

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PARMA

Dottorato di ricerca in Fisiopatologia Dell'Insufficienza
renale

Ciclo XXII

EFFETTI A LUNGO TERMINE DI UNA DIETA A BASSO
VERSUS UNA DIETA A MODERATO CONTENUTO
PROTEICO SULLA PROGRESSIONE DELLA
INSUFFICIENZA RENALE CRONICA

Coordinatore:

Chiar.mo Prof. Carlo Buzio

Tutor:

Chiar.mo Prof. Salvatore David

Dottorando: Dott. Andrea Pota

L'effetto della restrizione proteica sulla sopravvivenza di pazienti con Insufficienza renale cronica (CKD) è sconosciuto. Il razionale per il quale si pensa che possa esserci un effetto è basato sulla capacità della restrizione proteica di controllare una serie di meccanismi della patologia renale cronica che sono considerati responsabili dell'alta morbilità e mortalità di questi pazienti. Un ridotto apporto dietetico di proteine, sodio e fosforo è in grado di ridurre l'accumulo di composti azotati, di ottimizzare i livelli sierici di bicarbonati, potassio e fosforo (1-4), di prevenire lo sviluppo di un severo iperparatiroidismo secondario(5-6) e di una severa ipertensione arteriosa (7-8) e di ridurre la proteinuria (9-10) e il grado di anemia (11).

C'è larga evidenza in letteratura che gli stadi avanzati di CKD, incluso lo stadio che prevede una terapia sostitutiva con emodialisi, sono caratterizzati da un' elevata frequenza di outcome avversi (12). In ogni caso è ancora incerto come il raggiungimento degli standard clinici e metabolici suggeriti dalle linee guida internazionali con la terapia dietetica, possa diminuire il rischio di inizio della terapia dialitica e il rischio di morte nei pazienti con CKD in terapia conservativa.

Solo di recente il “Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) Study Group” ha investigato sugli effetti di una dieta a basso contenuto di proteine (LPD) sull’ingresso in dialisi o sulla mortalità per tutte le cause, attraverso un’estensione del follow-up del trial originario (13). Tale studio ha esplorato come la somministrazione di una dieta a basso contenuto proteico (0.58 g/kg/die), comparata con una dieta a contenuto proteico normale (1.3 g/kg/die), possa influenzare il rischio di ingresso in dialisi o dell’outcome composito morte renale (ingresso in dialisi e morte per tutte le cause). In ogni caso il maggiore limite di questo studio è stato l’assenza di dati nel follow-up e di informazioni dietetiche dopo il completamento del trial.

Abbiamo già pubblicato i dati di un trial randomizzato controllato su pazienti con CKD stadi 4-5 (volume di filtrazione glomerulare [eGFR] < 30 mL/min/1.73 m²) sugli effetti metabolici di due regimi dietetici basati su differenti introiti proteici: 0.55 e 0.80 g/kg/die (4). Nel presente studio sono riportati i risultati di un follow up di 48 mesi del trial iniziale.

Questo studio si prefiggeva di determinare:

- 1) se è da prendere in considerazione il rischio di malnutrizione, principale fattore di interruzione di una dieta ipoproteica, e se questo incrementa al decrescere dell'introito proteico.
- 2) la misura dell'aderenza dei pazienti ad un regime dietetico prescritto.
- 3) come gli outcomes sono influenzati dalle prescrizioni dietetiche e dallo stato nutrizionale dei pazienti attraverso un attento controllo metabolico e al raggiungimento dei targets suggeriti dalle linee guida della National kidney Foundation (K-DOQI) per i 7 maggiori fattori di rischio cardiovascolari (14-17).

Il disegno dello studio, inoltre, ci ha permesso di testare se esiste un effetto della prescrizione dietetica che si protragga dopo l'inizio della terapia dialitica.

METODI

Disegno dello studio

Lo studio è stato condotto presso la Nefrologia dell'Università di Napoli Federico II, dove 753 pazienti consecutivi (CKD stadi 2-5) afferenti al day hospital di Terapia nutrizionale e farmacologica dell'insufficienza renale cronica sono stati screenati da Gennaio 1999 a Gennaio 2003. I dettagli dello studio sono stati descritti precedentemente (4). Lo studio è stato approvato dal comitato etico locale. Brevemente, sono stati adottati i seguenti criteri di arruolamento: età > 18 anni ed una funzione renale stabile con eGFR basale < 30mL/min/1.73 m². Dopo un controllo mensile effettuato nei primi tre mesi (run-in), i pazienti con una funzione renale stabile (variabilità del eGFR < 15%) sono stati considerati eleggibili per lo studio. Durante questo periodo di run-in i pazienti mantenevano la loro dieta precedente. La funzione renale era espressa come eGFR calcolato utilizzando la formula a sei variabili derivata dallo studio MDRD (18).

All'inizio dello studio (baseline), 423 pazienti sono stati arruolati (Figura 1) e assegnati in maniera random ad una delle due diete

test: 0.55 g di proteine per kilogrammo di peso corporeo ideale al giorno (LPD) o 0.80 g di proteine per kilogrammo di peso corporeo ideale al giorno (moderata restrizione proteica [MPD]). Una semplice sequenza di randomizzazione è stata generata usando un computer e realizzata utilizzando buste di carta opache numerate che erano aperte in sequenza da personale amministrativo non coinvolto nello studio. I quantitativi di proteine delle due diete test sono stati scelti sulla base del minimo fabbisogno proteico (0.55 g/kg/die) per la popolazione generale come raccomandato dalla Organizzazione Mondiale della Sanità (19) e del fabbisogno proteico del 97.5% della popolazione adulta (0.75 g/kg/die), al quale è stato aggiunto 0.05 g/kg/die (20). Tutti i pazienti hanno ricevuto supplementi multivitaminici e di calcio, ma a nessun paziente sono stati prescritti chetoanaloghi. Supplementi di ferro sono stati somministrati se necessari e l'introito di sodio è stato ristretto a 2.5 g/die (sodio cloruro 5 g/die). I dettagli delle diete prescritte sono riportati nelle appendici 1 e 2.

I dati demografici e clinici sono stati ottenuti al baseline. La malattia di base è stata classificata in accordo con i codici della

European Renal Association. I dati delle comorbidità sono stati indicizzati per tutti i pazienti utilizzando il metodo di Charlson (21).

Dopo la randomizzazione i pazienti sono stati istruiti per modificare il loro introito di proteine, sodio, fosforo e, se necessario, calorie in modo da ottenere gli obiettivi della dieta assegnata. Le istruzioni dietetiche e la verifica dell'aderenza alla dieta prescritta sono state eseguite da una esperta dietista per tutti i pazienti inclusi nello studio ad ogni visita.

Stima dell'introito proteico e della malnutrizione

L'introito proteico con la dieta è stato stimato in condizioni stabili, non cataboliche, utilizzando l'escrezione giornaliera di azoto ureico (22). L'aderenza alla prescrizione di calorie è stata verificata ad ogni visita dalla dietista e attraverso un attento monitoraggio delle variazioni di peso corporeo. La creatininuria delle 24 ore è stata utilizzata come indicatore della perdita di massa muscolare (23).

La malnutrizione proteico-calorica è stata definita come il verificarsi di uno dei seguenti eventi: perdita di peso corporeo > 5% in 1 mese o 7.5% in 3 mesi o indice di massa corporea (BMI) <20

kg/m² con livelli di albumina sierica < 3.2 g/dL e normali livelli di proteina C reattiva (< 0.5 mg/dL).

Follow-up a lungo termine

I 423 pazienti sono stati seguiti presso lo stesso centro dal momento della randomizzazione fino al 31 Dicembre 2006 o fino alla morte. Da protocollo, i partecipanti sono stati inseriti in una fase estensiva dello studio di trenta mesi successiva al trial iniziale di diciotto mesi.

Sono stati pianificati esami laboratoristici alla randomizzazione ed ogni 6 mesi, includendo anche la fase estensiva, fino alla fine dello studio o fino all'inizio della terapia dialitica. Gli analiti considerati erano: azoto ureico sierico, creatininemia, fosforemia, calcemia, paratormone intatto, colesterolemia totale, HDL e LDL colesterolo, trigliceridemia, emoglobinemia, albuminemia, transferrinemia, bicarbonatemia. Campioni di azoto ureico, creatinina, sodio potassio, fosforo, e proteine sono stati ottenuti dalla raccolta delle urine delle 24 ore. Per i dosaggi degli analiti ematici ed urinari sono state utilizzate procedure laboratoristiche standard. Personale addestrato era responsabile della pianificazione degli esami

laboratoristici e degli appuntamenti per i controlli clinici dei pazienti inseriti nel protocollo. Per evitare la perdita di informazioni il personale incaricato per la pianificazione del follow-up contattava i partecipanti due volte prima di ogni visita. Un nuovo appuntamento entro due settimane veniva stabilito per tutti i pazienti che non erano presenti ad una visita del follow-up.

I partecipanti hanno seguito la dieta assegnata e hanno ricevuto gli stessi controlli clinici e dietetici dello studio precedente fino a che la terapia dialitica non si rendesse necessaria. La malnutrizione è stata valutata ad ogni visita. Terapie farmacologiche e non farmacologiche sono state utilizzate per raggiungere i target desiderati di emoglobina (>11 g/dL), paratormone (70-110 pg/mL per lo stadio 4; 150-300 pg/mL per lo stadio 5), calcio (8.4-10.2 mg/dL), fosforo (3.5-5.5 mg/dL), pressione arteriosa (<130 mmHg per la sistolica e <80 mmHg per la diastolica) e LDL (<100 mg/dL) (14-17).

La necessità di iniziare il trattamento dialitico non è stato strettamente definito. Comunque, poiché questo studio è stato eseguito in un singolo centro, i criteri per l'inizio della terapia

dialitica erano quelli in uso nel centro ed erano omogenei per entrambi i gruppi analizzati: eGFR < 10 ml/min/1.73m², iperpotassemia, ipertensione e sovraccarico idrosalino intrattabili farmacologicamente, perdita di peso o altra evidenza di malnutrizione (24). Dei pazienti che necessitavano di un trattamento dialitico, nessuno ha ricevuto un trapianto preemptive, il 3-4% dei pazienti di entrambi i gruppi sono stati sottoposti a dialisi peritoneale, e i rimanenti hanno iniziato un trattamento con emodialisi bicarbonato standard.

Analisi statistica

Statistica descrittiva

I dati sono stati espressi come media \pm deviazione standard, mediana e range interquartile o come percentuale.

Modelli lineari

I linear mixed models (con intercetta random e slopes specifiche per ogni partecipante) sono stati usati per studiare la relazione tra il regime dietetico e le misure ripetute longitudinali di eGFR, azoto

ureico sierico, introito proteico e proteinuria. La validità di questi modelli è stata verificata utilizzando test formali e grafici.

Modelli time-to-event

Abbiamo considerato sia l'inizio della terapia dialitica che la morte come outcomes. Considerata la possibilità che questi due outcomes possano essere entrambi presenti e correlati nello stesso paziente, abbiamo creato un modello marginale per rischi competitivi (competing-risk model) (25) in aggiunta alla regressione di Cox standard per l'endpoint combinato e un modello di Cox per la mortalità in cui lo stato del paziente una volta entrato in dialisi cambiava da predialisi a dialisi cambiandone l'effetto sulla mortalità. Sia nei modelli separati per singolo evento (morte o dialisi), sia nel competing-risk model le covariate considerate per l'aggiustamento erano di due tipi: 1) time-invariant per le caratteristiche cliniche, demografiche e per l'indice di comorbidità alla randomizzazione e 2) time-varying per i valori biochimici, ematici ed urinari che variavano durante il follow-up. Per queste ultime covariate gli effetti sono stati stimati tenendo presente i valori correnti, i valori della visita precedente e la variazione dal

valore precedente. Il più grande modello considerato che avesse significato includeva tutte le variabili cliniche e biochimiche sulla base della loro plausibile relazione univariata con l'outcome, considerando l'overall model fit e la proporzionalità degli hazard ratio. Le variabili eliminate come nonconfounders sono state rimosse manualmente, monitorando le variazioni del coefficiente di esposizione e dando precedenza alla validità sulla precisione (26). Gli effetti sulla sopravvivenza di variabili che potevano essere (almeno in parte) in relazione causale con la diminuzione della funzione renale (per esempio la fosforemia), sono stati studiati trattando il eGFR come covariata e come variabile stratificata. Il contributo di tutte le covariate sulla variabile dipendente è stato analizzato con il Wald test a due code con $p < 0.05$ considerata significativa. La model specification, la proportionality assumption e l'overall fit sono stati verificati con la re-estimation, con grafici e test formali basati sui residui e testando l'interazione con il tempo delle singole variabili del modello.

Power Analysis

Assumendo una frequenza media del 10% per l'evento multiplo (inizio della terapia dialitica e morte), abbiamo stimato che uno studio di 400 partecipanti con un follow-up di quattro anni avrebbe dovuto avere una potenza del 90% per considerare significativo (2-sided $p < 0.05$) un rischio relativo di inizio dialisi o morte almeno di 0.5 (LPD vs MPD). Le analisi sono state eseguite utilizzando Stata 9.2 SE (Stata Corp, College Station, TX).

RISULTATI

Caratteristiche basali

La Tabella 1 mostra le caratteristiche basali (baseline) della popolazione di pazienti in esame. L'età media della coorte era di 61 ± 17 (DS) anni, il 57 % erano uomini, e il 12 % avevano un'anamnesi positiva per Diabete mellito tipo 2. L' eGFR medio alla baseline era 16 ± 7 mL/min/1.73 m², l'introito proteico era in media di 0.95 ± 0.11 g/kgPI/die, e la proteinuria era di 1.67 ± 2.34 g/die (mediana, 0.74 g/die; range interquartile: 0.42 to 1.95). Non c'era differenza tra i due gruppi nella distribuzione degli stadi di CKD, per il grado di funzione renale, per l'età, il sesso, l'introito proteico e la presenza di Diabete mellito. Valori simili in baseline tra i due gruppi sono stati riscontrati per i principali parametri clinici e laboratoristici (albumina sierica, emoglobina, fosforo sierico, BMI, pressione sistolica e diastolica). Nessuna differenza è stata riscontrata nell'utilizzo di eritropoietina (ESA), Ace Inibitori (ACE) e di antagonisti recettoriali per l'angiotensina (ARB).

Aderenza alla dieta prescritta e progressione della malattia renale

Considerando l'intero periodo di follow-up per ogni paziente, incluso il primo trial, i due gruppi hanno mantenuto un introito proteico significativamente differente (Gr-0.55 = 0.73 ± 0.04 g/kg/die and Gr-0.80 = 0.90 ± 0.06 g/kg/die; $p < 0.05$), con una differenza tra i due gruppi di 0.17 ± 0.05 g/die presente sin dal sesto mese di follow-up fino alla fine dello studio (Fig.2-A). La percentuale di pazienti assegnata al Gr-0.55 che aveva un introito proteico ≤ 0.7 g/kg/die, in tutte le visite del follow-up, variava tra il 25 e il 30 %. In modo simile, i livelli di BUN, che rappresentavano l'outcome primario del primo trial, incrementavano in entrambi i gruppi durante il follow-up, ma erano significativamente più bassi nel Gr-0.55, con una differenza media di 7.2 ± 2.0 mg/dL a partire dal sesto mese di follow-up (Fig.2-B). Al contrario i mixed models per eGFR e proteinuria non mostravano differenze tra i gruppi. (Fig.2-C and D). Da notare che il decremento mensile di eGFR era 0.19 ± 0.48 ml/min/1.73m² nel Gr-0.55 e di 0.18 ± 0.46 ml/min/1.73m² nel Gr-0.80.

Parametri nutrizionali durante il follow-up

La tabella 2 mostra i dati riguardanti i parametri nutrizionali dei due gruppi raccolti durante il follow-up. Entrambi i gruppi mantenevano un peso corporeo ed un'escrezione giornaliera di creatinina simile al valore basale durante l'intero periodo di osservazione. Nessuna differenza è stata osservata tra i gruppi per l'albuminemia e la transferrinemia, ed i valori di queste ultime non cambiavano durante tutto il follow-up. I valori di LDL colesterolo, invece, diminuivano significativamente nel Gr-0.55, ma non nel Gr-0.80 (Tabella 2). Durante tutto il periodo di osservazione dello studio solo tre pazienti dei 423 in esame hanno raggiunto i criteri di malnutrizione proteico-caloric prefissati nello studio: un paziente (assegnato al Gr-0.80) ha avuto una perdita di peso maggiore del 5% in un mese e due pazienti (assigned to Gr-0.55) hanno raggiunto un BMI < 20 contemporaneamente ad una albumina sierica < 3.2 g/dl.

Ingresso in dialisi e mortalità

Dopo un follow-up medio di 32 mesi (mediana 30 mesi, range interquartile: da 21 a 39 mesi) 48 pazienti sono deceduti: 23 (11 %) nel Gr-0.55 e 25 (12 %) nel Gr-0.80 con una mediana della sopravvivenza di 27 mesi (range interquartile: da 18 a 37 mesi).

Trenta di questi pazienti sono morti prima dell'inizio del trattamento dialitico. Durante il follow-up per 83 partecipanti è stato richiesto l'inizio della terapia dialitica: 41 (19%) pazienti nel Gr-0.55 e 42 (20%) pazienti nel Gr-0.80. La sopravvivenza media in dialisi era 12 ± 10 mesi (mediana 13 mesi, range interquartile: da 4 a 20 mesi). Il eGFR all'inizio della dialisi era mediamente 7 ± 2 ml/min/1.73m² (mediana 6, range interquartile: da 5 a 10) per il Gr-0.55 e 7 ± 3 ml/min/1.73m² (mediana 7, range interquartile: da 5 a 11) per il Gr-0.80. L'incidenza cumulativa di mortalità e di inizio della terapia dialitica era indipendente dal regime dietetico; infatti dei 113 pazienti che raggiungevano l'outcome composito: 56 (26%) pazienti erano assegnati al Gr-0.55 e 57 (27%) pazienti erano assegnati al Gr-0.80.

La Figura 1 mostra il numero di eventi che si erano verificati nel corso del primo trial (4) (Gen 1999 - Giu 2004) e durante questo studio di follow-up (Lug 2004 - Dic 2006). Solo l' 11% sono morti nel corso dell'intero studio; inoltre il 66% ed il 64% di questi pazienti sono rimasti in terapia conservativa e vivi rispettivamente nel Gr-0.55 e nel Gr-0.80.

Le curve di Kaplan-Meier ottenute distinguendo i due gruppi in base all'allocazione al momento della randomizzazione sono mostrate in Figura 3. Non abbiamo riscontrato nessuna differenza tra i gruppi sia in termini di sopravvivenza, sia per quanto riguarda l'inizio della dialisi, sia se si analizzano gli eventi come outcome composito (morte ed inizio dialisi). L'aggiustamento per le covariate basali, includendo anche i valori basali delle covariate che sono time varying, non modificano l'effetto della dieta prescritta sul rischio di morte o di inizio della dialisi o sull'outcome composito, che era stato osservato nella analisi unadjusted (Tabella 3). L'inizio della terapia dialitica incrementa significativamente il rischio di morte (HR 2.81, 95% CI 1.56 - 5.05). In ogni caso, anche in questo modello di Cox l'effetto del regime dietetico sulla mortalità rimane lo stesso. Risultati simili sono stati ottenuti con l'analisi dei rischi competitivi di dialisi e morte, dove i pazienti rimanevano a rischio per l'evento "morte" anche dopo aver presentato l'evento "dialisi". In questo modello per eventi multipli l'indice di comorbidità (Hazard Ratio 1.15, 95% Confidence Intervals 1.01 - 1.33) e l'età (HR 1.06, 95% CI 1.03 - 1.09) erano associate solo con la morte, mentre il fosforo sierico (HR 1.32, 95% CI 1.06 - 1.66), il eGFR (HR 0.94, 95% CI

0.91 - 0.97), la terapia con eritropoietina (HR 2.14, 95% CI 1.39 - 3.29) e l'uso di ACE inibitori o antagonisti recettoriali dell'angiotensina (HR 0.56, 95% CI 0.35 - 0.90) erano associati sia al rischio di inizio dialisi che di morte. In ogni caso l'effetto della prescrizione dietetica era lo stesso sia in presenza che in assenza di covariate e niente sembra modificare gli effetti del principale fattore di esposizione (la dieta) sugli outcomes. E' importante sottolineare che le stime puntuali degli hazard ratio della dieta a basso contenuto proteico verso quella a moderata restrizione proteica in tutti questi modelli erano sempre molto vicine a 1 (da 0.95 a 1.12) e molto imprecise, con degli intervalli di confidenza che andavano per esempio da 0.57 a 1.99.

DISCUSSIONE

Allo stato attuale delle nostre conoscenze, il presente studio rappresenta il primo tentativo di indagare, attraverso un trial randomizzato controllato, gli effetti a lungo termine (48 mesi) di una LPD sulla sopravvivenza di pazienti con CKD stadio 4-5.

Il nostro studio dimostra che :

- 1) La prescrizione di una LPD non determina perdita di proteine
- 2) La maggior parte dei pazienti regolarmente seguiti in ambito specialistico nefrologico aderiscono in modo accettabile alle restrizioni dell' introito proteico del regime dietetico prescritto
- 3) Una LPD non sembra influenzare gli out come dei pazienti

Le nostre osservazioni hanno diverse implicazioni di rilevanza clinica.

Una delle maggiori osservazioni riguardante la somministrazione di un ridotto introito proteico in pazienti con insufficienza renale è rappresentata dal rischio di perdita di proteine e malnutrizione con un possibile impatto sulla mortalità, in particolar modo dopo l'inizio

della terapia dialitica. I nostri dati non danno supporto a questo timore. I due markers più rilevanti per lo stato nutrizionale che abbiamo monitorato, peso corporeo e creatininuria, che riflettono rispettivamente i cambiamenti dell'introito calorico e della massa muscolare, rimanevano stabili per l'intera durata dello studio con entrambi i tipi di dieta. Un simile comportamento era mostrato anche da albuminemia e transferrinemia, entrambi markers di sintesi proteica e indicatori dello stato nutrizionale e dell'infiammazione. Inoltre, sia i pazienti con la LPD che quelli con la MPD erano attentamente monitorati da un team composto da un medico e una dietista e, quindi, avevano un rischio molto basso di sviluppare alterazioni dello stato nutrizionale.

Un secondo interessante risultato di questo studio è che l'introito proteico nella dieta può essere diminuito e mantenuto ristretto per un determinato periodo. Questo è vero anche se l'aderenza piena ad una LPD è ottenibile soltanto in una frazione di pazienti (25-30%). I nostri dati mostrano, infatti, che, sebbene non tutti i pazienti abbiano aderito strettamente alla dieta prescritta, la differenza media dell'introito proteico tra i due gruppi era di 0.17 g/kg/die, che, anche se minore rispetto alla differenza tra le due prescrizioni

dietetiche, è stata mantenuta per tutti i 48 mesi del periodo di studio. Risultati simili sono stati mostrati dallo studio a lungo termine del MDRD, per il quale la differenza tra una LPD ed una dieta normale era di 0.19 g/kg/die. In ogni caso per lo studio MDRD i dati erano disponibili soltanto per nove mesi dalla studio primario (13).

Un terzo risultato del presente studio riguarda il rischio di progressione verso la terapia dialitica e di morte. Come precedentemente mostrato dal nostro gruppo (4), un introito proteico di 0.55 se confrontato con uno di 0.80 g/kg/die garantisce un miglior controllo metabolico e richiede una minore prescrizione di farmaci. Determinare se una dieta con più basso contenuto di proteine fosse anche in grado di prolungare la sopravvivenza rispetto ad una dieta con una moderata restrizione proteica era il secondo principale proposito del nostro studio. I nostri risultati mostrano che il rischio di iniziare la terapia dialitica e il rischio di morte erano bassi in questa coorte di pazienti e non dipendevano dal regime dietetico. Gli unici dati disponibili in letteratura riguardanti l'impatto di una LPD sulla mortalità di pazienti con CKD sono quelli ottenuti recentemente dall'MDRD Study Group (13).

Questi autori hanno dimostrato che non ci sono benefici di una LPD su un outcome composito dialisi-morte. Bisogna notare, comunque, che questi pazienti non sono stati seguiti negli stessi centri del trial primario dopo che questo era stato completato.

Un'altra importante differenza con il nostro trial è che nello studio MDRD, una LPD (0.58 g/kg/die) era confrontata con una dieta a normale contenuto proteico (1.3 g/kg/die). Nel nostro studio entrambe le diete testate avevano un ridotto contenuto proteico, 0.55 e 0.80 g/kg/die, che rappresentano le due prescrizioni dietetiche più comunemente utilizzate nei pazienti con insufficienza renale cronica (27-29). I nostri dati e quelli del MDRD dimostrano che una LPD non ha un ruolo nel migliorare la sopravvivenza in pazienti con CKD sia rispetto ad un regime dietetico normale (13) sia rispetto ad un regime dietetico con una moderata restrizione proteica (il presente studio). In ogni caso è importante enfatizzare il fatto che la mortalità della coorte del nostro studio è molto bassa (3.8%/anno). Questo può essere spiegato da molti fattori, tra i quali il miglior controllo metabolico dei pazienti che avevano in entrambi i gruppi in esame una dieta a ridotto contenuto proteico, oppure un trattamento volto a raggiungere anche con terapie farmacologiche i

target delle linee guida KDOQI per i 7 maggiori fattori di rischio cardiovascolare in CKD, oppure entrambe le cose. Per altro verso, però, la bassa mortalità non era associata ad uno dei due schemi dietetici in particolare e potrebbe essere invece correlata al tipo di cura che nel nostro caso è stata per tutti i pazienti in un centro specialistico nefrologico e includeva, inoltre la partecipazione ad un trial (effetto Hawthorn). Una bassa mortalità è stata similmente riportata in coorti differenti di pazienti con CKD seguiti in ambiente specialistico nefrologico, quale quella del MDRD negli Stati Uniti (30), o quella del British Columbia, in Canada (31). In entrambi questi studi la mortalità media era simile a quella riscontrata nel nostro studio, rispettivamente 2.3% e 3.5%.

I risultati negativi di questo trial sono in contrasto con altri studi non randomizzati (1-11). In ogni caso gli studi osservazionali devono essere confermati da trial clinici per informare coloro che si occupano di pratica clinica e per aggiungere conoscenza alla letteratura. Rispettando questo, è necessario far notare che i meccanismi attraverso i quali le diete con restrizione proteica potrebbero influenzare la sopravvivenza sono multipli, complessi e solo parzialmente conosciuti. Questi includono la concomitante

riduzione di molti nutrienti (proteine, sodio, fosforo e calcio), la differente risposta alla terapia dietetica a seconda della malattia di base (Malattia Policistica dell'adulto o nefriti interstiziali), e non ultimo il grado di aderenza dei pazienti alla dieta prescritta. Infine, oggi il trattamento della CKD include una serie di farmaci definiti "nefroprotettivi" (32) e le interazioni tra questi ultimi e una LPD sono ancora sconosciuti. Tutti questi fattori, uniti alla necessità di un follow-up a lungo termine, rendono veramente molto difficile disegnare e portare avanti uno studio rivolto a mostrare un impatto significativo delle raccomandazioni dietetiche sulla sopravvivenza di pazienti con CKD.

Il nostro studio ha dei limiti. Il più importante è correlato alla natura secondaria delle analisi. L'ipotesi di studio riguardante una diversa sopravvivenza con due diversi regimi proteici è stata testata utilizzando i dati che derivavano da un trial randomizzato che era stato concepito per analizzare altre ipotesi relative ad outcomes metabolici e laboratoristici. Questo studio di follow-up è stato pianificato estendendo il tempo di osservazione assumendo che la LPD potesse avere un effetto maggiore di quello realmente plausibile rispetto ad una MPD sugli outcomes. In questo caso i

nostri risultati negativi potrebbero essere anche interpretati come falsi negativi. La stima puntuale dell'effetto della LPD sugli outcomes molto vicina ad 1 e gli intervalli di confidenza molto ampi (da 0.5 fino a più di 2 per il rischio di morte, per esempio) suggeriscono che dovrebbe essere pianificato uno studio molto più grande di questo e quindi molto più costoso, tenendo presente però che l'effetto desiderato potrebbe essere talmente piccolo da essere clinicamente irrilevante oppure addirittura non esistente.

Questo studio, però ha anche dei punti di forza. Questo è il primo studio che esplora gli effetti di un LPD sulla sopravvivenza di una coorte di pazienti con insufficienza renale che sono regolarmente seguiti esclusivamente da nefrologi. Inoltre abbiamo una scarsissima incidenza di pazienti persi al follow-up (16/423 pari al 3.78%). Infine l'uso di covariate time-varying rende i nostri dati altamente realistici.

In conclusione i dati relativi al follow-up dei nostri pazienti inseriti nel primo trial randomizzato controllato hanno molte maggiori implicazioni sia cliniche che in ambito della ricerca. I pazienti che sono stati sottoposti ad un regime dietetico a basso contenuto proteico (sia 0.55 che 0.80 g/kg/die) hanno diminuito il loro introito

proteico e lo hanno mantenuto per anni; anche se l'introito di proteine assunte era più alto di quello prescritto era comunque più basso del normale. Il ridotto introito proteico testato in questo studio non aumenta il rischio di malnutrizione proteico-calorica se il team che segue i pazienti nel follow-up include un medico e un dietista. Infine la prescrizione di una LPD (0.55 g/kg/die) non sembra conferire vantaggi in termini di sopravvivenza se confrontata con una MPD (0.80 g/kg/die).

Tabella 1: Caratteristiche dei pazienti in basale.

	Baseline		
	Tutti	Gr-0.55	Gr-0.80
N°	423	212	211
Età (anni)	61 ± 17	61 ± 16	62 ± 18
Maschi	240 (57)	122 (58)	118 (56)
Peso (kg)			
Maschi	78 ± 17	77 ± 17	78 ± 16
Femmine	66 ± 14	68 ± 14	64 ± 15
BMI	27.1 ± 4.9	27.0 ± 4.7	27.3 ± 5.0
CKD			
stadio 4	214 (51)	104 (49)	110 (52)
stadio 5	209 (49)	108 (51)	101 (48)
eGFR (ml/min)	16 ± 7	16 ± 6	17 ± 8
Diabete	51 (12)	24 (11)	27 (13)
ESA	47 (11)	24 (11)	23 (11)
ACE /ARB	188 (44)	97 (46)	91 (43)
Introito proteico (g/kgP.I./die)	0.95 ± 0.11	0.96 ± 0.13	0.94 ± 0.09
Albumina sierica (g/dl)	3.9 ± 0.6	4.0 ± 0.6	3.9 ± 0.7
Proteinuria (g/die)	1.67 ± 2.34	1.53 ± 2.22	1.79 ± 2.44
Pressione arteriosa sistolica (mmHg)	138 ± 27	140 ± 25	136 ± 30
Pressione arteriosa diastolica (mmHg)	77 ± 19	74 ± 21	81 ± 16
Emoglobina (g/dl)	11.8 ± 1.5	11.8 ± 1.4	11.7 ± 1.6
Fosforo sierico (mg/dl)	4.3 ± 0.9	4.5 ± 1.0	4.0 ± 0.7

Dati presentati come media ± DS o n (%) come appropriato. BMI= Indice di massa corporea. ESA= pazienti trattati con eritropoietina. ACE/ARB= pazienti trattati con ACE inibitori o con sartani o con entrambi. Fattori di conversione: Albumina da g/dL a g/l, x10; Emoglobina da g/dl a g/l, x10; Fosforo sierico da mg/dl a mmol/l, x0.3229.

TABELLA 2: Principali parametri nutrizionali dei pazienti dei due gruppi nel tempo.

	Peso corporeo (%)		Creatininuria 24h (%)		Albumina sierica(g/dl)		LDL Colesterolo(mg/dl)		Transferrina(mg/dl)	
	Gr-0.55	Gr-0.80	Gr-0.55	Gr-0.80	Gr-0.55	Gr-0.80	Gr-0.55	Gr-0.80	Gr-0.55	Gr-0.80
Baseline (423)	--	--	--	--	4.0±0.6	3.9±0.7	125±43	124±40	242±42	241±51
M 6 (404)	99.7±6.6	100.3±4.5	97.6±37.7	101.8±29.8	4.1±0.5	4.0±0.6	118±42	122±41	235±46	238±47
M 12 (390)	99.8±7.7	100.6±7.0	98.6±27.8	98.5±27.9	4.0±0.4	4.0±0.5	118±37	120±37	234±49	240±50
M 18 (376)	99.8±8.0	100.9±6.3	94.7±29.3	97.7±33.1	4.1±0.4	4.0±0.4	116±33	115±33	235±40	241±42
M 24 (359)	100.1±8.1	100.9±5.7	96.5±27.0	94.6±26.1	4.2±0.4	4.1±0.4	111±32*	123±36	232±37	234±48
M 30 (331)	99.8±8.0	100.8±5.3	95.3±26.9	93.9±28.1	4.2±0.4	4.1±0.4	110±31*	121±36	230±36	233±41
M 36 (293)	100.0±8.0	101.2±6.2	90.1±28.1	93.2±26.6	4.1±0.4	4.2±0.4	118±27	124±34	228±04	241±48
M 42 (271)	100.0±8.2	101.6±6.8	89.3±27.9	92.8±27.4	4.2±0.4	4.2±0.4	112±31*	121±34	226±42	236±47
M 48 (261)	99.9±8.4	101.8±7.3	90.1±24.4	91.9±26.5	4.2±0.4	4.1±0.4	113±29*#	111±37	215±46	225±52

M=Mese (numero di pazienti), il numero di pazienti per gruppo è lo stesso di quello riportato in figura 2; il peso corporeo e la creatininuria 24h sono presentati come % del valore basale ai vari controlli; # p<0.05 trend del Gruppo-0.55 statisticamente diverso dal Group-0.80; * p<0.05 statisticamente diverso dal baseline. Fattori di conversione: Albumina da g/dL a g/l, x10; LDL Colesterolo da mg/dl a mmol/l, x0.02586; transferrina da mg/dl a g/l, x0.01.

Tabella 3. Effetto di una dieta 0.55 Versus una dieta 0.80 sugli outcomes.

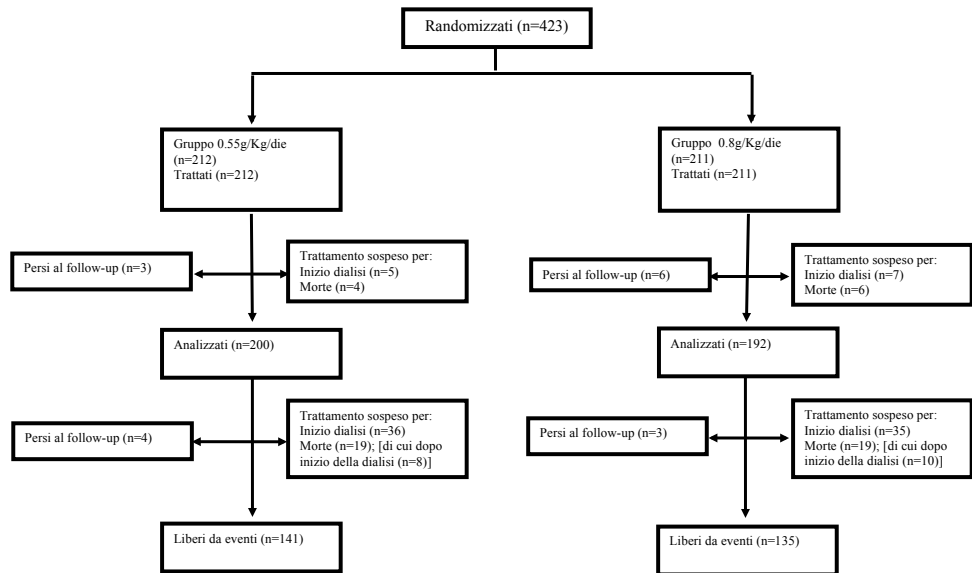
MODELLO	HR	LOWER CI95%	UPPER CI95%
PROGRESSIONE VERSO LA DIALISI			
Unadjusted	0.96	0.62	1.48
Adjusted for covariate basali	0.98	0.64	1.51
Adjusted for covariate basali + TVC	1.00	0.65	1.55
MORTALITA'			
Unadjusted	1.01	0.57	1.79
Adjusted for covariate basali	1.04	0.59	1.83
Adjusted for covariate basali + TVC	1.12	0.64	1.99
Morte con dialisi come TVC			
Adjusted for dialisi	1.01	0.57	1.79
Adjusted for dialisi + covariate basali	1.04	0.59	1.83
Adjusted for dialisi + covariate basali + TVC	1.07	0.61	1.86
END POINT COMPOSITO (morte o dialisi)			
Unadjusted	0.98	0.68	1.42
Adjusted for covariate basali	0.99	0.68	1.43
Adjusted for covariate basali + TVC	1.03	0.71	1.50
ANALISI DEI RISCHI COMPETITIVI			
Unadjusted	0.95	0.68	1.34
Adjusted for covariate basali	0.95	0.66	1.37
Adjusted for covariate basali + TVC	1.01	0.70	1.46

TVC = Covariate Time-Variant. * Include i morti prima e dopo la dialisi.

Covariate basali: età, genere, indice di comorbidità, eGFR basale.

Covariate Time-Variant: eGFR, Introito proteico, Fosforemia, terapia con eritropoietina, terapia con ACE inibitori, antagonisti recettoriali dell'angiotensina o con entrambi.

1° Periodo (Gen 1999- Giu 2004)
2° Periodo (Lug 2004 - Dic 2006)



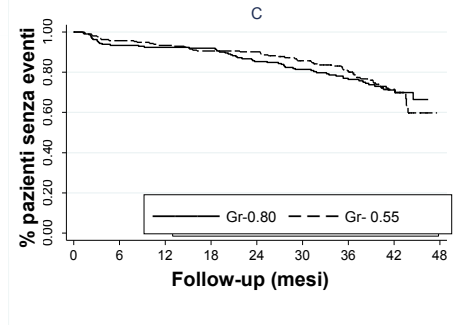
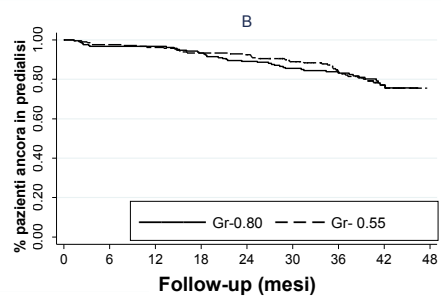
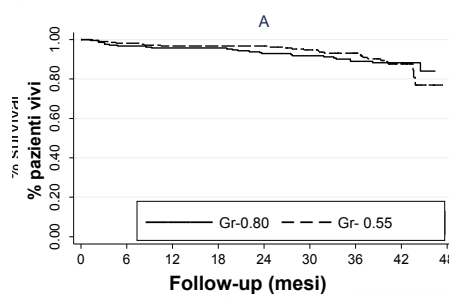
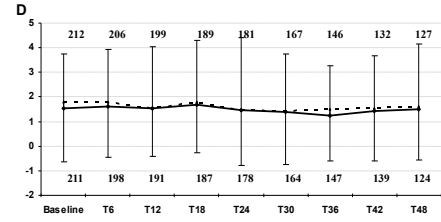
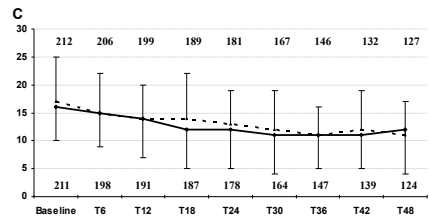
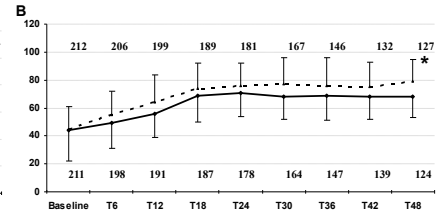
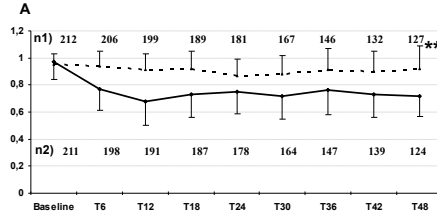


Figura 1: Diagramma (consort) che indica la selezione dei pazienti e l'interruzione del trattamento in accordo con il gruppo in cui i pazienti erano stati allocati. 1° Periodo (Gen 1999- Giu 2004): corrispondente al periodo del trial randomizzato controllato. 2° Periodo (Lug 2004 – Dic 2006): corrispondente al follow-up a lungo termine.

Figura 2: A. Introito proteico, g/kg/die, B. BUN, mg/dl, C. GFR, ml/min/1.73m² and D. Proteinuria, g/day durante l'intero follow-up. — Gr-0.55, Gr-0.80.
Abbreviazioni: T, mesi di follow-up; n1, pazienti ancora in follow up nei diversi controlli nel Gr-0.55; n2, pazienti ancora in follow up nei diversi controlli nel Gr-0.80;
p<0.05, effetto della dieta-0.55 sul trend del BUN; ** p<0.01, effetto della dieta-0.55 sul trend dell'Introito proteico.
Fattori di conversione: BUN in mg/dL to mmol/L, x0.357. Glomerular filtration rate (GFR) in mL/min/1.73m² to mL/s/1.73m², x0.01667.

Figura 3: Curve di sopravvivenza Kaplan-Meier per (A) mortalità per tutte le cause, (B) Dialisi e (C) outcome composito(Morte + Dialisi). Gr-0.55 and Gr-0.80 si riferiscono ad una prescrizione di proteine nella dieta di 0.55 e 0.80 g/kg/die rispettivamente.

Appendice 1

DIETA IPOPROTEICA per un soggetto di 70 Kg con IRC:		
Calorie 2400, (35 Kcal/kg); Proteine 0,55 g/kg		
PROTEINE:	g. 38=	6% delle calorie totali
LIPIDI:	g. 86=	32% delle calorie totali di cui acidi grassi saturi g. 14=5% delle calorie totali
GLUCIDI:	g. 377=	62% delle calorie totali di cui carboidrati solubili g. 62=10% delle calorie totali
FIBRE:	g. 15	
COESTEROLO:	mg. 75	
MINERALI:	Sodio	mg. 315
	Potassio	mg. 1738
	Ferro	mg. 5
	Calcio	mg. 148
	Fosforo	mg. 420

Appendice 1

DIETA IPOPROTEICA per un soggetto di 70 Kg con IRC:	
Calorie 2400, (35 Kcal/kg); Proteine 0,55 g/kg	
PROTEINE:	g. 38= 6% delle calorie totali
LIPIDI:	g. 86= 32% delle calorie totali di cui acidi grassi saturi g. 14=5% delle calorie totali
GLUCIDI:	g. 377= 62% delle calorie totali di cui carboidrati solubili g. 62=10% delle calorie totali
FIBRE:	g. 15
COESTEROLO:	mg. 75
MINERALI:	Sodio mg. 315
	Potassio mg. 1738
	Ferro mg. 5
	Calcio mg. 148
	Fosforo mg. 420

Bibliografia

1. Kopple JD, Coburn JW. Metabolic studies of low protein diets in uremia. I. Nitrogen and potassium. *Medicine*, 1973; 52:593-595.
2. Mitch WE and Remuzzi G:Diets For Patients With Chronic Kidney Disease, Still Worth Prescribing. *J Am Soc Nephrol* 15: 234–237, 2004.
3. Mitch. WE: Beneficial responses to modified diets in treating patients with chronic kidney disease. *Kidney Int*, 2005; 67(Suppl.94):S133-S135.
4. Cianciaruso B, Pota A, Pisani A et al. Metabolic effects of two low protein diets in chronic kidney disease stage 4-5 -- a randomized controlled trial. *Nephrol Dial Transplant*. 2008 Feb; 23(2):636-44.
5. Aparicio M, Lafage MH, Combe C et al. Low-protein diet and renal osteodystrophy. *Nephron* 1991 58: 250–252.
6. Barsotti G, Cupisti A. The role of dietary phosphorus restriction in the conservative management of chronic renal disease. *J Ren Nutr*. 2005 Jan;15(1):189-92.
7. Cianciaruso B, Bellizzi V, Minutolo R, et al. Renal adaptation to dietary sodium restriction in moderate renal failure resulting from chronic glomerular disease. *J Am Soc Nephrol*, 1996; 7: 306-313.
8. Bellizzi V, Di Iorio BR, De Nicola L et al; ERIKA Study-group. Very low protein diet supplemented with ketoanalogues

improves blood pressure control in chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2007 Feb;71(3):245-51.

9. Percheron C, Colette C, Astre C, Monnier L. Effects of moderate changes in protein intake on urinary albumin excretion in type I diabetic patients. *Nutrition*, 1995;11:345-349.
10. Gansevoort RT, de Zeeuw D, de Jong PE. Additive antiproteinuric effect of ACE inhibition and a low-protein diet in human renal disease. *Nephrol Dial Transplant*, 1995; 10:497–504.
11. Di Iorio BR, Minutolo R, De Nicola L et al. Supplemented very low protein diet ameliorates responsiveness to erythropoietin in chronic renal failure. *Kidney Int.* 2003 Nov;64(5):1822-8.
12. Go A, Chertow G, Donjell Fan MPH, et al. Chronic kidney disease and risk of death, cardiovascular events and hospitalization. *New Engl J Med* 2004;23: 1296-1305.
13. Levey AS, Greene T, Sarnak MJ et al. Effect of Dietary Protein Restriction on the Progression of Kidney Disease: Long-Term Follow-Up of the Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) Study. *Am J Kidney Dis* 2006; 48:879-888.
14. K/DOQI clinical practice guidelines on hypertension and antihypertensive agents in chronic kidney disease. Guideline 1: goals of antihypertensive therapy in CKD. *Am J Kidney Dis*, May 2004; 43(Supplement 1): 65-230.
15. K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Bone Metabolism and Disease in Chronic Kidney Disease. *Am J Kidney Dis*-October, 2003; 42(Supplement 3): 1-201.

16. K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Managing Dyslipidemias in Chronic Kidney Disease. *Am J Kidney Dis*, April 2003; 41(Supplement 3).
17. NKF-K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Anemia of Chronic Kidney Disease: Update 2000. *Am J Kidney Dis* January, 2001; 37: 182-238
18. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Int Med*, 1999; 130: 461–470.
19. FAO/WHO/UNU: Energy and protein requirements. Report of a joint expert consultation. *World Health Organ Tech Rep Ser* 724:1-206, 1985
20. Food and Nutrition Board: Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids (macronutrients), in *Dietary Reference Intakes*. Washington DC, National Academy Press, 2002, pp 1-8.
21. Charlson ME, Pompei P, Ales KL. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chron Dis* 1987; 40:373-383.
22. Maroni BJ, Steinman TI, Mitch WE. A method for estimating nitrogen intake of patients with chronic renal failure. *Kidney Int* 1985; 27: 58–65

23. Heymsfield SB, Arteaga C, McManus C, et al. Measurement of muscle mass in humans: validity of the 24-hour urinary creatinine method. *Am J Clin Nutr* 1983;37:478–94.
24. National Kidney Foundation: K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Hemodialysis Adequacy, 2000. *Am J Kidney Dis* 2001; 37 [suppl 1]: S7–S64
25. Wei L, Lin D, Weissfeld L. Regression analysis of multivariate incomplete failure time data by modeling marginal distributions. *J Am Stat Assoc.* 1989;84:1065–1073.
26. Kleinbaum DG and Klein M: Modelling strategy guidelines and Modelling Strategy for Assessing Interaction and Confounding. In: *Logistic Regression: a self-learning test.* New York, NY, Springer-Verlag, 2002; 130-226
27. National Kidney Foundation: K/DOQI Clinical Practice Guidelines for nutrition in chronic renal failure. *Am J Kidney Dis* 2000; 35 N°6 (Supplement 2).
28. Prichard S. Clinical Practice Guidelines of the Canadian Society of Nephrology for the treatment of patients with chronic renal failure: a re-examination. *Contrib Nephrol*, 2003; 140: 163-9.
29. Cianciaruso B, Barsotti G, Oldrizzi L, Gentile MG, Del Vecchio L. Italian Society of Nephrology. Conservative therapy Guidelines for chronic renal failure. *G Ital Nefrol*, 2003; 20 (Suppl 24): 48-60.
30. Menon V, Wang X, Sarnak MJ et al. Long-term outcomes in nondiabetic chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2008 Jun;73(11):1310-5.

31. Levin A, Djurdjev O, Beaulieu M, Er L. Variability and risk factors for kidney disease progression and death following attainment of stage 4 CKD in a referred cohort. *Am J Kidney Dis.* 2008 Oct;52(4):661-71.
32. Ruggenti P, Perna A, Gherardi G, Gaspari F, Benini R, Remuzzi G. Renal function and requirement for dialysis in chronic nephropathy patients on long-term ramipril: REIN follow-up trial. *Lancet* 1998;352:1252-6.