

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE DEL FARMACO

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN FARMACIA

TESI DI LAUREA

MALATTIA RENALE CRONICA: PATOGENESI E TERAPIE

Relatore: Chiar.ma Prof.ssa Maria Teresa Conconi

Laureanda: Zaira Giardina Papa

1192723

Anno Accademico 2022-2023

INDICE

INTRODUZIONE	1
CAPITOLO 1	3
MALATTIA RENALE CRONICA (CKD)	3
1.1 Classificazione	4
1.2 Epidemiologia	5
1.3 Eziologia e manifestazioni cliniche	6
1.4 Complicanze della CKD e routine di gestione	9
CAPITOLO 2	12
MECCANISMI MOLECOLARI DELLA CKD	12
2.1 Disfunzione mitocondriale nei reni	12
2.2 Meccanismo fibrotico renale e ‘nicchia fibrotica’	13
2.3 Rarefazione vascolare	17
2.4 Epigenetica e fibrosi renale	18
CAPITOLO 3	20
BIOMARCATORI E TERAPIE PER LA CKD	20
3.1 Biomarcatori CKD	20
3.2 Terapie per la fibrosi renale	21
3.3 Farmaci mirati ai miofibroblasti	22
3.4 Farmaci mirati ai mitocondri per le malattie renali	22
CAPITOLO 4	24
NEFRITE INTERSTIZIALE ACUTA INDOTTA DA FARMACI	24
4.1. Determinante antigenico e reazioni di ipersensibilità a farmaci	24
4.2 Reazione infiammatoria renale della DI-AIN	26

4.3 Farmaci che inducono AIN	28
4.4 Gestione della reazione di ipersensibilità a farmaci	30
CONCLUSIONE	31
BIBLIOGRAFIA	32

INTRODUZIONE

La malattia renale cronica è una patologia che comporta la perdita progressiva della funzionalità renale; molto diffusa nella popolazione, la sua eziologia risulta multifattoriale.

Nel presente elaborato ne sono state analizzate le diverse cause, principalmente in riferimento a malattie croniche preesistenti che conducono l'organismo verso processi patologici concernenti il rene, con conseguente insorgenza di lesioni, infiammazioni, malfunzionamento d'organo fino alla comparsa di fibrosi tissutale renale.

La malattia renale cronica appare in principio asintomatica. Nel raggiungimento degli stadi più avanzati della malattia emergono sintomi associati a complicanze intrinseche alla disfunzione che colpisce il rene. Tali complicanze vengono valutate e monitorate tramite routine di gestione specifiche.

Manifestazione caratteristica della malattia allo stadio finale è la fibrosi renale, definita da un'eccessiva deposizione di matrice extracellulare che porta a cicatrizzazione tissutale progressiva.

L'attenzione è stata quindi riposta sull'illustrazione dei meccanismi molecolari alla base di questo processo e sulla descrizione dei principali tipi di cellule coinvolte nella 'nicchia fibrotica' da cui ha origine la fibrosi d'organo. L'interazione tra parenchima danneggiato e le diverse linee cellulari non parenchimali risulta di complessa determinazione, tenendo anche in considerazione che i principali protagonisti di questo processo – i miofibroblasti – hanno origine diversificata e vasta. Cambiamenti epigenetici prendono parte alla regolazione della fibrosi e la loro natura reversibile concede il vantaggio di arrestare o invertire il processo tramite strategie terapeutiche.

La scoperta di nuovi biomarcatori del danno fibrotico ha favorito la possibilità di una determinazione migliore dello stadio di malattia.

L'analisi dei meccanismi molecolari implicati nella malattia ha permesso di fare una breve panoramica delle terapie in via di sviluppo -o già in commercio- rivolte a ritardare la progressione della malattia renale.

A conclusione del percorso si è voluta infine descrivere la reazione di ipersensibilità a farmaci da cui ha origine la nefrite interstiziale acuta, la quale può evolvere in malattia renale cronica. Sono state prese in esame le principali classi di farmaci implicate,

soffermandosi in particolare sul concetto di determinante antigenico e i successivi riconoscimento, elaborazione e reazione nel rene.

CAPITOLO 1

Malattia renale cronica (CKD)

Tutte le informazioni contenute in questo capitolo sono tratte da Ammirati (2020), Vaidya e Aeddula (2024) e Arnold e Buelt (2020) .

La malattia renale cronica (CKD) è una sindrome clinica irreversibile che deriva dall'alterazione immutabile della funzione e/o della struttura del rene. Ha uno sviluppo lento e progressivo e viene diagnosticata grazie a tre possibili indicatori: un valore di velocità di filtrazione glomerulare (GFR) pari o minore a $60 \text{ mL/min/1,73 m}^2$ che persiste per tre mesi o più (indipendentemente dalla causa) in un paziente adulto; dalla presenza di lesioni della struttura renale individuate da studi di imaging o da biopsie renali; da anomalie del sedimento urinario o del tasso di escrezione urinaria di albumina. La perdita progressiva della funzionalità renale può portare all'esigenza di una terapia renale sostitutiva che consiste nella dialisi o nel trapianto d'organo.

La decisione di iniziare la dialisi in un paziente con CKD necessita, da parte del medico, di una riflessione riguardo parametri soggettivi e oggettivi come aspetti psicologici, qualità della vita, valutazione del nefrologo sullo stato di salute del paziente, i rischi associati, il declino della funzionalità renale. Non sono presenti intervalli misurabili tramite analisi che indichino la necessità di iniziare la dialisi; tuttavia, non appena il paziente presenta una GFR molto ridotta in concomitanza con sintomi come nausea, vomito, sonnolenza, perdita di peso, singhiozzo, è necessario richiedere la terapia renale sostitutiva agli organi competenti. La dialisi sembra aumentare la sopravvivenza, al costo di un aumento significativo dei ricoveri, delle procedure invasive e della morte in ospedale.

Per quanto riguarda invece la definizione della cronicità della CKD, i pazienti devono essere sottoposti nell'intervallo di tre mesi a tre test, due dei quali sono tenuti a risultare positivi. Quando ad un paziente viene rilevata una GFR inferiore a $60 \text{ mL/min/1,73 m}^2$ è fondamentale prestare attenzione ai risultati degli esami del sangue e delle urine precedenti e alla storia clinica per determinare se la causa sia legata ad un danno renale acuto (AKI) o a una CKD asintomatica.

1.1 Classificazione

Esistono due modelli di classificazione della CKD: il primo si basa sui valori di GFR e suddivide la malattia in sei categorie (figura 1), mentre il secondo è fondato sul valore di albuminuria delle 24 ore e suddivide la malattia in tre stadi, dove ogni stadio è sotto categorizzato in base al rapporto albumina-creatinina urinaria analizzati in un campione di urina al mattino presto (figura 2). Queste classificazioni sono utilizzate come metodo per valutare il rischio di avanzamento della disfunzione renale (figura 3).

Se necessario, si può acquisire una previsione più precisa del rischio grazie allo sviluppo di appositi modelli di previsione, strumenti che possono aiutare nella gestione della malattia, incluso il momento in cui indirizzare i pazienti a un consulto nefrologico o a un trapianto.

Fasi	Valore GFR ml/ min/1,73m ²	Classificazione
I	>90	Normale o alto
II	60-89	Leggermente diminuito
III A	45-59	Da lieve a moderatamente ridotta
III B	30-44	Da moderatamente a gravemente sguallito
IV	15-29	Gravemente diminuito
V	<15	Insufficienza renale

Figura 1. Classificazione CKD in base ai valori di GFR tratta da Ammirati (2020)

Categoria	Albuminuria delle 24 ore mg/24 h	Rapporto A/C Mg/g	Classificazione
A1	<30	<30	Da normale a discreto
A2	30-300	30-300	Moderato
A3	>300	>300	Grave

Figura 2. Classificazione CKD in base ai valori di albuminuria tratta da Ammirati (2020)

Albuminuria				
	GFR	<30 mg/g	30-300 mg/g	>300 mg/g
Stage 1	≥90	Low risk	Moderate risk	High risk
Stage 2	60-89	Low risk	Moderate risk	High risk
Stage 3A	45-59	Moderate risk	High risk	Very high risk
Stage 3B	30-44	High risk	Very high risk	Very high risk
Stage 4	15-29	Very high risk	Very high risk	Very high risk
Stage 5	<15	Very high risk	Very high risk	Very high risk

Figura 3. Rischio di esiti renali in base a GFR e albuminuria tratta da Ammirati (2020)

Oltre ai valori della GFR e dell'albuminuria, per la stima della prognosi vanno presi in considerazione anche la causa della malattia e altri fattori personali come per esempio sesso, età, etnia, livelli di colesterolo, fumo.

Queste classificazioni aiutano le figure professionali nella determinazione del metodo e dell'intensità di monitoraggio da adottare per i pazienti. La diagnosi precoce è difatti fondamentale per mettere in atto interventi terapeutici tempestivi e rallentare così la progressione della CKD fino allo stadio terminale, facilitando l'aggiustamento della dose dei farmaci e consentendo, se indicato, una preparazione alla terapia renale sostitutiva più opportuna.

Un aspetto negativo dell'uso dei sistemi di classificazione è l'eventuale sovradiagnosi della CKD. Le raccomandazioni suggeriscono una singola GFR basata sulla misurazione della cistatina-C, se disponibile, in modo da ridurre l'influenza di età, sesso e massa muscolare rispetto alla creatinina nei pazienti con GFR inferiore a 60 mL/min/1,73m². In tal modo si può ridurre l'errore di classificazione della CKD fino al 40% dei pazienti e si arriva a uno stadio di classificazione più elevato per il 25% dei pazienti con CKD.

1.2 Epidemiologia

La CKD è una malattia molto diffusa nella popolazione adulta. L'incidenza e la prevalenza della malattia non sono di facile determinazione a causa dell'essenza asintomatica della malattia nello stadio iniziale e moderato. La prevalenza dipende dal metodo utilizzato per definire la malattia. I dati indicano una prevalenza stimata tra il 10% e il 14% nella popolazione generale. Se si considerano i dati demografici, 3-6 milioni di individui sono affetti dalla malattia.

La malattia è associata a un maggiore rischio di contrarre patologie cardiovascolari e morte. I dati del 2013 indicano che, globalmente, una riduzione della velocità di filtrazione glomerulare sia associata al 4% dei decessi, ovvero 2.2 milioni di morti, di cui più della metà dovuti a cause cardiovascolari, i restanti dovuti al raggiungimento dello stadio terminale della malattia.

La CKD viene definita 'comunitaria' quando si riferisce alla popolazione generale e 'riferita' quando comprende pazienti che si rivolgono ad ambulatori di nefrologia. Le due terminologie differenziano la malattia per storia naturale e decorso.

La CKD comunitaria riguarda soprattutto la popolazione anziana e i soggetti esposti per tutta la vita a fattori di rischio cardiovascolare, ipertensione e diabete. Questi ultimi dopo i 40-50 anni presentano un tasso medio del declino della GFR di 0,75-1 mL/min/anno.

La CKD riferita si manifesta invece in età precoce a causa di una nefropatia ereditaria come la malattia policistica autosomica dominante o a causa di nefropatie acquisite come la glomerulonefrite, la nefropatia diabetica, la malattia tubulo-interstiziale. Tutte queste situazioni procurano un danno renale progressivo con perdita di funzionalità.

1.3 Eziologia e manifestazioni cliniche

Le cause della CKD si diversificano a livello globale. Le più comuni sono:

- Ipertensione (27,2%)
- Diabete mellito di tipo 1 (3,9%)
- Diabete mellito di tipo 2 (dal 30 al 50%)
- Glomerulonefrite primaria (8,2%)
- Nefrite tubulo-interstiziale cronica (3,6%)
- Malattie ereditarie o cistiche (3,1%)
- Discrasie plasmacellulari o neoplasie (2,1%)
- Nefropatia a cellule falciformi

La CKD può scaturire da processi patologici appartenenti a tre categorie, ovvero la categoria prerenale, distinta da una diminuzione della pressione di perfusione renale; renale intrinseca, che comprende patologia dei vasi, patologia dei glomeruli e patologia dei tubuli-interstizi e, infine, postrenale ostruttiva.

La malattia prerenale cronica si manifesta in soggetti con insufficienza cardiaca cronica o cirrosi. Consiste in una riduzione della perfusione renale che conduce all'inclinazione verso episodi multipli di lesioni renali intrinseche, come la necrosi tubulare acuta, che portano a una perdita della funzione renale graduale.

Le malattie vascolari renali intrinseche comprendono invece la nefrosclerosi (danni cronici ai vasi sanguigni, ai glomeruli, al tubulo interstizio) e la stenosi dell'arteria renale dovuta all'aterosclerosi o alla displasia fibro-muscolare, che possono portare a nefropatia ischemica rappresentata da glomerulosclerosi e fibrosi tubulo interstiziale.

La malattia glomerulare intrinseca mostra un'anomalia nella microscopia delle urine riguardanti la conta dei globuli rossi (raramente dei globuli bianchi), globuli rossi dismorfici e proteinuria superiore a 3,5 g nelle 24 ore causata da glomerulonefrite post streptococcica, endocardite infettiva, nefrite da shunt, nefropatia da IgA, nefrite da lupus, sindrome di Goodpasture e vasculite.

Le malattie tubulari intrinseche e interstiziali includono la malattia policistica del rene, la nefrocalcolosi dovuta a ipercalcemia e ipercalciuria, la sarcoidosi, la sindrome di Sjogren, la nefropatia da reflusso. Esiste anche la nefropatia mesoamericana, di causa sconosciuta, che colpisce i lavoratori agricoli dell'America centrale e del sud-est asiatico.

La malattia postrenale, denominata anche nefropatia ostruttiva, può derivare dalla malattia prostatica, da nefrolitiasi, dal tumore addominale, dal tumore pelvico e raramente da fibrosi retroperitoneale.

La velocità di progressione della CKD si diversifica in base ai singoli pazienti e al processo patologico.

Fattori che condizionano negativamente la progressione della malattia sono l'età avanzata, l'etnia non caucasica e il sesso maschile; sono fattori immodificabili. Anche fattori genetici, come polimorfismi a singoli nucleotidi nei geni *TCF7L2* e *MTHFS* e polimorfismi nei geni che codificano per i mediatori della cicatrizzazione renale e del sistema renina-angiotensina-aldosterone, sono accostati a nefropatia diabetica e alla progressione della CKD.

Viceversa, esistono fattori di rischio modificabili su cui la prevenzione può essere messa in atto. Alcuni esempi sono obesità, fumo, ipertensione sistemica e intraglomerulare, proteinuria, fattori metabolici come insulino resistenza, dislipidemia e iperuricemia. L'ipertensione sistemica è una delle maggiori cause di insufficienza renale nel mondo. La presenza di ipertensione nei letti capillari glomerulari causa ipertensione glomerulare che coopera nella glomerulosclerosi. La pressione arteriosa sistolica, rispetto a quella diastolica, sembra essere maggiormente predittiva della progressione della CKD ed è associata alle sue complicanze.

La proteinuria di grado elevato (albuminuria livello A3) accelera il progresso della malattia. Si è visto che una riduzione della proteinuria, causata dal blocco del sistema renina angiotensina, è in genere associata a una risposta renale migliore. La proteinuria di grado meno elevato (albuminuria livello A2) non è certo essere associata a un tasso più rapido di progressione della malattia. I livelli di albuminuria non sono sempre considerabili un marker affidabile, in quanto potrebbero essere associati a un miglioramento o ad un peggioramento della progressione della CKD.

Terapie indirizzate all'inibizione del sistema renina angiotensina aldosterone mostrano efficacia nel rallentamento della malattia.

Esistono delle linee guida KDOQI (*Kidney Disease Outcomes Quality Initiative*) che sollecitano la sottomissione dei soggetti ad alto rischio, tra cui soggetti ipertesi, soggetti con diabete mellito e soggetti di età superiore a 65 anni, a screening composti da esame delle urine, rapporto albumina-creatinina, misurazione della creatinina sierica e stima del GFR. I soggetti a rischio devono essere a conoscenza dei sintomi e dei segni della malattia.

La CKD fa parte delle malattie croniche progressive: non possono avvenire, infatti, la guarigione completa e il recupero funzionale del rene. La malattia può progredire verso la fibrosi renale e la distruzione del normale assetto dell'organo. Questi esiti si differenziano in base al coinvolgimento delle diverse strutture renali; un danneggiamento dei glomeruli viene definito glomerulosclerosi, un danneggiamento dei tubuli e interstizi viene definita fibrosi tubulo-interstiziale e un danneggiamento dei vasi sclerosi vascolare.

La fibrosi renale è il risultato del raggiungimento di tre stadi successivi. Il primo riguarda l'ingresso di cellule infiammatorie estrinseche nei reni danneggiati che precede l'attivazione e la proliferazione di cellule renali intrinseche a cui segue la loro perdita

tramite apoptosi, necrosi, podocitopenia e mesangiolisi. L'ultimo stadio è caratterizzato dalla sostituzione della struttura con la deposizione matrice extracellulare.

Le fasi iniziali della CKD sono normalmente asintomatiche, i sintomi hanno origine a partire dal quarto e quinto stadio della malattia. I più comuni sono nausea, vomito, perdita di appetito, oliguria, stanchezza, disturbi del sonno, contrazione muscolare, gonfiore di piedi e caviglie, diminuzione dell'acutezza mentale, prurito persistente e graffi da prurito, dolore toracico e sfregamento pericardico dovuti a pericardite uremica, respiro affannoso dovuto a edema polmonare da sovraccarico di liquidi, ipertensione, gelo uremico.

1.4 Complicanze della CKD e routine di gestione

I pazienti affetti dalla malattia mostrano minore abilità nella conservazione dell'equilibrio dei liquidi corporei dopo un carico di sodio, specialmente nel quarto e quinto stadio della malattia. I soggetti devono sottostare a una restrizione di sodio di almeno 2 g/gg per ridurre la proteinuria e migliorare il controllo della pressione sanguigna.

Un'altra complicanza ordinaria nei pazienti con CKD avanzata (GFR inferiore a 30 mL/min) è l'acidosi metabolica dovuta alla maggiore propensione dei reni a conservare idrogeno. Questa condizione può sfociare in osteopenia, aumento del catabolismo proteico e iperparatiroidismo secondario. I suddetti pazienti devono sottoporsi a cure di integrazione di bicarbonato utilizzando sali alcalini. Il supplemento di bicarbonato rallenta la progressione verso gli stadi finali della CKD e favorisce il benessere nutrizionale dei pazienti. I valori di bicarbonato sierico devono essere misurati di routine in base allo stadio di CKD ed essere maggiori o uguali a 22 mEq/L.

Nei pazienti con CKD può inoltre manifestarsi una condizione di iperkaliemia, soprattutto nei pazienti con oliguria, nei pazienti con una ridotta secrezione di aldosterone, nei pazienti in cui si manifesta una disgregazione dei tessuti e nei pazienti che assumono ACE inibitori e beta bloccanti non selettivi. È necessario che la misurazione dei livelli di potassio venga realizzata ad ogni visita del paziente e, qualora venisse rilevata una situazione di iperkaliemia, devono essere valutati gli errori della dieta, l'utilizzo di farmaci che possono portare a iperkaliemia, la presenza di acidosi metabolica e l'utilizzo di farmaci diuretici risparmiatori di potassio.

Un'altra complicanza ricorrente nella CKD è la malattia cardiovascolare, principale causa di mortalità e morbilità. Per valutare il rischio di affacciarsi a questa condizione è

importante la valutazione dello spessore del tessuto adiposo epicardico (EAT), considerato un parametro che indica una associazione significativa con l'incidenza di eventi cardiovascolari. Altrettanto importanti sono il controllo dell'ipertensione e del diabete, la valutazione della dislipidemia, la cessazione del fumo, la stimolazione all'esercizio fisico, il trattamento dell'anemia e la riduzione dei livelli di proteinuria. Elettrocardiogramma ed ecocardiogramma devono essere svolti annualmente. I pazienti sintomatici o con alterazione della motilità segmentale con tre o più fattori di rischio tradizionali o i pazienti con una storia di insufficienza vascolare devono eseguire anche test non invasivi come la scintigrafia miocardica o l'ecocardiografia da stress. La presenza di sintomi clinici e risultati positivi ai test sia invasivi che non indica la necessità di inviare il paziente a una valutazione cardiaca specializzata.

Altrettanto frequenti nei soggetti affetti da CKD sono i disturbi ossei e minerali, dovuti ad un insieme di alterazioni del metabolismo renale motivati da una diminuzione del carico di fosforo filtrato dai reni (iperfosfatemia), che porta ad un aumento della secrezione dell'ormone paratiroideo che determina iperparatiroidismo secondario. Da ciò deriva una osteodistrofia renale, manifestazione istologica della malattia. Per diagnosticare un disordine minerale e osseo in pazienti con CKD con GFR inferiore a $60 \text{ mL}/\text{min}/1,73\text{m}^2$ è fondamentale determinare i livelli sierici di fosforo, calcio, fosfatasi alcalina, ormone paratiroideo ed emogas venoso. La frequenza degli esami si basa sullo stadio e sul rischio di progressione della CKD. I livelli di vitamina D possono essere inclusi negli esami di routine poiché l'incidenza della carenza di vitamina D è elevata nei pazienti con CKD ed è correlata all'avanzamento dell'iperparatiroidismo, alla riduzione della densità minerale ossea e al rischio di fratture. Una carenza di vitamina D è legata anche ad una irregolarità della risposta immunitaria, insulino resistenza, alterazioni della funzione vascolare e cardiomiopatia.

La valutazione della presenza di anemia è un altro aspetto rilevante nel trattamento di routine dei pazienti con CKD. L'anemia nella CKD è comunemente normocitica e normocromica, deriva principalmente dalla ridotta produzione di eritropoietina causata dalla ridotta massa funzionante del rene e alla ridotta sopravvivenza dei globuli rossi. L'elemento ordinario registrato è la carenza di eritropoietina insieme a carenza di ferro, acido folico e vitamina B12. L'anemia si definisce con un valore di emoglobina inferiore a $13 \text{ g}/\text{dL}$ per gli uomini e inferiore a $12 \text{ g}/\text{dL}$ per le donne. I test di concentrazione dell'emoglobina vengono richiesti per pazienti anemici e non anemici quando clinicamente indicato. Solitamente per pazienti con CKD stadio terzo viene richiesta

annualmente, per pazienti anemici con CKD stadio quarto e quinto ogni sei mesi e ogni tre mesi nei pazienti in dialisi. Per quanto riguarda quest'ultima categoria, è auspicabile una concentrazione di emoglobina compresa tra 10 e 11,5 g/dL.

Dipartimento	Basso	Moderato	Alto	Molto alto
Funzione renale				
GFR	Ogni consultazione	Ogni consultazione	Ogni consultazione	Ogni consultazione
Urina 1	Annuale	Ogni sei mesi	Ogni sei mesi	Ogni sei mesi
Proteinuria	Annuale	Ogni sei mesi	Ogni sei mesi	Ogni sei mesi
Anemia				
Emocromo completo	Annuale	Ogni sei mesi	Ogni consultazione	Ogni consultazione
Ferro	-	Ogni sei mesi	Trimestrale #	Trimestrale #
Transferrina	-	Ogni sei mesi	Trimestrale #	Trimestrale #
Ferritina	-	Ogni sei mesi	Trimestrale #	Trimestrale #
Malattie ossee				
Calcio ionizzato	Annuale	Ogni sei mesi	Trimestrale	Ogni consultazione
Fosforo	Annuale	Ogni sei mesi	Trimestrale	Ogni consultazione
PTH	-	Annuale	Ogni sei mesi	Trimestrale #
Metabolismo				
Colesterolo	Annuale	Rischio CV*	Rischio CV*	Rischio CV*
Trigliceridi	Annuale	Rischio CV*	Rischio CV*	Rischio CV*
Acido urico	Annuale	Ogni sei mesi	Ogni sei mesi	Ogni sei mesi
Gas del sangue venoso	-	Annuale	Trimestrale	Ogni consultazione
Glicemia	Annuale	Se il diabete	Trimestrale	Ogni consultazione
Hb1Ac	-	Se il diabete	Trimestrale	Trimestrale
TGO, TGP, CPK	Consultazione&	Consultazione&	Consultazione&	Consultazione&
Alimentazione				
Liquidazione dell'urea	-	Ogni sei mesi	Trimestrale	Bimestrale
Sodio nelle urine	Annuale	Ogni sei mesi	Ogni sei mesi	Ogni sei mesi
Potassio	Annuale	Ogni consultazione	Ogni consultazione	Ogni consultazione
Profilo virale				
HbsAg	-	Annuale	Annuale	Dialisi**
Anti-HbsAg	-	Annuale	Annuale	Dialisi**
Anti-Hbc	-	Annuale	Annuale	Dialisi**
Anti-HIV	-			Dialisi**
Anti-HCV	-			Dialisi**
Altri				
Ecocardiogramma	Annuale	Annuale	Annuale	Annuale

GFR = velocità di filtrazione glomerulare stimata o clearance della creatinina nelle 24 ore; # in caso di trattamento; * in base al rischio cardiovascolare; ** al momento dell'invio in dialisi;

& se in trattamento con statine o fibrati.

Figura 4. Routine di esami in base al rischio di progressione della CKD tratta da Ammirati (2020)

CAPITOLO 2

Meccanismi molecolari della CKD

Tutte le informazioni contenute in questo capitolo sono tratte da Huang, Fu, e Ma (2023) e Ho e Shirakawa (2022)

La malattia renale cronica è contraddistinta da un declino continuo e irreversibile dei nefroni, da un danno microvascolare, da una riduzione della capacità di rigenerazione del tessuto, infiammazione, stress ossidativo, disfunzione mitocondriale e alterazioni metaboliche. Queste condizioni conducono il soggetto allo stadio terminale della malattia, a fibrosi renale e insufficienza renale. Nel seguente capitolo verranno presi in considerazione alcuni meccanismi molecolari coinvolti nella progressione della CKD (come l'aumento dello stress ossidativo nei reni) e nella fibrosi renale, espressione della fase finale della malattia.

2.1 Disfunzione mitocondriale nei reni

Il rene mostra tassi metabolici a riposo superiori rispetto ad altri organi. La densità mitocondriale e il consumo di ossigeno risultano notevoli, e ciò è dovuto all'esigenza di procurare energia impiegata in funzioni e processi cellulari importanti tra cui la regolazione della pressione sanguigna, il bilanciamento dei liquidi corporei, il riassorbimento di sostanze nutritive e l'eliminazione di prodotti di scarto.

Un'alterazione dei mitocondri, innescata da livelli eccessivi di specie reattive dell'ossigeno (ROS), può causare lesioni da stress ossidativo spesso associate a diverse malattie renali, tra cui la CKD.

I ROS sono prodotti nel citoplasma, nella membrana plasmatica, nel reticolo endoteliale e nei mitocondri. I mitocondri e la famiglia delle NADPH ossidasi (NOX) sono il sito di maggiore produzione di ROS endogeni nel rene.

In condizioni regolari, la produzione e la liberazione di ROS da parte dei mitocondri (mtROS) sono regolate dal ciclo rigenerativo ROS-indotto. Se questo ciclo viene alterato, si può verificare l'attivazione di vie di segnalazione molteplici che promuovono l'insorgenza di numerose patologie.

Una disfunzione mitocondriale provoca una diminuzione dei livelli di ATP e un aumento dei livelli di ROS, con conseguente disfunzione renale.

I pazienti con CKD presentano livelli più elevati di morbilità e mortalità cardiovascolare, che possono essere associati ad un aumento dello stress ossidativo renale, causato da uno squilibrio dei livelli di ROS e della difesa antiossidante. Per questa ragione, l'aumento del numero di mtROS e l'attività di NOX possono essere motivi importanti della progressione della malattia.

Nel mitocondrio, la catena di trasporto degli elettroni genera, insieme ad altri enzimi, l'anione superossido ($O_2^{\cdot-}$) appartenente alla famiglia dei ROS che, grazie all'enzima superossido dismutasi (SOD), genera perossido di idrogeno (H_2O_2). Il perossido di idrogeno è coinvolto nella regolazione dei sistemi di difesa antiossidante mitocondriale; tuttavia, un eccesso della sua produzione induce stress ossidativo ed è causa di danni cellulari.

L'enzima NOX, come già affermato, è la fonte dominante di produzione di ROS endogeni nel rene e l'isoforma NOX4 è la predominante. L'iperproduzione di ROS innescata dall'enzima NOX4 nelle cellule mesangiali, endoteliali e tubulari del rene è strettamente collegata a malattie renali legate al diabete e all'obesità. Un'upregolazione dell'enzima NOX4 da parte dell'angiotensina II causa un aumento della produzione di ROS nelle cellule mesangiali. Al contrario, l'inibizione dell'enzima NOX4 sopprime questa aumentata produzione. Anche l'angiotensina II aumenta i livelli di mtROS.

I mitocondri godono di un proprio sistema di enzimi antiossidanti, del quale fanno parte la manganese superossido dismutasi (MnSOD) e la glutatione perossidasi. Se questi enzimi antiossidanti sono sovra espressi, gli effetti dell'angiotensina II sulla produzione di mtROS nelle cellule mesangiali vengono sospesi.

Il controllo dell'attivazione di NOX4 e della produzione di mtROS mediato dall'angiotensina II si rivela un sistema vantaggioso per inibire lo stress ossidativo.

2.2 Meccanismo fibrotico renale e 'nicchia fibrotica'

La fibrosi renale è la manifestazione patologica finale della CKD e insorge quando non c'è più una corretta regolazione della riparazione della lesione. Quando si verifica un danno al rene, fibroblasti e periciti locali vengono attivati e aumentano la loro

contrattilità, provocando così una maggiore secrezione di mediatori dell'inflammatione e una maggiore sintesi di proteine della matrice extracellulare (ECM), come per esempio fibronectina e collagene. Questi componenti mettono in atto la riparazione del danno. Quando quest'ultimo risulta grave o si verifica ripetutamente, tuttavia, l'accumulo eccessivo di proteine ECM provoca una variazione del tessuto renale che causa disfunzione e insufficienza d'organo.

Dopo una lesione al rene, la matrice extracellulare sostituisce il tessuto renale decellularizzato. L'ECM può essere costituita da più di mille proteine, suddivise in quattro categorie fondamentali: proteine strutturali dell'ECM (collagene, fibronectina, elastina); proteine matricellulari (fibrillina 1, tenascina-C, fattore di crescita del tessuto connettivo e periostina); proteine modificanti la matrice e proteoglicani.

La tenascina-C (TNC) è una proteina appartenente al gruppo delle proteine matricellulari. In un soggetto sano, essa è assente o scarsamente presente, mentre rappresenta uno dei componenti maggiori nel rene fibrotico. Viene prodotta principalmente dai fibroblasti; agisce attivandoli e aumentando la produzione e la deposizione delle proteine ECM. In aggiunta, la TNC forma un microambiente locale che facilita la progressione della fibrosi, concentrando e aumentando la quantità di fattori pro-fibrotici.

Molte evidenze hanno suggerito l'ipotesi che la fibrosi renale abbia origine dalla cosiddetta 'nicchia fibrotica'. La nicchia fibrotica consiste in un'interazione tra il parenchima lesa e cellule non parenchimali situate all'interno delle aree di cicatrizzazione. Le principali cellule individuate come coinvolte nella nicchia fibrotica sono: cellule mesenchimali, cellule epiteliali tubulari specifiche e cellule immunitarie. La totalità delle identità cellulari implicate in questo processo non è di facile individuazione e necessita pertanto di ulteriori chiarimenti.

I miofibroblasti sono cellule che vengono attivate a seguito di un danno renale e sono i principali protagonisti della fibrosi renale. La loro attivazione, promossa da marcatori specifici come l'actina alfa-muscolare (α -SMA), determina la sintesi e il successivo accumulo di proteine ECM. Tuttavia, anche altre cellule interstiziali come periciti e cellule muscolari lisce vascolari esprimono α -SMA. I miofibroblasti possono essere distinti utilizzando vimentina, collagene-1 α 1, CD73, recettore beta del fattore di crescita derivato dalle piastrine (PDGFR β) e la proteina-1 specifica dei fibroblasti (FSP1)/SI00A4.

Durante il processo di fibrosi renale, la quantità di miofibroblasti aumenta notevolmente. La loro origine è riconducibile alla trasformazione dei fibroblasti in miofibroblasti. Periciti, cellule staminali mesenchimali (MSC), cellule epiteliali, endotelio e cellule circolanti derivate dal midollo osseo potrebbero anch'essi prendere parte alla formazione dei miofibroblasti, la cui origine rimane dunque varia e discutibile.

Alcuni studi hanno individuato tre principali fonti di miofibroblasti nei reni: fibroblasti $PDGFR\alpha^+ PDGFR\beta^- MEG3^{++}$; fibroblasti $PDGFR\beta^+ COLEC11^+ CXCL12^+$ e periciti $PDGFR\alpha^- PDGFR\beta^+ RGS5^{++} NOTCH3^+$. Le cellule che esprimono il gene che codifica per la chemochina *CXCL12* sono simili alle cellule *MSC Gli1*⁺. Queste ultime sono quindi comprese tra le cellule protagoniste nella produzione di miofibroblasti.

Come descritto precedentemente, a seguito di un danno renale si verifica la formazione della nicchia fibrotica. Cellule tubulari lese e cellule immunitarie infiammatorie infiltrate secernono alcuni mediatori pro-fibrotici i quali, attraverso vie autocrine o paracrine, trasformano i precursori dei miofibroblasti in miofibroblasti attivi.

Gli epitelii dei tubuli renali possiedono la capacità di autoriparazione. Un danno ripetuto e continuo può compromettere questo sistema: i tubuli danneggiati non sono più in grado di ridifferenziarsi e sintetizzano molecole bioattive che richiamano cellule infiammatorie responsabili dell'attivazione, differenziazione dei miofibroblasti e della secrezione di matrice.

Il danno impartito ai tubuli renali è un fattore centrale della progressione della CKD: sono state infatti identificate cellule tubulari specifiche che possiedono caratteristiche pro-fibrotiche. Un esempio sono le cellule tubulari $VCAM-1^+$, incisive nei reni di soggetti presentanti fibrosi. Anche cellule epiteliali del tubulo prossimale o del tratto ascendente spesso che esprimono la prominina 1 (*PROM1*), il recettore cellulare 1 del virus dell'epatite A (*HAVCR1*) e la proteina 2 contenente il dominio della doublecortina (*DCDC2*) hanno caratteristiche pro-fibrotiche e inducono la formazione di componenti ECM da parte dei miofibroblasti.

Sono presenti tre vie di segnalazione centrali nel differenziamento tubulare: la via Notch, la via Wnt e la via Hedgehog. La loro attivazione transitoria è essenziale per innescare la riparazione del tessuto lesso, ma una attivazione continua può aggravare la progressione fibrotica.

La via di segnalazione Notch viene attivata raramente nel rene adulto sano, mentre nel rene lesionato la sua attivazione è legata alla riparazione del tessuto. Il suo ruolo nella

progressione della fibrosi renale è collegato all'attivazione continua della via che provoca la secrezione di mediatori che attivano i miofibroblasti. L'induzione massiva di questa via è correlata a un elevato livello di *TGF-β*, stimolante diretto dei miofibroblasti, che provoca dilatazione e atrofia tubulare, accumulo di matrice, attivazione dei miofibroblasti e infiltrazione di cellule immunitarie nell'interstizio. L'inibizione della via Notch genetica o farmacologica diminuisce invece la fibrosi tubulo-interstiziale.

La via di segnalazione Wnt è sostanzialmente assente in condizioni normali e viene attivata in condizioni patologiche agendo sulla riparazione d'organo. Anche in questo caso, una sua attivazione prolungata può peggiorare le malattie renali contribuendo all'attivazione dei miofibroblasti. Fibroblasti e periciti risultano essere attivatori della via Wnt e innescano una particolare differenziazione spontanea dei miofibroblasti anche in assenza di lesioni renali.

La via di segnalazione Hedgehog è, differentemente dalle altre due vie, vitale per la crescita e la differenziazione cellulare del rene adulto. I ligandi di questa via vengono secreti nelle cellule tubulari. Il gene *Gli1*, precedentemente citato, è uno dei bersagli della via di Hedgehog e contribuisce all'attivazione dei miofibroblasti e alla progressione della fibrosi renale.

Un fattore importante correlato alla comparsa di fibrosi renale è il processo di senescenza delle cellule tubulari. L'arresto prolungato e irreversibile del ciclo cellulare risulta dannoso per i tubuli renali e causa senescenza cellulare. La cellula senescente resiste all'apoptosi e produce in continuazione mediatori pro-infiammatori e pro-fibrotici. Sono in fase di sperimentazione molteplici strategie per prevenire la formazione o ridurre la presenza di cellule senescenti attraverso, per esempio, la perdita di peso, ottenuta tramite l'esercizio fisico o l'utilizzo di molecole farmacologicamente attive.

Un altro gruppo fondamentale di cellule appartenente alla nicchia fibrotica è rappresentato dalle cellule immunitarie. Sono state associate alla nicchia fibrotica cellule infiltranti *CD68⁺*, mieloperossidasi⁺ e cellule *CD3⁺*.

I macrofagi e i monociti svolgono un ruolo fondamentale nella fibrosi renale. Difatti, macrofagi pro-infiammatori M1 e macrofagi antinfiammatori M2, sono coinvolti nella riparazione e nella fibrosi di tessuti. Nella fase iniziale, dopo la lesione, i monociti vengono reclutati e adottano velocemente un fenotipo pro-infiammatorio e pro-fibrotico prima di evolvere a macrofagi con recettore della chemochina *C-C 21⁺*. Nella fase tardiva

i macrofagi si accumulano nel tessuto, ma quelli presentanti recettore del mannosio 1⁺ o metallo peptidasi di matrice 12⁺ potrebbero favorire la degradazione della matrice.

Nei reni fibrotici è evidente un accumulo di linfociti T helper 17 e cellule T regolatorie. La diffusione di cellule T regolatorie IL-33R e IL-2R α positive prima della lesione può però avere un ruolo protettivo nei confronti del tessuto renale. Le cellule T, insieme alle cellule B e ai fibroblasti residenti, formano, nel rene danneggiato, il tessuto linfoide terziario (TLT). Questo tessuto produce un'inflammation incontrollata e un ritardo nella riparazione dei tessuti.

La popolazione di cellule immunitarie maggiormente presente nel rene fibrotico è quella dei neutrofili, componenti delle cellule immunitarie innate. Una strategia terapeutica individuata è la riduzione di neutrofili Sigle-F⁺ che limita la produzione di collagene e l'avanzamento della malattia.

Anche cellule dendritiche e mastociti prendono parte al processo di fibrosi renale.

2.3 Rarefazione vascolare

Una conseguenza della fibrosi renale è il fenomeno di rarefazione vascolare. Si verifica quando la densità capillare viene ridotta e porta a condizioni ischemiche e ipossiche. Il fenomeno è legato al distacco, alla disfunzione e all'apoptosi delle cellule endoteliali. Nella CKD può presentarsi una diminuzione dei livelli di VEGF, un mediatore dell'angiogenesi e della riparazione vascolare, che causa un malfunzionamento renale e la rarefazione microvascolare. Anche le angiopoietine Angpt regolano la maturazione vascolare e il loro aumento, innescato dalle cellule endoteliali, può destabilizzare l'integrità dell'endotelio. L'inibizione di Angpt2 può attenuare l'inflammation endoteliale e la fibrosi renale nella CKD. Nei pazienti con CKD si riscontra inoltre un'espressione aumentata di LRG1, fattore angiogenico che regola la formazione di capillari e può portare a rarefazione capillare e fibrosi renale.

La fibrillina 1, proteina ECM facente parte delle proteine matricellulari, è presente in quantità maggiori nei reni dei soggetti affetti da CKD. Essa inibisce lo sviluppo delle cellule endoteliali, innescando quindi un danno endoteliale e promuovendo lo sviluppo di un microambiente dannoso per queste cellule.

2.4 Epigenetica e fibrosi renale

Il termine “epigenetica” fa riferimento ad una variazione ereditabile dell’espressione genica, responsabile di molteplici malattie. È scatenata da interferenze all’RNA, rimodellamento della cromatina e metilazione del DNA. I pazienti con CKD possono essere soggetti ad alterazioni multifattoriali come, ad esempio, stress ossidativo, infiammazione, presenza di tossine uremiche e iperglicemia, i quali potrebbero contribuire ad una riprogrammazione epigenetica del genoma, partecipando attivamente all’avanzamento della malattia.

Durante il danno renale acuto (AKI), la rarefazione dei capillari causa ipossia, che a sua volta innesca una risposta infiammatoria e la formazione di tessuto fibrotico, con conseguente intensificazione del grado di ipossia del tessuto renale. La perdita di capillari e la maggiore distanza tra le cellule tubulari e i capillari rimasti diminuisce infatti la diffusione di ossigeno nel tessuto. L’ipossia genera alterazioni epigenetiche come il cambiamento conformazionale dei cromosomi, modificazione di istoni e metilazione del DNA. Questa situazione porta alla transizione da AKI a CKD.

La metilazione del DNA è uno dei processi che può provocare una variazione di espressione genica. È una reazione catalizzata dalle DNA metiltransferasi che consiste nell’aggiunta di un gruppo metilico al carbonio in posizione 5 presente nel residuo di citosina (sito CpG). La metilazione del DNA su specifici siti CpG o l’ipometilazione, esercitano ruoli fondamentali nello sviluppo del rene; un’ipermetilazione o metilazione anormale possono essere invece associate a malattie renali. Nei pazienti affetti da CKD è stata identificata una differenza significativa della metilazione di 1061 geni, alcuni dei quali sono noti nella fibrosi renale (recettore *TGFβ*, *SMAD3* e *SMAD6*).

L’ipermetilazione del gene della proteina RAS attivatore-simile 1 (*RASALI*), un gene antifibrotico, potrebbe sopprimerne l’attività. L’ipermetilazione è mediata da *TGF-β* ed è stata correlata alla fibrosi renale. Un approccio terapeutico potrebbe essere la riduzione dell’ipermetilazione di *RASALI* grazie all’utilizzo della proteina morfogenica ossea 7, antagonista endogeno di *TGFβ*.

Anche la metilazione dei geni della proteina tirosina fosfatasi non recettore di tipo 6, di geni con ripetizione trinucleotidica contenente 18, del dominio di ripetizione ankryn contenente 11, del membro 1 della famiglia dei trasportatori di soluti e del fattore di elaborazione del pre-mRNA 8 risulta associata alla fibrosi in maniera significativa.

All'attivazione dei miofibroblasti, all'infiammazione e alla secrezione di fattori profibrotici nel rene possono prendere parte anche gli enzimi istone acetiltransferasi (HAT) e istone deacetilasi (HDAC). L'enzima HAT provoca l'acetilazione degli istoni, proteine strutturali della cromatina. L'acetilazione agevola l'apertura della cromatina e rende il DNA più accessibile alla trascrizione, promuovendo l'attivazione trascrizionale genica. L'enzima HDAC deacetila l'istone e può reprimere la trascrizione genica. L'acetilazione o deacetilazione degli istoni fa riferimento ai diversi residui di lisina presenti, ma le ricerche si stanno eseguendo anche nella fosforilazione, nell'ubiquitinazione e nella glicosidazione degli istoni dei residui di serina, treonina e arginina.

Gli HAT includono la *P300/CREB* binding protein e il *P300/CBP*-associated factor. L'acetilazione di istoni mediata dagli enzimi HAT è coinvolta nell'attivazione trascrizionale di geni profibrotici.

Gli HDAC sono suddivisi in quattro categorie. Ogni categoria include 18 enzimi. L'inibizione degli enzimi HDAC ritarda la progressione della fibrosi renale poiché si ha l'inibizione di *TGF-β*, fattore che media l'ipermetilazione di geni profibrotici.

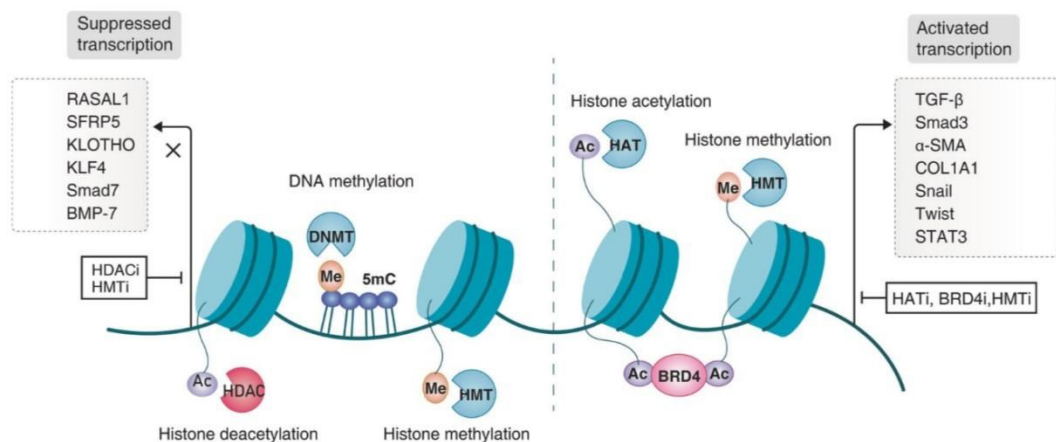


Figura 5. Modificazioni istoniche e metilazione del DNA nella fibrosi renale tratta da Huang, Fu, e Ma (2023)

CAPITOLO 3

Biomarcatori e terapie per la CKD

Tutte le informazioni contenute in questo capitolo sono tratte da Huang, Fu, e Ma(2023)

3.1 Biomarcatori CKD

I valori di GFR e albuminuria sono criteri diagnostici importanti per la CKD. Tuttavia, non sono parametri indicativi del grado di fibrosi renale. Solitamente, infatti, la fibrosi renale ha inizio prima della diminuzione della GFR, sebbene la fibrosi tubulo-interstiziale sia correlata alla disfunzione renale. L'albuminuria è invece un valore associato al danno glomerulare.

Per la diagnosi e lo studio della fibrosi renale, la biopsia risulta attualmente la strategia migliore da utilizzare, nonostante il procedimento invasivo.

Molti biomarcatori rappresentano la funzione renale o predicono il declino della GFR, ma non sono direttamente relazionati alla fibrosi. Esistono invece biomarcatori ematici e urinari associati a fibrosi renale dimostrata dalla biopsia e utili per valutare il grado di fibrosi.

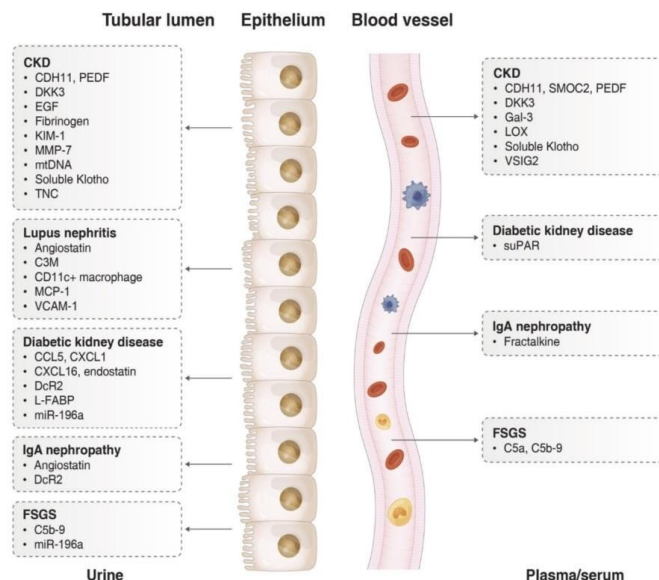


Figura 6. Biomarcatori della fibrosi renale nelle urine e nel sangue tratta da Huang, Fu, e Ma (2023)

3.2 Terapie per la fibrosi renale

Ad oggi non esistono farmaci efficaci per la fibrosi renale. Sono però presenti diversi farmaci con effetti antinfiammatori e antifibrotici in modelli cellulari e animali che, pur non essendo stati progettati per trattare la CKD, ne possono ritardare, attraverso meccanismi vari, la progressione. Alcuni esempi sono farmaci che bloccano il sistema renina-angiotensina, gli inibitori di SGLT2, gli agonisti del recettore GLP-1, Antrasetan (inibitore dell'endotelina-1), Tolvaptan (antagonista del recettore 2 della vasopressina) e Finerenone, un farmaco antimineralcorticoide non steroideo.

In diversi studi clinici sono state testate terapie che sono dirette verso fattori fibrotici e verso le vie di segnale del danno tubulare, oppure riguardanti la rigenerazione dei tessuti e la risposta infiammatoria.

Il pirfenidone è una piccola molecola di sintesi che protegge dalla fibrosi polmonare grazie al suo meccanismo di inibizione dell'espressione di TGF- β 1. TGF β è un regolatore importante nella fibrosi renale. Il pirfenidone inoltre può ripristinare i valori di GFR nei pazienti con malattia renale diabetica e glomerulosclerosi segmentaria e focale. Studi clinici di fase 2 e 3 sono in corso per valutare l'effetto di questa molecola sulla CKD.

Il fattore di crescita del tessuto connettivo, CTGF, è un effettore del TGF β che può avviare l'attivazione dei miofibroblasti e l'accumulo di ECM. L'anticorpo FG-3019, un anticorpo anti-CTGF, risulta ben tollerato in uno studio clinico di fase 1 e ha portato alla riduzione della microalbuminuria nei pazienti con malattia renale diabetica. Tuttavia, diversi studi riguardanti questo anticorpo sono stati interrotti prematuramente e risultano conseguentemente non sufficienti per una valutazione della terapia.

Il Bardoxolone metile è un'altra molecola in fase di studio. Il suo meccanismo d'azione risiede nell'attivazione di NRF2, un importante regolatore di geni che codificano per proteine antiossidanti. Molti studi di fase 2 hanno dimostrato che il Bardoxolone metile può aumentare la GFR nei pazienti con varie malattie renali, tra cui la CKD. In uno studio di fase 3 più ampio, che includeva soggetti con CKD di stadio 4, la molecola non è riuscita a ridurre il rischio di morte per cause cardiovascolari o il rischio di insufficienza renale, al contrario si è riscontrato un aumento del tasso di eventi cardiovascolari. Rimane la necessità di valutare il profilo rischio-beneficio del farmaco.

L'Apabetalone è un inibitore delle proteine BET. Le proteine BET fungono da segnale nella regolazione dell'espressione genica. Un'analisi ha dimostrato come questo farmaco abbia un effetto cardioprotettivo nei pazienti con CKD e benefici sulla GFR.

3.3 Farmaci mirati ai miofibroblasti

Alcuni marcatori dei miofibroblasti potrebbero essere utilizzati come bersagli terapeutici. Il gene *NKD2*, che codifica per la proteina della cuticola nuda *NKD2*, è particolarmente espresso nella differenziazione di cellule umane e miofibroblasti di topo. È dimostrato che l'attività delle vie di segnale *TGF-β*, *Wnt* e del fattore di necrosi tubolare (*TNF*) è maggiore nei miofibroblasti *NKD2*⁺ rispetto ai miofibroblasti *NKD*⁻. Cellule knockout del gene *NKD2* presentano una perdita di componenti ECM, dimostrando come questo gene sia parte fondamentale della loro espressione e come possa diventare un valido bersaglio terapeutico.

I miofibroblasti hanno altri marcatori specifici, come per esempio l'integrina $\alpha\text{v}\beta3$, la fibronectina e il CD248, utilizzati per la progettazione di farmaci specifici per la fibrosi renale.

Anche le cellule *MSC-like Gli1*⁺, fonte di miofibroblasti, possono essere un promettente bersaglio terapeutico. Tuttavia, l'inibizione diretta di queste cellule potrebbe causare rarefazione capillare con conseguente fibrosi renale indotta dall'ipossia. È necessario quindi agire sulla regolazione delle cellule *Gli1*⁺ per trattare o ritardare la fibrosi, piuttosto che sulla loro inibizione diretta.

Lo sviluppo di farmaci efficaci contro la fibrosi renale rimane difficoltoso.

3.4 Farmaci mirati ai mitocondri per le malattie renali

L'apertura del poro di transizione della permeabilità mitocondriale (mPTP) ha un ruolo importante nella conservazione dell'omeostasi del mitocondrio.

In condizioni fisiologiche, l'aumento dei livelli di ione calcio (Ca^{2+}) all'interno del mitocondrio, provoca l'apertura del poro mPTP, il quale consente l'ingresso nel mitocondrio a piccole sostanze. Queste sostanze guidano l'enzima ATP sintasi nella fosforilazione ossidativa per conservare il potenziale di membrana mitocondriale (MMP).

In condizioni patologiche, in caso di stress ossidativo elevato o entrata massiva di ioni Ca^{2+} si verifica un'apertura anomala del poro mPTP con conseguente passaggio di sostanze di grandi dimensioni solubili. Questo genera un collasso del potenziale di membrana mitocondriale MMP e rigonfiamento mitocondriale.

Il tiosolfato di sodio è stato utilizzato nei pazienti in dialisi per attenuare l'arteriopatia uremica calcifica. Questo farmaco aiuta a mantenere l'omeostasi mitocondriale grazie all'azione chelante nei confronti dello ione Ca^{2+} , mantenendo così il potenziale di membrana mitocondriale (MMP) e ripristinando l'attività della catena di trasporto degli elettroni in un modello di CKD.

La molecola 10-(6-ubiquinonil) deciltrifenilfosfonio bromuro (MitoQ) è una piccola molecola antiossidante che ha un'azione selettiva grazie al suo accumulo nei mitocondri in diversi tessuti, tra cui il rene.

Riduce lo stress ossidativo e la morte cellulare nelle cellule tubulari renali proteggendole anche dalla nefropatia diabetica.

MitoQ è un farmaco che deve essere utilizzato con prudenza in quanto può avere effetti negativi: l'aumento di ROS in cellule tumorali relazionata a una diminuzione dell'MMP; l'aumento del numero di copie di mtDNA. In aggiunta provoca un rigonfiamento mitocondriale acuto e una depolarizzazione della MMP nelle cellule renali del tubulo prossimale.

Analizzando le cause che inducono il danno renale da stress ossidativo si può constatare come l'aumento della produzione di ATP, la salvaguardia dell'omeostasi del rene, la difesa antiossidante mitocondriale o la diminuzione dello stress ossidativo e il mantenimento del metabolismo energetico mitocondriale siano obiettivi terapeutici validi per la patologia.

CAPITOLO 4

Nefrite interstiziale acuta indotta da farmaci

Tutte le informazioni contenute in questo capitolo sono tratte da Raghavan e Shawar (2017)

La nefrite interstiziale acuta indotta da farmaci (DI-AIN) è un tipo di reazione di ipersensibilità a farmaci (DHR) che può emergere da 7 a 10 giorni dopo l'esposizione al farmaco. Si tratta di una condizione che rappresenta una ricorrente causa di danno renale acuto (AKI) nei pazienti ospedalizzati e di necrosi tubolare acuta (ATN). L'AKI e l'ATN sono entrambe reazioni infiammatorie con caratteristiche cliniche simili che hanno origine da una reazione avversa ad un farmaco. La nefrite interstiziale acuta (AIN) è correlata a edema interstiziale e infiltrazione cellulare, mentre l'ATN causa un danno diretto delle cellule epiteliali tubulari e un decadimento della funzione renale. Se la reazione di ipersensibilità al farmaco non viene prontamente arrestata e contenuta, il rischio di sviluppare fibrosi renale e malattia renale cronica aumenta.

4.1. Determinante antigenico e reazioni di ipersensibilità a farmaci

Più di 250 farmaci provenienti da diverse classi sono stati individuati come agenti causali della DI-AIN. Il 70% dei casi di AIN deriva proprio dall'utilizzo di farmaci. La struttura chimica del farmaco o dei suoi metaboliti, relazionata all'attività farmacologica, agisce da 'determinante antigenico', si comporta quindi come epitopo o antigene che attiva la risposta immunitaria dell'organismo. Per poter innescare questa risposta, i farmaci devono avere la caratteristica dell'antigenicità, ovvero la capacità di combinarsi in modo specifico con anticorpi e recettori per l'antigene. Questa caratteristica deve essere accompagnata dal potere immunogeno del farmaco (definito anche con il termine immunogenicità), vale a dire la capacità dell'antigene di innescare una risposta immunitaria. La composizione chimica del farmaco ha quindi un ruolo chiave che suggerisce la possibile comparsa di reazioni di ipersensibilità nel soggetto. Questo spiega come farmaci appartenenti a classi farmacologiche diverse, ma presentanti struttura chimica base in comune, possano innescare una reazione crociata. Nonostante la struttura chimica del farmaco contribuisca alla formazione del determinante antigenico, il farmaco può presentare più epitopi e il fenotipo della DI-AIN può essere influenzato anche da fattori ambientali o dell'ospite.

Le reazioni avverse ai farmaci (ADR) sono risposte indesiderate che si manifestano a dosi terapeutiche usuali del farmaco. Le reazioni di ipersensibilità allergica ai farmaci (DHR) rappresentano un tipo raro e specifico di ADR, tuttavia, la preoccupazione di incorrere in queste reazioni allergiche con conseguente shock anafilattico, ha portato le figure professionali a considerare tutte le diverse ADR reazioni allergiche. Ciò implica una scelta di farmaci alternativi maggiormente costosi e solitamente meno efficaci che possono aumentare i costi economici e la morbilità.

Un farmaco può scatenare una risposta autoimmune o di ipersensibilità nell'ospite secondo cinque differenti meccanismi.

Il primo meccanismo riguarda l'alterazione del tessuto dell'ospite a causa del farmaco. Il tessuto dell'ospite diventa immunogeno.

Il secondo meccanismo interessa lo sviluppo, da parte dell'ospite, di anticorpi rivolti contro il farmaco, i quali innescano una risposta immunitaria. Riguardo questo meccanismo è stata riscontrata una AIN indotta da meticillina dovuta a depositi di immunocomplessi granulari lungo la membrana tubulare. È una reazione rara che non figura il meccanismo tipico della DI-AIN.

Il terzo meccanismo coinvolge individui presentanti un particolare recettore delle cellule T o una proteina del complesso maggiore di istocompatibilità (MHC) i quali riconoscono il farmaco come immunogeno.

Nel quarto meccanismo si esamina il metabolismo del farmaco, che può provocare la formazione di antigeni reattivi o immunogeni che stimolano la risposta immunitaria.

L'ultimo meccanismo fa sì che i composti a basso peso molecolare, come i farmaci o i loro metaboliti, si leghino in modo irreversibile a specifiche proteine per creare un composto immunogenico denominato 'aptene'. Questo processo viene definito aptenizzazione e rende i composti a basso peso molecolare più grandi e immunogenici con possibilità che si accumulino nel rene. L'aptenizzazione può presentarsi anche durante la filtrazione renale; il farmaco o i suoi metaboliti si legano a proteine specifiche tubulo-interstiziali e suscitano AIN.

Indipendentemente dal meccanismo con cui viene innescata la risposta di ipersensibilità, l'ospite media una risposta immediata grazie a immunoglobuline E (reazione di tipo I) o grazie a cellule T (reazione di tipo IV).

4.2 Reazione infiammatoria renale della DI-AIN

I reni sono molto sensibili alle DHR, questo è dovuto alla presenza di un elevato flusso sanguigno verso l'organo dove gli antigeni vengono filtrati e concentrati. Un altro motivo risiede nel ruolo del rene come principale via di escrezione di molti farmaci e dei loro metaboliti.

Le DI-AIN si verificano solitamente 48-72 ore dopo l'esposizione all'antigene. L'infiltrato prevalentemente linfocitario nel rene suggerisce come le cellule T abbiano un ruolo fondamentale in questo processo. A 72 ore dall'esposizione all'antigene si può osservare la presenza di marcatori di laboratorio del coinvolgimento renale nella risposta (ad esempio la presenza di anomalie elettrolitiche). Questi marcatori solitamente vengono trascurati o non rilevati fino alla comparsa di un aumento della creatinina sierica o dell'azoto ureico nel sangue, che può comparire da 7 a 10 giorni dopo l'esposizione. Una manifestazione che compare nel 50% dei casi di DI-AIN è la reazione cutanea, appare 24-96 ore dopo l'esposizione al farmaco.

La maggioranza delle informazioni reperibili sulla reazione infiammatoria renale dell'AIN proviene da studi animali sperimentali, in quanto un limite degli studi sull'uomo è la presenza di dati derivanti da biopsie renali o dati sierologici rilevati in momenti precisi del corso di una lesione in evoluzione. I dati sono pertanto limitati e osservati soprattutto nelle fasi di insorgenza e nelle fasi finali della lesione.

Lo sviluppo della DI-AIN avviene in tre fasi successive (figura 7):

La prima fase riguarda il riconoscimento e la presentazione dell'antigene; gli antigeni o gli apteni filtrati a livello renale vengono endocitati dalle cellule interstiziali peritubulari o dalle cellule epiteliali tubulari residenti. Queste cellule mostrano lo stimolo antigenico alle cellule dendritiche, monociti residenti che svolgono la funzione di sentinelle immunologiche dell'organismo. Le cellule dendritiche sono in collegamento diretto con le porzioni baso-laterali delle cellule epiteliali tubulari grazie alla presenza di proiezioni stellate nella loro struttura. L'esposizione all'antigene provoca l'attivazione delle cellule dendritiche, solitamente quiescenti, consentendo loro l'esposizione di composti antigenici (ad esempio peptidi) sulle molecole MHC II situate sulla superficie delle cellule dendritiche.

Le cellule dendritiche attivate si spostano attraverso i vasi linfatici del rene in direzione dei linfonodi regionali; l'antigene viene così presentato alle cellule T naive.

Durante la fase iniziale vengono attivate anche ulteriori cellule, come macrofagi e fibroblasti presenti nell'interstizio del rene; vengono inoltre reclutati anche neutrofilo ed eosinofili che favoriscono l'amplificazione della risposta infiammatoria iniziale.

La seconda e terza fase riguardano fasi integrative o regolatorie ed effettrici della risposta immunitaria.

La fase integrativa riguarda un cross-talk bidirezionale che si instaura tra cellule dendritiche e cellule T o neutrofilo. L'evoluzione e la gravità della partecipazione renale sono regolati proprio dall'interazione crociata tra cellule infiammatorie infiltranti reclutate e il parenchima renale.

Durante la fase effettrice, le cellule infiltrate possono aumentare o sopprimere la risposta immunitaria sotto influenza di varie citochine. I macrofagi infiltrati rilasciano collagenasi, elastasi e ROS, i quali amplificano il danno iniziato dai linfociti. Nei casi più gravi, i neutrofilo infiltrati nell'epitelio tubulare avviano una tubulite, allo stesso tempo i fibroblasti attivati proliferano e iniziano a produrre una maggiore quantità di proteine ECM.

Sostanze profibrotiche come TGF- β o IL-6 favoriscono la conversione di cellule residenti e cellule staminali del midollo osseo circolanti in fibroblasti con un processo chiamato transizione epitelio-mesenchimale (EMT). L'attivazione di cellule infiammatorie infiltranti e la loro interazione con il parenchima renale può intensificare o ridurre la fase effettrice, dipendentemente dalla durata dell'esposizione al farmaco e dall'entità della malattia.

La risposta immunitaria che viene attivata a seguito della DI-AIN può essere arrestata da meccanismi protettivi che si attivano nell'organismo, come la downregulation dell'espressione di molecole MHC II di superficie o l'attivazione di cellule T soppressorie. Questi meccanismi di difesa rendono il fenomeno della DI-AIN relativamente raro o di lieve entità.

Se lo sviluppo della DI-AIN non viene individuato attraverso marcatori clinici della disfunzione tubulare di laboratorio, o bloccato tempestivamente, si può arrivare alla comparsa di lesioni renali irreversibili e fibrosi.

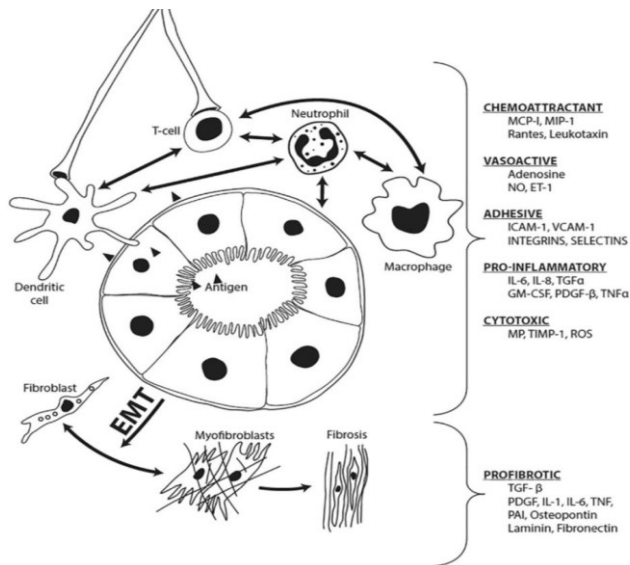


Figura 7. Schema del riconoscimento, elaborazione, reazione dell'antigene nel rene tratta da Raghavan e Shawar (2017)

4.3 Farmaci che inducono AIN

Tra i numerosi farmaci che inducono reazioni di ipersensibilità troviamo la classe dei farmaci beta-lattamici, che include penicilline, cefalosporine, monobattami, carbapenemi e clavami.

L'eliminazione di penicilline e cefalosporine avviene per filtrazione glomerulare e attraverso le cellule epiteliali tubulari grazie a vari tipi di trasporto attivo.

Il prodotto di degradazione delle penicilline risulta potenzialmente reattivo e il suo legame con l'albumina, in prossimità di specifici residui di lisina, forma il determinante antigenico. Sono stati individuati linfociti T farmaco specifici rivolti contro l'associazione penicillina-albumina. Attraverso un campione di sangue di un paziente che ha riscontrato DI-AIN indotta da Fluoxetina è stato possibile isolare il recettore specifico delle cellule T. L'incidenza della DHR indotta da penicilline è dello 0,03%.

Tutti i farmaci appartenenti alla classe dei beta lattami, esclusa la categoria dei monobattamici, presentano un anello a cinque o sei termini. Questo spiega perché, per la classe dei monobattami, non siano state riportate reattività crociate con penicilline o DI-AIN.

Reazioni crociate sono invece rilevanti e presenti nel caso il soggetto sviluppi DHR verso la penicillina di tipo I. Il soggetto deve esimersi dall'assunzione di tutti i farmaci a base di penicilline, ad esclusione di situazioni limite in cui non esistano alternative terapeutiche e il paziente si trovi in pericolo di vita. In questo caso l'assunzione deve avvenire sotto rigorosa vigilanza medica. Il paziente deve evitare anche l'assunzione di cefalosporine in quanto la reazione crociata è stimata al 12%.

Un'altra classe coinvolta nelle reazioni di ipersensibilità a farmaci è quella dei sulfamidici. Farmaci contenenti il gruppo sulfonamidico possono essere antibiotici o diuretici tiazidici, diuretici dell'Ansa, acetazolamide, sulfoniluree e alcuni inibitori della ciclossigenasi 2. Anche i sulfamidici sono escreti principalmente a livello renale attraverso filtrazione glomerulare, riassorbimento a livello tubulare e secrezione. L'aggiunta o sostituzione di gruppi funzionali in posizione 1 o 4 dell'anello benzenico della molecola causa la formazione di un composto tossico, il nitrososulfametossazolo il quale attiva le cellule T dell'organismo.

Anche in questo caso la reazione immunitaria viene innescata grazie al processo di aptenizzazione del farmaco. Le molecole sulfamidiche danno origine ad un aptene modificando i residui di cisteina presenti in molte proteine cellulari ed extracellulari.

Un'altra classe importante è quella dei farmaci antinfiammatori non steroidei (FANS). I FANS sono farmaci classificati in base alla diversa struttura chimica: salicilati, derivati del para-amminofenolo, antranilati, derivati dell'acido enolico, acidi acetici arilici, derivati del pirazolinone, acidi arilpropionici e oxicam derivati. Tutte le categorie elencate possono fare emergere DI-AIN, in particolare i farmaci acidi arilpropionici. I pazienti che sviluppano ipersensibilità verso un farmaco appartenente ad una di queste classi devono evitare l'assunzione di principi attivi con struttura simile per il rischio di incorrere in reattività crociata.

Gli inibitori di pompa protonica sono una classe di farmaci individuati come principale causa di DI-AIN. La nefrite interstiziale acuta può insorgere dopo ore o mesi dall'assunzione del farmaco e non è stata individuata alcuna relazione con il dosaggio, la latenza, l'età o il sesso del paziente.

L'allergia, identificata grazie a test cutanei, all'omeprazolo implica un'allergia crociata al pantoprazolo; l'allergia al lansoprazolo è invece correlata all'intolleranza al rabeprazolo. Minime differenze all'interno della struttura chimica di questi farmaci

generano quindi reattività crociata e tolleranza. Non risulta chiaro se l'applicazione di questa reattività crociata possa essere riflessa anche nella DI-AIN.

4.4 Gestione della reazione di ipersensibilità a farmaci

L'ipotesi diagnostica precoce di una reazione di ipersensibilità ad un farmaco e l'immediata interruzione della terapia risultano pratiche fondamentali per evitare l'aggravarsi della situazione. La DI-AIN solo occasionalmente viene manifestata con rash cutaneo, febbre ed eosinofilia, non è immediata e non necessita l'uso di antistaminici o epinefrina.

Pazienti che riportano DHR storiche e specifiche necessitano di un'anamnesi farmacologica accurata e di un riconoscimento dei rischi intrinseci a ciascun farmaco affinché vi sia un monitoraggio dei possibili eventi avversi.

Il trattamento, nel caso la lesione renale causata da DI-AIN persista o se la biopsia svela lesioni correlate ad un aumento del rischio di lesioni permanenti, risiede nell'utilizzo di farmaci corticosteroidi. I corticosteroidi neutralizzano l'infiammazione e prevengono l'accesso di cellule infiammatorie nell'area interessata intervenendo prevalentemente su cellule T o eosinofili.

Per lo svincolamento di allergeni o cellule T antigenicamente attivate si può ricorrere a strategie terapeutiche nuove come la plasmferesi. La plasmferesi viene effettuata attraverso centrifugazione del sangue ottenendo così la separazione dei costituenti del plasma in base alle dimensioni. Procedendo con una filtrazione a cascata è possibile una rimozione selettiva delle molecole. Questo processo è possibile solo per la rimozione di apteni i quali presentano dimensioni idonee per la pratica. Non sono stati ancora pubblicati studi sul trattamento di DI-AIN attraverso plasmferesi probabilmente perché le dimensioni delle molecole immunogene rimangono ad oggi ignote e la loro separazione selettiva risulta complessa.

CONCLUSIONE

Le molteplici manifestazioni della malattia, accanto al notevole impatto sulla morbilità e mortalità dei pazienti, richiedono un'attenta gestione e valutazione da parte dei professionisti sanitari. La disposizione di linee guida KDOQI ha permesso al personale medico di operare secondo indicazioni specifiche e fornire un'adeguata educazione dei soggetti.

Dal loro canto, i pazienti devono rendersi disponibili ad un cambiamento del loro stile di vita (alimentazione, attività fisica) per poter affrontare nel modo migliore la patologia e rallentarne la progressione.

La fibrosi renale resta un elemento distintivo dello stadio finale della malattia; lo studio graduale delle diverse fasi molecolari con cui si sviluppa, il riconoscimento delle principali cellule coinvolte e l'approfondimento del cross-talk tra cellule, hanno consentito l'individuazione di possibili bersagli terapeutici su cui poter fondare medicinali con meccanismi specifici.

La diminuzione o l'inibizione dell'attivazione dei miofibroblasti -principali produttori di collagene- risulta una valida strategia antifibrotica; tuttavia, al momento, non esistono farmaci efficaci in commercio. Sono in corso invece studi più approfonditi riguardanti l'analisi genomica della fibrosi che, pur avendo molti limiti, ha offerto la possibilità di avere biomarcatori diagnostici significativi.

Risulta importante anche l'individuazione di farmaci già disponibili per altre patologie che mostrano utilità anche per la CKD, come per esempio farmaci che agiscono sul mantenimento dell'omeostasi mitocondriale riducendo così lesioni renali causate da stress ossidativo.

Le terapie si limitano a ritardare la progressione della malattia, quindi a ridurre l'insorgenza di complicanze: viene messa in luce l'esigenza di terapie innovative per arrestare la progressione della malattia.

Associati agli approcci farmacologici e non farmacologici, il controllo dei farmaci assunti da un paziente con funzionalità renale ridotta, la previsione di reazioni di ipersensibilità a farmaci e l'informazione del paziente risultano cruciali per evitare la nefrite interstiziale acuta (DI-AIN). La presenza di AIN potrebbe infatti peggiorare il quadro del paziente o addirittura sfociare in CKD.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Ammirati, Adriano Luiz. 2020. «Chronic Kidney Disease». *Revista da Associação Médica Brasileira* 66 (suppl 1): s03–9. <https://doi.org/10.1590/1806-9282.66.s1.3>.
- [2] Arnold, Michael J., e Andrew Buelt. 2020. «Chronic Kidney Disease: Evaluation and Treatment Guidelines from the VA/DoD». *American Family Physician* 102 (6): 378–79.
- [3] Ho, Hsin-Jung, e Hitoshi Shirakawa. 2022. «Oxidative Stress and Mitochondrial Dysfunction in Chronic Kidney Disease». *Cells* 12 (1): 88. <https://doi.org/10.3390/cells12010088>.
- [4] Huang, Rongshuang, Ping Fu, e Liang Ma. 2023. «Kidney Fibrosis: From Mechanisms to Therapeutic Medicines». *Signal Transduction and Targeted Therapy* 8 (1): 129. <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01379-7>.
- [5] Raghavan, Rajeev, e Saed Shawar. 2017. «Mechanisms of Drug-Induced Interstitial Nephritis». *Advances in Chronic Kidney Disease* 24 (2): 64–71. <https://doi.org/10.1053/j.ackd.2016.11.004>.
- [6] Vaidya, Satyanarayana R., e Narothama R. Aeddula. 2024. «Chronic Kidney Disease». In *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535404/>.

