Engl J Med* 2005; 353:2643-53
 - 55) *Lee CS, Mauer SM, Brown DM et al*. Renal transplantation in diabetes mellitus in rats. *J Exp Med* 1974; 139: 793-800
 - 56) *Fioretto P, Steffes MW, Sutherland DE et al*. Reversal of lesions of diabetic nephropathy after pancreas transplantation. *N Engl J Med* 1998; 339:69-75
 - 57) *Wells-Knecht KJ, Zyzac DV, Litchfield JE et al*. Mechanism of autoxidative glycosylation: identification of glyoxal and arabinose as intermediates in the autoxidative modification of proteins by glucose. *Biochemistry* 1995; 34:3702-9
 - 58) *Vlassara H, Brownlee M, Manogue KR et al*. Cachectin/TNF and IL-1 induced by glucose-modified proteins: role in normal tissue remodeling. *Science* 1988; 240:1546-8
 - 59) *Pugliese C, Pricci F, Romeo et al*. Upregulation of mesangial growth factor and extracellular matrix synthesis by advanced glycation end products via a receptor-mediated mechanism. *Diabetes* 1997; 46:1881-7
 - 60) *Schmidt AM, Crandall J, Hori O et al*. Elevated plasma levels of vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) in diabetic patients with microalbuminuria: a marker of vascular dysfunction and progressive vascular disease.
 - 61) *Vlassara H, Fuh H, Donnelly T et al*. Advanced glycation end-products promote adhesion molecule (VCAM-1, ICAM-1) expression and atheroma formation in normal rabbits. *Mol Med* 1995; 96:1395-403
 - 62) *Derubertis FR, Crafen PA*. Activation of protein kinase C in glomerular cells in diabetes: mechanism and potential links to the pathogenesis of diabetic glomerulopathy. *Diabetes* 1994; 43:1-8
 - 63) *Korshunov SS, Skulacev VP, Starkov AA*. High Protonic potential actuates a mechanism of production of reactive oxygen species in mitochondria. *FEBS Lett* 1997; 416:15-18
 - 64) *Stamler J, Vaccaro O, Neaton JD et al*. Diabetes, other risk factors, and 12-year cardiovascular mortality for men screened in The Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Diabetes Care* 1993; 16:434-443
 - 65) *Turner RC, Millns H, Neil HAW et al*. Risk factors for coronary artery disease in non-insulin-dependent diabetes mellitus: United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS:23). *Br Med J* 1998; 316:823-8
 - 66) *Coutinho M, Gerstein H, Wang Y et al*. The relationship between glucose and incident cardiovascular events. A metaregression analysis of published data from 20 studies of 95,783 individuals followed for 12.4 years. *Diabetes Care* 1999; 22:233-40
 - 67) *Gerich JE, Meyer C, Woerle HJ et al*. Renal gluconeogenesis. Its importance in human glucose homeostasis. *Diabetes Care* 2001; 24:382-91
 - 68) *Tarnow L, Hovind P, Teerlink T et al*. Elevated plasma asymmetric dimethylarginine as a marker of cardiovascular morbidity in early diabetic nephropathy in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2004; 27:765-69
 - 69) *Ford ES, Giles WH, Dietz WH*. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA* 2002; 287:356-9
 - 70) *Chen J, Muntner P, Hamm L et al*. The metabolic syndrome and chronic kidney disease in U.S. adults. *Ann Intern Med* 2004; 140: 167-74
 - 71) *Sibley SD, de Boer IH, Steffes MW et al*. Intra-abdominal fat and elevated urine albumin excretion in men with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2007; 30:1898-1900
 - 72) *Hoehner CM, Greenlund KJ, Rith-Najarian S et al*. Association of the insulin resistance syndrome and microalbuminuria among nondiabetic native Americans. The Inter-Tribal Heart Project. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13:1626-34
 - 73) *Chen J, Muntner P, Hamm LL et al*. insulin resistance and risk of chronic kidney disease in nondiabetic US adults. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14:469-77

- 74) *Wisse BE*. The inflammatory syndrome: the role of adipose tissue cytokines in metabolic disorders linked to obesity. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15:2792-800
- 75) *Locatelli F, Pozzoni P, Del Vecchio L*. Renal manifestations in the metabolic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17:S81-S85
- 76) *Lin J, Hu FB, Curhan G*. Serum adiponectin and renal dysfunction in men with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2007; 30:239-44
- 77) *Gaede P, Vedel P, Larsen N et al*. Multifactorial Intervention and cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2003; 348:383-93