

Anemia e diabete

V. Borzi, C. Gatta, R. Rapisardi, C. Sgroi
vitoborzi@interfree.it

UOC I Medicina, AOU Policlinico Vittorio Emanuele, Catania

Parole chiave: Anemia, Diabete,
Eritropoietina, Emoglobina,
Insufficienza renale

Key words: Anemia, Diabetes,
Erythropoietin, Haemoglobin, Renal failure

Il Giornale di AMD, 2010;13:176-184



Riassunto

L'anemia è un comune riscontro nei pazienti con diabete, specialmente in quelli con nefropatia. Almeno un diabetico su 5 presenta anemia e questo costituisce un significativo ulteriore aggravio di salute. L'anemia è spesso più severa ed interviene nei diabetici ad uno stadio più precoce, rispetto ai soggetti con nefropatie da altre cause ed è inoltre associata ad un aumentato rischio di complicanze diabetiche, quali la nefropatia, la retinopatia e le malattie macrovascolari. L'anemia può inoltre essere importante nel determinare la prognosi dello scompenso cardiaco e il danno d'organo indotto dall'ipossia. Mentre numerosi fattori contribuiscono all'aumentata prevalenza dell'anemia nel diabete, l'incapacità del rene ad aumentare la secrezione di eritropoietina in risposta alla riduzione di emoglobina, sembra il fattore più importante. Il deficit eritropoietinico sembra svilupparsi anche a livelli di creatininemia relativamente "normali". Altri fattori, tra cui la flogosi cronica, la neuropatia diabetica e il deficit di ferro sono altrettanto importanti nell'etiopatogenesi dell'anemia. Recenti trials hanno dimostrato un trend di aumentata mortalità quando i pazienti con insufficienza renale

terminale (ESRD) o malattia cronica renale (CKD), sono stati trattati con farmaci stimolanti l'eritropoietina (ESAs) fino a raggiungere livelli emoglobinici più elevati di quelli raccomandati (>13 g/dl). Recenti studi suggeriscono che i più alti dosaggi degli ESAs, di per sé, possano essere almeno in parte, responsabili dell'aumento del rischio di mortalità.

Summary

Anaemia is a common finding in patients with diabetes, particularly in those with overt nephropathy or renal impairment. At least one patient in five with diabetes has anaemia, for whom it constitutes a significant additional burden. It is often more severe and occurs at an earlier stage in patients with diabetic nephropathy than in patients with CKD of other causes. Anaemia is associated with an increased risk of diabetic complications including nephropathy, retinopathy and macrovascular disease. Anaemia may also be significant in determining the outcome of heart failure and hypoxia-induced organ damage in diabetes. While several factors contribute to the increased prevalence of anaemia in diabetes, the failure of the kidney to increase erythropoietin in response to falling haemoglobin appears to be the dominant factor. The erythropoietin deficiency seems to develop even at relatively "normal" levels of serum creatinine. Other factors including chronic inflammation, autonomic neuropathy and iron deficiency are also important. Recent trials have demonstrated a trend for increased mortality when patients with end-stage renal disease (ESRD) or chronic kidney disease (CKD) are treated with erythropoietin-stimulating agents (ESAs) to hemoglobin levels higher than recommended (>13 g/dl). Recent studies suggest that higher doses of ESAs, in themselves, may be at least partly responsible for this mortality risk.

Introduzione

L'anemia è di comune riscontro nell'insufficienza renale cronica (CKD), interessando più del 50% dei pazienti⁽¹⁾. Il diabete, essendo la causa più comune di CKD, è quindi anche la causa più frequente di anemia renale. Ma l'anemia nel diabete presenta alcune caratteristiche peculiari: si sviluppa più precocemente ed è più grave a parità di filtrato glomerulare, rispetto ai pazienti con insufficienza renale da altre cause. L'anemia inoltre peggiora lo stato di salute del paziente diabetico, in quanto ha un impatto negativo sul senso di benessere e contribuisce in maniera significativa al peggioramento delle comorbidità e mortalità di questi soggetti⁽²⁾; l'anemia costituisce quindi per i diabetici,

un non gradito ulteriore fardello. Una riduzione dei livelli di Hb identifica anche pazienti diabetici a maggior prognosi infausta, indipendentemente dalla presenza o dalla gravità della nefropatia⁽³⁾. Inoltre, l'anemia di per sé, può contribuire allo sviluppo e alla progressione delle complicanze micro e macrovascolari del diabete. Nonostante tutti questi dati, l'anemia nel diabete è ancora un problema sottostimato e sottotrattato; il Medico di Medicina Generale e il Diabetologo dovrebbero quindi essere consapevoli dell'importanza clinica dello screening dell'anemia in questa popolazione. In questo articolo, noi passeremo in rassegna la prevalenza, le cause che possono essere responsabili del suo sviluppo e discuteremo infine dell'utilità e dell'approccio al suo trattamento.

Prevalenza dell'anemia nel diabete

Numerosi studi basati su un numero esiguo di pazienti con nefropatia manifesta, hanno suggerito che la prevalenza dell'anemia è più alta nei pazienti diabetici. Bosman⁽⁴⁾ ha confrontato 27 diabetici di tipo 1 con nefropatia diabetica con 26 pazienti non diabetici, ma con glomerulonefrite e sovrapponibile funzionalità renale. L'anemia era presente in 13 dei 27 diabetici, mentre non era presente in alcun soggetto del gruppo non diabetico. Ishimura e al⁽⁵⁾ hanno confrontato 19 pazienti con diabete di tipo 2 con 21 controlli non diabetici, paragonabili per sesso, età e creatininemia. Gli autori hanno evidenziato che le concentrazioni di Hb erano significativamente più basse nei pazienti diabetici e l'analisi multivariata ha definito il diabete come fattore di rischio indipendente per anemia. Queste osservazioni venivano confermate da Dikow⁽⁶⁾ che, in una coorte di pazienti diabetici ambulatoriali, ha trovato una alta prevalenza di ridotti valori di Hb, in rapporto ai valori di creatinina clearance. Kazmi⁽⁷⁾ in uno studio retrospettivo di 604 pazienti con elevati livelli di creatinina, ha cercato di identificare i fattori di rischio associati con anemia. L'analisi di regressione logistica univariata ha mostrato che l'età (65-74 anni), l'ipertensione, l'ipercreatininemia, l'elevato prodotto calcio-fosforo e il diabete erano associati in maniera significativa ad anemia severa, definita come un ematocrito < 30%.

Non tutti i dati sono concordi su questo argomento. Infatti nello studio PRESAM (Pre-dialysis Survey on Anemia Management Study)⁽⁸⁾, non vi era alcuna differenza nella prevalenza dell'anemia tra 779 diabetici e non diabetici, a parità di valori di creatinina clearance. Comunque non è ancora ben chiaro se la differenza tra questo studio e i precedenti sia dovuta a sottogruppi di diabetici con inappropriata bassa concentrazione di eritropoietina, al fatto che i soggetti di controllo non fossero propriamente sovrapponibili o a fattori confondenti come la deficienza di ferro o l'infiammazione. In ogni caso va segnalata l'osservazione che i pazienti con nefropatia diabetica sono notoriamente ipervolemici. Ad

ogni valore di filtrato glomerulare, lo spazio extracellulare è maggiore nei nefropatici diabetici rispetto ai nefropatici non diabetici. Poiché il volume extracellulare non è stato determinato in nessuno degli studi eseguiti, l'emodiluizione non può essere esclusa quale causa che abbia contribuito alle differenze trovate nei vari studi in merito alla severità dell'anemia.

Recentemente è stato pubblicato il primo studio sistematico osservazionale che mirava a valutare la prevalenza e i predittori dell'anemia nei diabetici senza nefropatia⁽⁹⁾. Degli 820 diabetici studiati, il 61% era normoalbuminurico, il 27% aveva microalbuminuria e il 12% macroalbuminuria. Solamente il 5% presentava una proteinuria > 1gr/die. Il filtrato glomerulare medio era 75.1 ± 1.4 ml/min/1.73 m² per gli uomini e 72.1 ± 1.4 ml/min/1.73 m² per le donne. Il 30% aveva un GFR stimato < 60 ml/min/1.73 m² e inoltre circa il 50% dei soggetti studiati erano normoalbuminurici e con un GFR > 60 ml/min/1.73 m², per cui questo studio è fortemente rappresentativo di tutta la popolazione diabetica. 190 diabetici (23%) avevano una anemia non diagnosticata (Hb < 12 gr/dl per le donne e Hb < 13 gr/dl per gli uomini). Questa prevalenza era circa due-tre volte maggiore di quella riscontrata nella popolazione generale che aveva valori sovrapponibili di GFR e ferritina. Questi dati sono perfettamente in accordo con quelli del "Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES)"⁽¹⁰⁾ che ha dimostrato per l'anemia un odd ratio di 1.7 nei diabetici di tipo 2. Rispetto ai soggetti normoalbuminurici, i diabetici con microalbuminuria avevano un rischio di anemia quattro volte maggiore, mentre i soggetti con macroalbuminuria o con GFR < 60 ml/min/1.73 m², presentavano un rischio 12 volte maggiore. Un altro trial multicentrico⁽¹¹⁾, disegnato per valutare la prevalenza e le conseguenze dell'anemia nel diabete di tipo 2, è stato condotto su 2125 diabetici ambulatoriali. La durata media del diabete era di 10 anni. La prevalenza di elevata albuminuria variava tra il 27% e il 43% nei tre centri. Circa un terzo dei pazienti aveva una moderata insufficienza renale (GFR < 60 ml/min/1.73 m²). La prevalenza dell'anemia in questa coorte, secondo le linee guida del WHO (Hb < 13 gr/dl negli uomini e < 12 gr/dl nelle donne), era del 20%. La funzionalità renale, misurata come creatinina clearance, era il più forte predittore di anemia e una significativa associazione tra creatinina clearance e la prevalenza di anemia è stata trovata anche nei pazienti con una creatinina nel range della normalità. Questo dato enfatizza l'importanza di valutare il GFR nel trattamento dei pazienti diabetici. Questo è ancora più importante negli anziani e nei soggetti malati, in cui la ridotta massa muscolare può portare ad una "pseudo-normalizzazione" dei livelli della creatinina serica. Una aumentata prevalenza di anemia è stata anche osservata in pazienti diabetici senza nefropatia; anche se non possiamo escludere che questi soggetti non avessero già una occulta nefropatia diabetica. L'anemia è stata anche

associata in maniera indipendente con l'albuminuria, un precoce marker di infiammazione microvascolare, che, come l'anemia, precede il declino della funzionalità renale⁽¹¹⁾. Una ulteriore conferma della maggiore prevalenza dell'anemia nel diabete, rispetto al non diabetico, a parità di funzione renale ci viene dallo studio di El-Achkar che ha valutato 5380 soggetti⁽¹²⁾.

Ma l'anemia dei diabetici, oltre ad essere più precoce, è anche più severa, a parità di funzionalità renale. Infatti Ravanan⁽¹³⁾ ha studiato in maniera retrospettiva 2052 pazienti che afferivano ad un centro nefrologico. L'analisi di regressione lineare ha dimostrato valori di Hb più bassi nei pazienti diabetici, confrontati con soggetti nefropatici, ma non diabetici, con pari valori di funzionalità renale, depositi di ferro, uso di ACE-inibitori e durata di follow-up specialistico.

Cause dell'anemia nel diabete mellito

L'etiologia e la patogenesi dell'anemia nel diabete mellito è multifattoriale. L'iperglicemia cronica può determinare uno stress ossidativo, globuli rossi anomali e una denervazione simpatica del rene, secondaria alla neuropatia autonoma. Questi fattori possono determinare uno stato ipossico dell'interstizio renale, cui segue una ridotta produzione di eritropoietina (EPO) da parte dei fibroblasti peritubulari. Inappropriati bassi livelli di EPO sono una importante causa dell'anemia precoce del diabete⁽⁴⁾. Fra i fattori più importanti nella patogenesi dell'anemia del paziente diabetico, ricordiamo:

a) Nefropatia diabetica

Questa complicanza cronica del diabete è caratterizzata da una progressiva angiopatia dei capillari glomerulari. Come già detto, costituisce la principale causa di insufficienza renale terminale ed anemia renale⁽¹⁾. L'anemia è presente pure nei soggetti con insufficienza renale non diabetica, ma in questi soggetti è meno precoce e meno grave, a parità di funzionalità renale^(4,19,14).

b) Disfunzione dei tubuli renali

Come è noto, la microalbuminuria è il marker precoce di nefropatia diabetica; comunque in pazienti diabetici sia di tipo 1 che di tipo 2, prima della comparsa della microalbuminuria, è stato evidenziato un incremento dell'escrezione urinaria di N-acetyl-beta-glucosaminidase e della retinol binding protein, che si possono considerare markers di precoce disfunzione dei tubuli renali (sede della produzione dell'EPO)^(15,16). La disfunzione tubulare nel diabete è quindi già alterata prima della comparsa della microalbuminuria e questo può spiegare il dato della maggiore prevalenza di anemia nei diabetici, anche in assenza di albuminuria e con GFR normale.

c) Ischemia tubulare

L'iperglicemia cronica a carico dei tubuli renali può portare ad una anomala crescita cellulare, ad una aumentata produzione di collagene⁽¹⁷⁾ ed ad una precoce

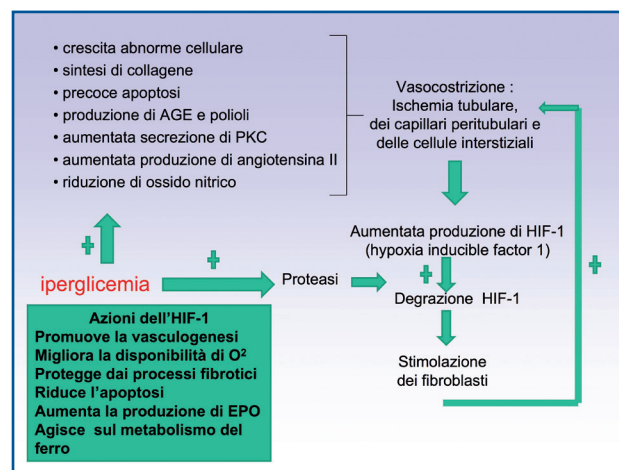


Figura 1. Effetto dell'iperglicemia su HIF-1 (hypoxia inducible factor 1).

apoptosi delle cellule tubulari⁽¹⁸⁾. Inoltre si ha pure l'aumento degli AGE, della protein kinase C, dell'Angiotensina II nei tubuli renali e dello stress ossidativo. Tutte queste alterazioni portano ad una vasocostrizione e ad ischemia tubulare⁽¹⁹⁾, con conseguente riduzione della sopravvivenza e della funzionalità delle cellule tubulari. Normalmente l'organismo risponde all'ipossia tubulare ed interstiziale mediante la stimolazione dell'HIF-1 (Hypoxia-inducible factor-1), che è uno dei maggiori mediatori per l'adattamento delle cellule all'ipossia. L'HIF-1 infatti promuove la vasculogenesi, migliora la disponibilità di O₂ e modula il metabolismo cellulare⁽²⁰⁾. Inoltre svolge una azione protettiva contro i processi fibrotici all'interno del rene, agendo su alcuni geni che promuovono la fibrogenesi, influenza la crescita cellulare e l'apoptosi, la produzione di EPO e dell'endotelial growth-factor, nonché il metabolismo del ferro⁽²¹⁻²³⁾. Ma l'iperglicemia cronica altera i meccanismi che proteggono l'HIF-1 dalla degradazione da parte delle proteasi, in maniera dose dipendente⁽²⁴⁾. La ridotta azione dell'HIF-1 promuove quindi l'accentuarsi della fibrosi e dell'ischemia tubulare, per cui alla fine si ha anche una ridotta produzione di EPO da parte dei fibroblasti peritubulari.

d) Deficienza di EPO

Nei soggetti normali, la riduzione di Hb si accompagna ad una aumentata risposta secretoria di EPO, che cerca così di indurre una eritropoiesi compensatoria. Nelle forme non renali di anemia (come per esempio la carenza marziale o l'emolisi), la produzione di EPO raggiunge elevati livelli. Nel 95% dei diabetici, dopo aver escluso altre identificabili cause di anemia, si trovano invece livelli di EPO che sono inappropriatamente entro i valori di normalità, anche nei soggetti senza segni di malattia renale. Come detto precedentemente, la precocità dell'insorgenza dell'anemia nel diabete può essere conseguenza di una deficiente secrezione di EPO⁽⁴⁾. L'inadeguata risposta dell'EPO può essere cau-

sata dai suoi bassi livelli⁽²⁵⁾, da una deficienza funzionale⁽²⁶⁾ o da una resistenza periferica⁽²⁷⁾, che potrebbe anche essere favorita da modificazioni strutturali del recettore eritropoietinico, conseguente ai processi di glicazione⁽²⁸⁾. Anche la denervazione splanchnica, risultato della neuropatia diabetica autonoma, potrebbe essere una delle cause di ridotta secrezione dell'EPO⁽²⁹⁾. L'adeguata azione eritropoietinica riduce i livelli di Hb, che aggrava l'ipossia, che a sua volta stimola la produzione di EPO da parte delle cellule peritubulari sopravvissute. A lungo termine però, questo circolo vizioso accelera i processi di apoptosi con ulteriore e definitiva ridotta sintesi di EPO.

e) Infiammazione cronica

Il diabete mellito è uno stato infiammatorio cronico, caratterizzato da aumentati livelli di citochine pro-infiammatorie, che sono dosabili già prima dello sviluppo dell'insufficienza renale e che possono essere responsabili anche della resistenza all'EPO⁽³⁰⁾. Studi sulle citochine infiammatorie (interleuchina-1, TNF, interferon-gamma), hanno suggerito che esse possono avere un ruolo importante nello sviluppo dell'anemia nelle malattie croniche, in quanto possono determinare la soppressione e l'apoptosi dei progenitori eritroidi, alterare il metabolismo del ferro, facilitandone il sequestro nelle cellule del sistema reticolo-endoteliale ed essere responsabili della scarsa risposta al trattamento eritropoietinico⁽³¹⁾.

f) Anomalo assorbimento dei micronutrienti

L'acido folico, la Vit B12 e il ferro sono dei micronutrienti essenziali per la normale crasi sanguigna. Una alterazione del loro assorbimento può naturalmente contribuire allo sviluppo dell'anemia. Ricordiamo che i soggetti diabetici hanno una alta prevalenza di gastrite cronica⁽³²⁾ e infezione da *Helicobacter pylori*⁽³³⁾ e queste condizioni influenzano l'assorbimento del ferro e di altri nutrienti a livello dello stomaco. Inoltre alcuni pazienti con diabete tipo 1 presentano anticorpi anti parete gastrica, con conseguente aumentato rischio di sviluppare anemia sideropenia e gastrite atrofica⁽³⁴⁾ o turbe dell'assorbimento, come la celiachia, che impedisce l'assorbimento del ferro e di altri nutrienti. Adeguati depositi di ferro sono necessari per una normale eritropoiesi; una carenza di questi depositi può sfociare in una diminuita risposta alla eritropoietina⁽³⁵⁾. In clinica, la carenza marziale è la più comune causa di resistenza alla terapia con rh-EPO e la prevalenza della carenza di ferro è più alta nei diabetici, rispetto ai non diabetici⁽³⁵⁾. Questa differenza potrebbe essere spiegata dal fatto che l'iperglicemia cronica, attraverso il processo della glicosilazione, modula i recettori per la transferrina, per cui questi riducono la loro capacità a legare il ferro, limitandone così la sua disponibilità.

g) Farmaci

La metformina, il farmaco antidiabetico più utilizzato, è stato associato a malassorbimento con deficit assorbitivo per la Vit B12⁽³⁶⁾ e conseguente anemia

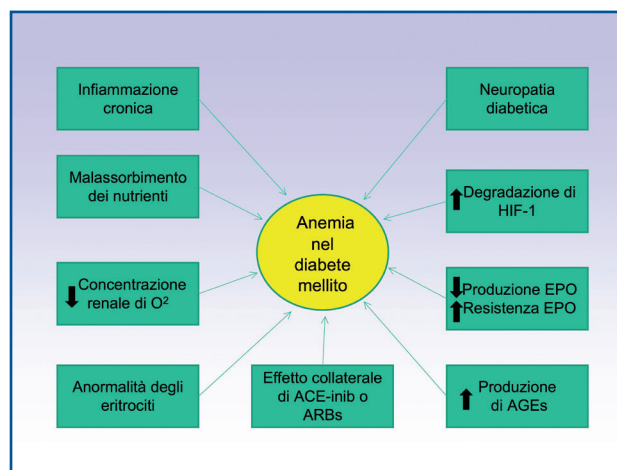


Figura 2 Etiopatogenesi dell'anemia del diabetico.

megaloblastica. I glitazoni possono favorire l'instaurarsi dell'anemia probabilmente per l'emodiluizione secondaria alla ritenzione idrica, mentre i farmaci antiipertensivi, come gli ACE inibitori e gli AIIRA possono influenzare negativamente l'eritropoiesi e promuovere l'anemia inibendo la crescita dei precursori eritroidi⁽³⁷⁾.

h) Anomalie degli eritrociti

Nei pazienti diabetici l'emivita dei globuli rossi è ridotta. Questo è dovuto a numerose patologie che hanno un notevole impatto sulla vitalità degli eritrociti, come per esempio l'aumentato stress osmotico. Questo è una conseguenza dell'accumulo di sorbitolo (risultato dell'attivazione della via dei polioli) e di una diminuita attività della Na⁺/K⁺-ATPase⁽³⁸⁾. La risultante anomala composizione lipidica interferisce con il controllo di volume dell'eritrocita e riduce la fluidità della membrana, per cui aumenta il sequestro degli eritrociti nella microcircolazione del sistema reticolo-endoteliale. È opportuno notare che il miglioramento dell'anemia dopo terapia con EPO, interferisce con l'affidabilità dell'HbA1c, come parametro di controllo glicemico. Infatti quando l'rh-EPO è somministrata, si stimola la produzione di nuovi eritrociti, che hanno meno tempo di esposizione all'ambiente iperglicemico. Questo può causare una riduzione di HbA1c, senza invece che si abbiano modifiche sostanziali della glicemia⁽³⁹⁾.

Tabella 1. Caratteristiche dell'anemia nel diabetico

1	I diabetici con alterata funzionalità renale hanno anemia più precocemente dei soggetti non diabetici
2	Nei soggetti diabetici, a parità di funzionalità renale, l'anemia tende a essere più severa
3	La deficienza di EPO si manifesta più precocemente nei diabetici
4	Circa il 25% dei diabetici ha una anemia meritevole di valutazione
5	Circa il 50% dei diabetici con macroalbuminuria ha una anemia

i) Neuropatia diabetica

Studi su modelli sperimentali hanno dimostrato che la denervazione splanchnica, secondaria a neuropatia autonoma, porta ad una ridotta risposta secretoria dell'EPO all'anemia. Anche alcuni studi clinici, se pur piccoli per numerosità, hanno dimostrato una maggiore prevalenza di anemia e/o bassi livelli di EPO circolante in pazienti con diabete di tipo 1, che avevano neuropatia autonoma e normali livelli di creatinina, suggerendo in tal modo il ruolo della neuropatia autonoma nell'instaurarsi dell'anemia^(4,29). Ed infine una resistenza o ridotte risposte all'rh-EPO, sono state riportate più frequentemente in diabetici con severa neuropatia autonoma, che in diabetici senza neuropatia⁽⁴⁰⁾.

L'anemia contribuisce alle complicanze del diabete?

L'anemia può contribuire sia alla morbilità che alla mortalità nel diabete in numerosi modi. L'anemia non trattata contribuisce certamente e in maniera significativa a peggiorare la qualità di vita del paziente con CKD, riducendone la performance fisica, le funzioni cognitive, l'appetito, le funzioni sessuali e le attività sociali. L'anemia è associata ad un aumentato rischio di complicanze vascolari, quali la nefropatia, retinopatia, neuropatia e macrovasculopatie. Una ridotta Hb, anche se ancora nel range di normalità, identifica i pazienti con diabete di tipo 2 che sono ad aumentato rischio di malattia renale progressiva, ospedalizzazione e morte prematura⁽⁴¹⁾. È importante notare che l'anemia di per sé non causa danno microvascolare (il deficit di ferro infatti, non porta a insufficienza renale terminale), ma nei diabetici, l'anemia può essere considerata come una manifestazione di malattia micro vascolare⁽⁴²⁾, per cui è facile capire perché i diabetici con anemia sono più predisposti alle complicanze microvascolari. Vi sono inoltre delle evidenze che suggeriscono che nel diabete, l'anemia possa anche modulare l'attività di vie metaboliche che portano al progressivo danno d'organo. Abbiamo già visto come l'ipossia tissutale abbia un ruolo chiave nel procurare il danno d'organo associato al diabete, mediante un effetto mitogeno e fibrogenetico. Per esempio, l'ipossia modifica l'espressione dei geni coinvolti nell'angiogenesi, nella permeabilità capil-

lare, nella risposta vasomotoria e nella sopravvivenza cellulare. L'anemia può anche avere importanti effetti emodinamici a carico dei vari tessuti. Può infatti incrementare l'attività simpatica, attivare il sistema renina-angiotensina intra-renale e determinare il rilascio di ormone antidiuretico⁽⁴³⁾, tutti meccanismi che sono implicati nello sviluppo della proteinuria e dell'ipertensione della CKD. A livello cardiaco, l'anemia cronica determina una aumentata gittata sistolica, un sovraccarico di volume, una elevata frequenza e, in definitiva, una ipertrofia ventricolare sinistra e una disfunzione diastolica. Un aumento dell'ipossia miocardica, conseguente all'anemia, può essere particolarmente pericoloso nei diabetici, in quanto la maggior parte di loro soffrono di cardiopatia ischemica o di insufficienza cardiaca. L'anemia è quindi un potente fattore di rischio per l'insorgenza di insufficienza cardiaca, così come è un marker prognostico negativo in quei soggetti con disfunzione cardiaca già manifesta. In conclusione, l'anemia è un fattore che accresce il rischio di morbilità e mortalità ed è indipendente dall'etiologia dell'anemia e dai livelli di EPO. Inoltre, l'impatto della riduzione dell'Hb nei diabetici non è confinato ai pazienti con anemia evidente. Lo studio RENAAL ad esempio, ha evidenziato che valori di Hb ridotti, ma ancora nel range di normalità, erano associati ad un aumentato rischio di insufficienza renale terminale o di morte⁽⁴¹⁾. Allo stesso modo, in uno studio prospettico di pazienti diabetici proteinurici, i livelli basali di Hb, anche se ancora entro il range di normalità, erano predittivi per il raddoppio della creatinina o dell'evoluzione a ESRD, indipendentemente dagli altri fattori di rischio, incluso il GFR basale⁽³⁾.

La correzione dell'anemia migliora gli outcomes nel diabetico ?

Uno dei più maggiori progressi nella cura dei pazienti con insufficienza renale terminale (ESRD) o malattia renale cronica (CKD) è stata l'introduzione degli analoghi dell'eritropoietina, chiamati anche "agenti eritropoietina-stimolanti (ESAs). Questi farmaci hanno permesso di ottenere livelli più elevati di emoglobina, senza dover fare ricorso quindi, a frequenti trasfusioni e/o alla terapia marziale con conseguente sovraccarico di ferro. Un certo numero di piccoli studi, eseguiti alla fine degli anni 80, ha supportato il concetto che più alti valori di Hb determinano un effetto benefico e che l'uso degli ESAs per l'anemia nei pazienti con CKD, poteva migliorare la qualità di vita, le funzioni cognitive, il senso di benessere e ridurre l'ipertrofia ventricolare sinistra.

Nessuna evidenza chiara è stata riportata sugli effetti della correzione dell'anemia sulla retinopatia e sulle malattie vascolari periferiche. Il miglioramento della retinopatia proliferativa dopo somministrazione di rh-EPO, come è stato osservato in tre pazienti con nefropatia diabetica può essere convincente perché il

Tabella 2. Cause di riduzione della sintesi o di ridotta azione dell'EPO.

riduzione delle cellule interstiziali che sintetizzano EPO
alterazione dell'anatomia o dell'architettura vascolare che interferisce con la sensibilità all'O ₂ mediante l'HIF-1 (hypoxia inducible factor 1)
effetto inibitorio mediato dalle citochine pro-infiammatorie
iporeninemia
perdita urinaria di EPO
glicazione dell'EPO o del suo recettore
danno sui precursori eritroidi da parte dell'iperglicemia

Tabella 3. Cause di aumentato rischio CV secondario all'uso di ESAs.

1	rapido incremento dell'Hb
2	oscillazione dell'Hb che comportano aumento del rischio CV mediante meccanismi modinamici o emoreologici
3	effetto trofico dell'EPO sull'endotelio o sulle cellule muscolari lisce
4	incremento della viscosità, della trombogenesi, della PA, del volume ematico
5	deficit di ferro secondario
6	azioni pleiotrofiche dell'EPO, dovute alla presenza di recettori in molti organi (cuore, rene, cervello, sistema vascolare)
7	potenziale tossicità dell'EPO ad alte dosi, non fisiologiche
8	l'EPO favorisce uno stato infiammatorio (tutti i pazienti in terapia, presentano elevati livelli di interleuchine e TNF)

fattore di crescita vascolare endoteliale (VEGF), che è il fattore maggiormente responsabile nella genesi della retinopatia proliferativa, è secreto in risposta agli stimoli ipossici. Un altro fattore confondente è l'ipertensione, dal momento che questa ha un grosso impatto sulla prognosi della retinopatia. Alla questione se la vasculopatia periferica tragga benefici dalla correzione dell'anemia è ancora più difficile rispondere. Su questo argomento esistono osservazioni aneddotiche in termini di effetti benefici, ma un report di Wakeen M. ha invece dimostrato una maggiore incidenza di eventi vascolari acuti. E questo è facilmente intuibile, anche alla luce del fatto che molti angiologi usavano l'emodiluizione come strategia terapeutica nei pazienti con arteriopatia obliterante periferica.

La somministrazione di rh-EPO, sia prima, che durante una riperfusione cardiaca, può ridurre la apoptosi delle cellule miocardiche, diminuire l'area di estensione dell'infarto e favorire la crescita del microcircolo, con conseguente migliorata contrattilità del ventricolo sinistro e aumentata capacità all'esercizio⁽⁴⁴⁾. Un trial clinico eseguito su soggetti con anemia lieve e severo scompenso cardiaco, ha dimostrato che l'rh-EPO può determinare un incremento della frazione di eiezione del ventricolo sinistro e una riduzione dei giorni di ospedalizzazione⁽⁴⁴⁾.

Un altro problema che si evidenziò dall'uso degli ESAs fu se la completa normalizzazione dei livelli emoglobinici, rispetto alla loro parziale correzione, fosse associata a benefici su end point hard, quali eventi cardiovascolari e mortalità. Proprio con questi scopi, negli ultimi anni, sono stati eseguiti numerosi grossi trial, che purtroppo non hanno dato risultati confortanti in tal senso.

Il Normal Hematocrit Cardiac Trial (NHCT)⁽⁴⁵⁾ è stato il primo trial a suggerire che portare i valori di Hb nel range normale, con l'uso degli ESAs, potrebbe essere pericoloso per gli outcomes cardiovascolari.

Furono infatti arruolati 1233 pazienti con evidenza clinica di scompenso cardiaco o malattia ischemica coronarica, che erano già in dialisi ed in terapia con epoetina alfa e furono assegnati a ricevere dosi crescenti di epoetina alfa per raggiungere valori di ematocrito normali(42+3%) o mantenere valori più bassi (30+ 3%). Questo trial è stato bloccato dopo un follow up di circa 14 mesi, perché il 33% dei pazienti del braccio con ematocrito "normale" era morto o aveva avuto un IMA non fatale, rispetto al 27% del gruppo con ematocrito più basso (risk ratio 1.3, 95%CI 0.9 - 1.9). I dati sarebbero stati sicuramente più significativi se il trial non fosse stato interrotto prematuramente.

I risultati del Correction of Hemoglobin and Outcomes in Renal Insufficiency (CHOIR)⁽⁴⁶⁾ trial, su pazienti con anemia ed insufficienza renale, sono stati simili, sebbene la popolazione in studio differisse alquanto dall'NHCT. I pazienti, infatti, non erano in dialisi né in trattamento con ESAs, e non tutti presentavano una malattia cardiovascolare. I ricercatori arruolarono 1432 pazienti, di cui molti diabetici, a ricevere epoetina alfa e i due bracci di trattamento avevano un target di Hb rispettivamente di 13.5 g/dl o di 11.3 g/dl. Anche questo trial fu interrotto prima del termine ed esattamente dopo un follow up di circa 16 mesi, allorché si evidenziò che nel braccio con target 13.5 g/dl, l'end point composito (morte, IMA, ricovero per scompenso cardiaco o stroke) avveniva nel 17.5%, rispetto al 13.5% del gruppo con target di Hb più basso (hazard ratio 1.34, 95% CI 1.03-1.74; P= 0.03).

Il Cardiovascular Risk Reduction by Early Anemia Treatment with Epoetin Beta (CREATE)⁽⁴⁷⁾ ha studiato 633 pazienti con insufficienza renale allo stadio 3-4, in trattamento con epoetina beta, randomizzandoli in due bracci di trattamento con target di Hb, simili a quelli dello studio CHOIR. Anche in questo trial molti pazienti presentavano diabete mellito. L'end point primario era un insieme di otto eventi cardiovascolari (morte improvvisa, IMA, scompenso cardiaco, stroke, TIA, angina pectoris, aritmie cardiache e complicanze da arteriopatia periferica). Nei tre anni dello studio non ci sono state significative differenze fra i due gruppi per quanto riguarda gli eventi cardiovascolari e la progressione dell'insufficienza renale.

Le conclusioni di questi trials sono state ulteriormente supportate da un ampio studio osservazionale⁽⁴⁸⁾, che ha dimostrato una maggiore sopravvivenza nei pazienti con ESRD che avevano un valore di Hb tra 12 e 13 g/dl, rispetto a coloro che avevano valori superiori a 13 g/dl.

Ma i pazienti diabetici e nefropatici sono a elevatissimo rischio cardiovascolare e gli studi finora eseguiti non erano stati rivolti in maniera specifica ad una popolazione di diabetici. Per sopperire a questa carenza sono stati disegnati e portati a termine due studi su questa specifica popolazione.

L'ACORD trial⁽⁴⁹⁾ ha studiato gli effetti della correzione dell'anemia sulla struttura e funzionalità cardiaca in 172 pazienti diabetici con anemia e precoce nefropatia. I risultati indicano che la correzione dell'anemia ha effetti benefici solo sulla prevenzione dell'ipertrofia ventricolare sinistra e non sulla sua riduzione.

Il Trial to Reduce Cardiovascular Events with Aranesp Therapy (TREAT)⁽⁵⁰⁾, è stato disegnato come uno studio multinazionale, randomizzato, doppio cieco, controllato con placebo, che aveva lo scopo di determinare se il trattamento dell'anemia con darbepoetina alfa riducesse il rischio di morte e di eventi cardiovascolari maggiori in diabetici con nefropatia. I pazienti erano randomizzati a ricevere darbepoetina alfa o placebo. La dose del farmaco era titolata per raggiungere e mantenere una concentrazione di Hb di circa 13 g/dl. Il trial arruolò 4038 pazienti. La concentrazione dell'Hb media raggiunta nel gruppo in trattamento fu di 12.5 g/dl, mentre nel gruppo placebo fu di 10.6 g/dl. Dopo un follow up medio di 29 mesi, non si è evidenziato alcun beneficio nel gruppo trattato. Le morti o gli eventi cardiovascolari erano il 31.4% nel gruppo con darbepoetina, mentre erano il 29.7% nel gruppo placebo (hazard ratio 1.05 per darbepoetina, 95% CI 0.94-1.17). Ma nel gruppo in trattamento con darbepoetina, rispetto al placebo si è visto un significativo e sostanziale aumento dell'incidenza di stroke fatali e non fatali (5% vs 2.6%; hazard ratio 1.92, 95% CI 1.38-2.68; P < 0.001) ed un significativo maggior numero di eventi trombotici.

Per cercare dei benefici clinici correlati all'incremento dei valori di Hb, tutti questi trial hanno anche valutato dei questionari sulla qualità della vita. Gli effetti generali si sono dimostrati di lieve entità ed inconsistenti e in ogni caso, non hanno raggiunto evidenze convincenti di benefici sulla qualità della vita, tali da avere un peso rilevante rispetto all'aumentato rischio di IMA, stroke e morte.

Cosa può spiegare l'aumentata mortalità associata agli alti livelli di Hb raggiunti dopo terapia con gli ESAs? Che cosa annulla il teoretico vantaggio della maggiore disponibilità di O₂ e della migliore emodinamica cardiaca, secondari all'aumento dei valori di Hb? Probabilmente sono molti i meccanismi che entrano in gioco e sono così intrecciati fra di loro che è difficile poterli estrapolare dai dati dei trials clinici. Fra queste cause possiamo includere la presenza delle varie comorbidità nei pazienti arruolati, che spesso impediscono il raggiungimento dei target terapeutici, l'aumentata viscosità ematica, la trombofilia conseguente, la frequente secondaria ipertensione, l'ipervolemia, e non ultima, la potenziale tossicità delle dosi suprafisiologiche degli ESAs. Quest'ultima possibilità è stata suggerita dallo studio di Regidor⁽⁴⁸⁾, in cui la mortalità per tutte le cause aumentava allorché il dosaggio settimanale degli ESAs superava le 5.999 U, mentre la mortalità cardiovascolare aumentava allorché si superavano le 11.999 U settimanali. Anche una analisi secondaria dello stu-

dio CHOIR⁽⁵¹⁾, ha dimostrato che l'impossibilità di raggiungere il target di Hb, così come alte dosi di epoetina (> 20.000 U/sett), erano responsabili di un significativo incremento della mortalità; e questo aumentato rischio di mortalità alle alte dosi è stato visto sia nei soggetti del braccio con alti target di Hb, che in quelli che avevano il target più basso. Gli autori hanno quindi ipotizzato che l'aumento del dosaggio di epoetina avesse una diretta correlazione con la peggiore prognosi. Questo è soprattutto vero in quei pazienti che sono incapaci di raggiungere i livelli target di Hb e sono quindi costretti ad aumentare progressivamente le dosi degli ESAs, nel tentativo di raggiungere un target che non potrà essere mai raggiunto. Per cui limitare il dosaggio degli ESAs, soprattutto in quei soggetti che non raggiungono il target di Hb, potrebbe costituire una ottima e sicura strategia. Szczech ha inoltre evidenziato che la maggior parte dei soggetti che non raggiungevano i loro target di Hb si trovavano nel braccio ad alto target (37.5% vs 4.7%) e questi soggetti sono quei pazienti con flogosi cronica o altre comorbidità che possono quindi essere considerati responsabili dell'aumentata mortalità. In contrasto con questi risultati, invece nell'NHCT⁽⁴⁵⁾, non è stata trovata alcuna correlazione tra dosaggi e rischio di mortalità.

La relazione fra dosi e mortalità potrebbe essere anche spiegata da eventuali azioni pleiotrofiche degli ESAs, o dalla loro cinetica. I recettori per l'EPO sono stati trovati in molti tessuti (cervello, retina, cuore, rene, cellule muscolari lisce, endotelio etc), per cui non è difficile pensare che alte dosi di tali farmaci possano innescare meccanismi patogenetici che inducono un aumentato rischio di mortalità. Inoltre, quando alte dosi di ESAs vengono somministrate, sia in via sottocutanea che endovenosa, vi è un rapido incremento dei livelli di eritropoietina serica, seguito da un rapido declino. Queste rapide oscillazioni della concentrazione, potrebbero rivelarsi molto pericolose. Abbiamo già visto che i pazienti con CKD, si trovano in uno stato di flogosi cronica, con incremento di tutte le citochine, che a loro volta possono comportare una riduzione della sintesi di EPO, o una resistenza. Ma è stato osservato da Keithi-Reddy⁽⁵²⁾, che i pazienti trattati con ESAs, hanno livelli molto elevati di citochine (interleukina-6, interleukina-8, tumor necrosis factor-alfa). Si potrebbe quindi pensare che gli ESAs possano indurre o accentuare uno stato infiammatorio e quindi aumentare in tal modo il rischio di mortalità. Ma come già detto, tutti questi fattori possono intrecciarsi fra di loro, per cui ancora sfugge la vera causa.

In conclusione, gli studi CHOIR e TREAT ci insegnano che i target di 13-14 g/dl di Hb, nonché i dosaggi di ESAs per raggiungerli, sono pericolosi e che va sempre fatta una valutazione clinica dei pazienti e delle loro comorbidità. E dovrebbe essere rivalutato il principio di iniziare una terapia con ESAs in assenza di sintomi e in presenza di una arbitraria soglia di Hb come 11g/dl. I pazienti inoltre, dovrebbero essere ben informati

sui benefici e sui potenziali rischi di tale terapia, almeno finchè l'impatto del trattamento dell'anemia nella CKD non è ancora ben conosciuto. Un atteggiamento prudente, che si accontenti di target emoglobinici più bassi, specialmente in quei soggetti che mostrano una iporesponsività alla terapia, potrebbe evitare così di aumentare il rischio di eventi cardiovascolari, che è già di per sé molto alto in questa tipologia di pazienti.

BIBLIOGRAFIA

- McClellan W, Aronoff SL, Bolton WK et al. The prevalence of anemia in patients with chronic kidney disease. *Curr Med Res Opin* 20:1501-1510, 2004
- Lundin AP. Quality of life: subjective and objective improvements with recombinant human erythropoietin therapy. *Semin Nephrol* 9:22-29, 1989
- Rossing K, Christensen PK, Hovind P et al. Progression of nephropathy in type 2 diabetic patients. *Kidney Int* 66:1596-1605, 2004
- Bosman D, Winkler A, Marsden J, et al. Anemia with erythropoietin deficiency occurs early in diabetic nephropathy. *Diabetes Care* 24:495-499, 2001
- Ishimura E, Okumo S, et al. Diabetes mellitus increases the severity of anemia in non dialyzed patients with renal failure. *J Nephrol* 11:83-86, 1998
- Dikow R, Schwenger V, Schömig M, Ritz E. How should we manage anemia in patients with diabetes? *Nephrol Dial Transplant*, 17(S):67-72, 2002
- Kazmi WH, Annamaria TK, Khan S, Abichandan I, Ruthazer R, Obrador G, Pereira BJG. Anemia: An early complication of chronic renal insufficiency. *Am J Kidney Dis* 38:803-812, 2001
- Valderrabano F, Hörl WH, MacDougall IC, Rossert J, Rutowski B, Wauters JP. Pre-dialysis survey on anemia management. *Nephrol Dial Transplant*, 18:89-100, 2003
- Thomas CM, MacIsaac RJ, Tsalamandris C, Power D, Jerums G. Unrecognized anemia in patients with diabetes. *Diabetes Care* 26:1164-1169, 2003
- Astor BC, Muntner P, Levin A, Eristace JA, Coresh J. Association of kidney function with anemia: the third national health and nutrition examination survey (1988-1994). *Arch Intern Med* 162:1401-1408, 2002
- Thomas MC, MacIsaac RJ, Tsalamandris C, Molyneux L, Gombina I, Fulche G, Yve D, Jerums G. The Burden of anemia in type 2 diabetes and the role of nephropathy: A cross-Sectional study. *Nephrol Dial Transpl* 19:1792-1797, 2004
- El-Achkar TM, Ohmit SE, McCullough PA, Crook ED, Brown WW, et al. Higher prevalence of anemia with diabetes mellitus in moderate kidney insufficiency: The Kidney Early Evaluation Program. *Kidney International*, 67: 1483-1488, 2005
- Ravanan R., Spiro R., Mathieson PW & Smith RM. Impact of diabetes on haemoglobin levels in renal disease. *Diabetologia* 50: 26-31, 2007
- Radtko, HW, Claussner A, Erbes PM, Scheuermann EH, Schoeppe W, and Koch KM Serum erythropoietin concentration in chronic renal failure: relationship to degree of anemia and excretory renal function. *Blood* 54: 877-884, 1979
- Basturk, T. Altuntas Y, Kurklu A, Aydin L, Eren N, Unsal A. Urinary N-acetyl B-glucosaminidase as an earlier marker of diabetic nephropathy and influence of low-dose perindopril/indapamide combination. *Ren. Fail.* 28: 125-128, 2006
- Catalano C, Winocour PH, Gillespie S, Gibb I. & Alberti, K G. Effect of posture and acute glycaemic control on the excretion of retinol-binding protein in normoalbuminuric insulin-dependent diabetic patients. *Clin. Sci.(Lond.)* 84: 461-467, 1993
- Jones S C, Saunders H J & Pollock C A. High glucose increases growth and collagen synthesis in cultured human tubulointerstitial cells. *Diabet. Med.* 16; 932-938, 1999
- Allen D A, Harwood S, Varagunam M, Raftery M J & Yaqoob M M. High glucose-induced oxidative stress causes apoptosis in proximal tubular epithelial cells and is mediated by multiple caspases. *FASEB J.* 17: 908-910, 2003
- Phillips A O, Topley N, Steadman R, Morrissey K & Williams JD. Induction of TGFβ1 synthesis in D-glucose primed human proximal tubular cells by IL-1-β and TNF-α. *Kidney Int.* 50: 1546-1554, 1996
- Higgins DF, Biju MP, Akai Y, Wutz A, Johnson RS, and Haase VH. Hypoxic induction of CTGF is directly mediated by HIF-1. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 287: F1223-F1232, 2004
- Iyer N V, Kotch LE, Agani F, Leung SW et al. Cellular and developmental control of O2 homeostasis by hypoxia-inducible factor 1α. *Genes Dev.* 12: 149-162, 1998
- Carmeliet P, Dor Y, Herbert JM, Fukumura D et al. Role of HIF-1α in hypoxia-mediated apoptosis, cell proliferation and tumour angiogenesis. *Nature* 394: 485-490, 1998
- Maxwell P. HIF-1 an oxygen response system with special relevance to the kidney. *J. Am. Soc. Nephrol.* 14: 2712-2722, 2003
- Catrina S B, Okamoto K, Pereira T, Brismar, K & Poellinger L. Hyperglycemia regulates hypoxia-inducible factor-1α protein stability and function. *Diabetes* 53: 3226-3232, 2004
- Symeonidis A, Symeonidis AK, Psiroyiannis A, Leotsinidis M et al. Inappropriately low erythropoietin response for the degree of anemia in patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus. *Ann. Hematol.* 85: 79-85, 2006
- Thomas M C, Tsalamandris C, MacIsaac R. & Jerums G. Functional erythropoietin deficiency in patients with type 2 diabetes and anaemia. *Diabet. Med.* 23: 502-509, 2006
- Craig K J, Williams JD, Riley SG, Smith H et al. Anemia and diabetes in the absence of nephropathy. *Diabetes Care* 28: 1118-1123, 2005
- Dikow R, Schwenger V, Schomig M & Ritz E. How should we manage anaemia in patients with diabetes? *Nephrol. Dial. Transplant.* 17(Suppl. 1): 67-72, 2002
- Bosman D R, Osborne CA, Marsden JT, Macdougall IC, et al. Erythropoietin response to hypoxia in patients with diabetic autonomic neuropathy and nondiabetic chronic renal failure. *Diabet. Med.* 19: 65-69, 2002
- Macdougall I C and Cooper A C. Erythropoietin resistance: the role of inflammation and proinflammatory cytokines. *Nephrol. Dial. Transplant.* 17 (Suppl. 11): 39-43, 2002
- Weiss G and Goodnough LT. Anemia of Chronic Disease. *N Engl J Med* 352: 1011-1023, 2005.
- Saltzman M B & McCallum R W. Diabetes and the stomach. *Yale J. Biol. Med.* 56: 179-187, 1983.
- Marrollo M, Latella G, Melideo G, Storelli E et al. in-

- creased prevalence of *Helicobacter pylori* in patients with diabetes mellitus. *Dig. Liver Dis.* 33: 21–29, 2001.
34. De Block C E, Van Campenhout CM, De Leeuw IH, Keenoy BM et al. Soluble transferrin receptor level: a new marker of iron-deficiency anemia, a common manifestation of gastricautoimmunity in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 23: 1384–1388, 2000.
 35. Thomas M C, Macisaac R J, Tsalamandris C& Jerums G. Elevated iron indices in patients with diabetes. *Diabet. Med.* 21: 798–802, 2004.
 36. Ting R Z, Szeto C C, Chan M H, Ma K K& Chow K M. Risk factors of vitamin B12 deficiency in patients receiving metformin. *Arch.Intern. Med.* 166: 1975–1979, 2006
 - 37) Ishani A, Weinhandl E, Zhao Z, Gilbertson DT et al. Angiotensin-converting enzyme inhibitor as a risk factor for the development of anemia, and the impact of incident anemia on mortality in patients with left ventricular dysfunction. *J.Am.Coll. Cardiol* 45: 391–399, 2005.
 38. De La Tour DD, Raccah D, Jannot MF e al. Na⁺/K⁺-ATPase activity and diabetes: relationship with C-peptide level. *Diabetologia* 9: 1080-1084, 1998.
 39. Nakao T, Matsumoto H, Okada T e al. Influence of erythropoietin treatment on hemoglobin A1c levels in patients with chronic renal failure on hemodialysis. *Intern. Med.* 37: 826-830, 1998.
 40. Cotroneo P, Ricerca AM, Todaro L, Pitocco D et al. Blunted erythropoietin response to anemia in patients with type 1 diabetes. *Diabetes. Metab. Res. Rev.* 16: 172–176, 2000.
 41. Keane WF, Lyle PA. Recent advances in management of type 2 diabetes and nephropathy: lessons from the RE-NAAL study. *Am J Kidney Dis* 41: S22–S25, 2003.
 42. Thomas MC, Tsalamandris C, MacIsaac R, Jerums G. Anemia in diabetes: an emerging complication of microvascular disease. *Current Diabetes Reviews* 1: 107–126, 2005.
 43. Deicher R, Horl WH. Anaemia as a risk factor for the progression of chronic kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 12: 139–143, 2003.
 44. Maiese K, Li F, Chong ZZ. New avenues of exploration for erythropoietin. *JAMA* 293: 90–95, 2005.
 45. Besarab A, Bolton WK, Browne JK, et al. The effects of normal as compared with low hematocrit values in patients with cardiac disease who are receiving hemodialysis and epoetin. *N Engl J Med* 339: 584-590, 1998.
 46. Singh AK, Szczech L, Tang KL, et al. Correction of anemia with epoetin alfa in chronic kidney disease. *N Engl J Med* 355: 2085-2098, 2006.
 47. Drüeke TB, Locatelli F, Clyne N et al. Normalization of hemoglobin level in patients with chronic kidney disease and anemia. *N Engl J Med* 355: 2071-2084, 2006.
 48. Regidor DL, Kopple JD, Kovesdy CP et al. Associations between changes in hemoglobin and administered erythropoiesis-stimulating agent and survival in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 17: 1181–1191, 2006.
 49. Ritz E, Laville M, Bilous RW, O'Donoghue D et al. Target level for hemoglobin correction in patients with diabetes and CKD: primary results of the Anemia Correction in Diabetes (ACORD) study. *Am. J. Kidney Dis* 49: 194–207, 2007.
 50. Pfeffer MA, Burdmann EA, Chen C-Y, et al. A trial of darbepoetin alfa in type 2 diabetes and chronic kidney disease. *N Engl J Med* 361: 2019-2032, 2009.
 51. Szczech LA, Barnhart HX, Inrig JK et al. Secondary analysis of the CHOIR trial epoetin- α dose and achieved hemoglobin outcomes. *Kidney Int* 74: 791–798, 2008.
 52. Keithi-Reddy SR, Addabbo F, Patel TV et al. Association of anemia and erythropoiesis stimulating agents with inflammatory biomarkers in chronic kidney disease. *Kidney Int* 74: 782–790, 2008.

