FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

TRABALHO FINAL DO 6º ANO MÉDICO COM VISTA À ATRIBUIÇÃO DO GRAU DE MESTRE NO ÂMBITO DO CICLO DE ESTUDOS DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

SANDRA CRISTINA PIRES NUNES

NEFROPATIA DIABÉTICA: NOVAS PERSPECTIVAS PATOFISIOLÓGICAS E TERAPÊUTICAS

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE NEFROLOGIA

TRABALHO REALIZADO SOB A ORIENTAÇÃO DE:
PROF. DOUTOR RUI ALVES

12/2009

1. Introdução

A Diabetes Mellitus (DM) e as complicações devastadoras que a acompanham reduzem grandemente a esperança de vida e prejudicam notoriamente a qualidade de vida dos indivíduos afectados. A Organização Mundial de Saúde estima que a prevalência da diabetes em 2030 seja de 366 milhões, o que constituirá uma grande ameaça quer para o sistema global de saúde quer para a economia mundial **(61)**.

A obesidade, que constitui a força condutora desta escalada da prevalência, é um problema crescente observado não só nos países desenvolvidos mas também naqueles em via de desenvolvimento **(61)**. Associadamente, o envelhecimento da população, a rápida urbanização, a adopção de estilos de vida pouco saudáveis e o crescente stress psicossocial, levaram ao aparecimento de doença em idades cada vez mais jovens. É por estes motivos que mais de 2/3 da população diabética reside na Ásia **(61)**. A Índia constitui o país com maior número de casos, seguida pela China, ambos os países ainda atravessar um período de grande desenvolvimento económico, com relativamente poucos recursos capazes de suportar as complicações deles decorrentes.

A diabetes é frequentemente acompanhada por um grupo variado de outras alterações metabólicas. Além da obesidade, faz-se habitualmente acompanhar de hipertensão e dislipidemia. Este conjunto de alterações metabólicas foi denominado de Síndrome Metabólico. Este conceito, desde sua introdução por Reaven em 1998, tem atraído muitas atenções, inicialmente pela associação com doenças cardiovasculares; e mais recentemente por outras condições como esteatose hepática não-alcoólica, apneia do sono, síndrome dos ovários poliquísticos e doença renal crónica.

A doença renal é uma das complicações micro-vasculares mais frequentes da DM e é de longe a maior causa de doença renal crónica e de doença renal terminal nos países

desenvolvidos. Num estudo recente, estima-se que o número de casos de Nefropatia diabética (ND) irá triplicar **(101)** caso os cuidados de saúde prestados não sejam adequados. Apesar dos fármacos actualmente disponíveis, estes carecem de especificidade para reverter ou inibir a progressão da doença.

O objectivo deste trabalho de revisão é explanar as mais recentes descobertas sobre os mecanismos fisiopatológicos e o modo como esses achados podem contribuir para o desenvolvimento de novos fármacos, mais específicos e potencialmente mais eficazes no controlo da doença. Pretende-se também com esta revisão analisar as recomendações actuais para o diagnóstico precoce da ND, reconsiderando o significado e os valores de ponto de corte da excreção urinária de albumina (EUA) e da medida da taxa de filtração glomerular (TFG). Serão também avaliadas as perspectivas futuras de medidas substitutas daqueles parâmetros, incluindo a medida da EUA não-imunoreactiva e a medida de cistatina C na avaliação da função renal.

2. Epidemiologia

A prevalência mundial da DM tem vindo a aumentar drasticamente nas últimas 2 décadas. De uma prevalência de 30 milhões de casos em 1985 passamos para 177 milhões em 2000. Estimativas recentes prevêem que mais de 360 milhões de pessoas irão ter DM no ano de 2030. Apesar da prevalência da DM tipo 1 e tipo 2 estar a aumentar por todo o mundo, temos assistido a um aumento mais rápido da prevalência da DM tipo 2, justificado pelo aumento da obesidade e sedentarismo nos países industrializados.

Em termos epidemiológicos, os melhores estudos actualmente disponíveis têm como base os doentes portadores de DM tipo 1, uma vez que a data em que se estabelece a doença é habitualmente conhecida. Sabe-se que cerca de 20 a 30% dos doentes irá apresentar microalbuminúria após um período de 15 anos de doença. Destes doentes, menos de 50% irão

progredir para nefropatia grave. Num grande número de doentes a microalbuminúria poderá regredir ou manter-se relativamente estável mediante o controlo tensional e glicémico dos doentes **(71).**

Antigamente, a incidência global de doença renal terminal em diabéticos tipo 1 era de 4 a 17% 20 anos após o diagnóstico e de 16% após 30 anos **(55)**. Estudos recentes mostram que a taxa de progressão para doença renal terminal nestes doentes diminuiu drasticamente nas últimas décadas. Além de um bom controlo glicémico, um óptimo controlo tensional e o uso de inbidores da enzima de conversão (IECAs) mostraram ser eficazes na redução incidência e progressão da nefropatia. Em doentes sem proteinúria o risco de desenvolverem doença terminal após 20 a 25 de doença é de 1% **(20)**.

A prevalência de doença renal progressiva em doentes caucasianos com diabetes tipo 2 é geralmente menor **(55)**. Contudo, esta observação não abrange todos os grupos de diabéticos tipo 2. Como exemplo disto temos os Indios Pima, nos quais, após um estudo realizado nos anos 90, se observou que cerca de 50% desenvolviam nefropatia e em 15% a doença progredia para doença renal terminal **(70)**. Apesar de constituírem um grupo de alto risco, também neles a aplicação dos mais recentes tratamentos permitiu uma redução na incidência de doença renal terminal (entre os períodos de 1991-1994 para 1999-2002 observou-se um decréscimo de 32 para 15 casos por cada 1000 doentes/ano) **(77)**. Outros grupos étnicos com elevada prevalência de nefropatia são os Asiáticos, Americanos hispânicos e de raça negra, e Europeus caucasianos **(77)**.

Dados actuais apontam para um risco de doença renal equivalente em ambos os tipos de diabetes, sendo que a prevalência global de micro e macroalbuminúria é de cerca 30% a 35% em ambos **(85)**.

3. Alterações Histopatológicas

As alterações patológicas num diabético tipo 1 são geralmente detectadas em doentes já com uma longa história de diabetes mellitus e geralmente antes do estabelecimento da microalbuminuria. Habitualmente ocorrem 3 alterações histológicas major ao nível do glomérulo: expansão mesangial; espessamento da membrana basal glomerular e esclerose glomerular **(2)**.

O espessamento da membrana basal glomerular (MBG) é geralmente a primeira alteração que pode ser quantificada. Paralelamente, ocorre também espessamento da membrana basal tubular **(76)**. Cerca de 3 a 5 anos após o estabelecimento da diabetes é possível detectar hialinose das arteríolas aferente e eferente dos glomérulos, assim como um aumento progressivo na fracção de arteríolas aferente e eferentes glomerulares ocupadas por matriz extracelular e espessamento da membrana basal **(76)**. É esta acumulação de proteínas da matriz extracelular no espaço mesangial intersticial que leva mais tarde à fibrose glomerular nos doentes diabéticos **(18)**. Esta fibrose pode apresentar-se de uma forma difusa ou nodular (lesões de Kimmelstiel-Wilson).

As proteínas da matriz habitualmente identificadas são colagénio tipo I, III e IV e fibronectina. Esta acumulação ocorre não só porque existe uma elevada síntese pelas células mesangiais, mas também porque a degradação mesangial pelas metaloproteinases da matriz se encontra reduzida. Maur e colaboradores demonstraram, após vários estudos, que existia uma clara relação entre a expansão da matriz e a progressão da doença renal **(18)**.

Há cerca de 2 décadas que é reconhecida também a relação entre a expansão tubulointersticial e o desenvolvimento de fibrose na progressão da ND. Estas alterações parecem ser críticas para a progressão final da ND para a falência renal. Contudo, esta expansão parece ser diferente da que ocorre ao nível do glomérulo, uma vez que numa fase inicial se deve sobretudo ao crescimento dos componentes celulares e só mais tarde é que

ocorre deposição de colagénio fibrilhar **(18,76)**. Foi também descrita uma forte relação entre o grau de fibrose do interstício cortical e a concentração de creatinina do soro no momento da biopsia em doentes com ND **(18)**.

Perante a existência desta forte inter-relação entre a fibrose glomerular/ tubulointersticial e o declínio progressivo da função renal, impõe-se que os mecanismos que promovem esta fibrose sejam elucidados.

3.1 Todas as células glomerulares contribuem para a fibrose

Uma vez que a expansão da matriz mesangial é a lesão glomerular que melhor prediz a futura progressão da doença, é licito pensar que a célula mesangial seria o centro deste processo esclerosante. No entanto, isso não se verifica, sabendo-se hoje que os podócitos e as células endoteliais estão também envolvidos neste processo **(18,81)**. Estudos recentes indicaram que a alterações da função e estrutura dos podócitos e a perda dos mesmos levam à glomeruloesclerose **(18)**. É hoje aceite que a perda destas células será um requisito para o desenvolvimento inicial da ND. Pensa-se que a sinalização do mesângio pelos podócitos lesados ou que os factores hemodinâmicos despoletados pela perda dos mesmos, possam ser o estimulo para que a célula mesangial reaja através da síntese MEC ou diminuição da sua degradação **(18)**.

O papel fisiológico das células endoteliais fenestradas glomerulares é reter o componente celular do sangue dentro do compartimento vascular, mantendo simultaneamente a permeabilidade e o tónus vascular **(41)**. Sabe-se hoje que o endotélio desempenha um papel activo no recrutamento de células inflamatórias e na activação plaquetar após uma lesão. No doente diabético, as células endoteliais, além de estarem em contacto com elementos lesivos do sistema circulatório (angiotensina II, produtos de glicosilação e ROS), são também afectadas pelo stress físico da pressão hidráulica e do fluxo sanguíneo **(41)**. Estudos

realizados em roedores demonstraram que a produção endotelial de NO (oxido nítrico) está desregulada e que o sistema endotelial Trombomodelina/Proteina C está comproteido. Em conjunto estas alterações parecem induzir expansão mesangial, apoptose das células endoteliais e podocitárias, esclerose glomerular e tubulo-intersticial **(50,18)**.

3.2 Participação das células tubulo-intersticiais na fibrose

Apesar da marcada importância da fibrose tubulointersticial na ND, existem ainda poucos estudos sobre este processo, em grande parte devido à falta de bons modelos animais com ND progressiva e de sistemas *in vitro.* Apesar disso, pensa-se que as células tubulares proximais e extra-tubulares contribuam para o desenvolvimento de fibrose, isto porque existem evidências de que estas células sofrem um processo de transição epitélio-mesenquimatosa **(18)**. Este processo de transição é caracterizado pela perda de contacto entre células, da polaridade apical-basal, assim como das "tight juntions" **(95)**. Assim, as células passam não só a expressar marcadores epiteliais e mesenquimatosos, como também a sintetizar proteínas específicas dos fibroblastos e actina do musculo liso-α (αSMA) **(95)**. Durante este processo ocorrem também alterações na organização de proteínas esqueléticas, levando a alterações da morfologia celular. Desta forma, as células resultantes deste processo de transição adquirem maior capacidade migratória e de síntese, permitindo a invasão tubulo-intersticial e formação de matriz **(95)**. Além disso, vários estudos confirmaram que ocorre estimulação de factores pro-fibróticos à medida que a fibrose tubulo-intersticial vai progredindo **(18)**. Dados resultantes de experiências em culturas celulares envidenciaram que a albumina consegue ligar-se a receptores existentes nas células tubulares proximais e sofrer endocitose, parecendo estes dois processos despoletar repostas pró-inflamatórias e pró-fibróticas **(18)**.

3.3 Factores Extra-renais e Sistémicos

Múltiplos factores extra-renais e sistémicos parecem também estimular respostas fibróticas tanto no tufo glomerular como no compartimento tubulo-intersticial. Crê-se que células extra-glomerulares progenitoras da célula mesangial derivadas da medula óssea e macrófagos possam contribuir significativamente para o processo fibrótico **(18)**. Paralelamente, a hipertensão glomerular e sistémica e a activação do SRAA são sem dúvida dos mais importantes factores desencadeantes de fibrose **(18)**.

4. Mecanismos Patofisiológicos

A nefropatia diabética apresenta várias fases de desenvolvimento. São múltiplos os mecanismos intervenientes, mas a doença renal resulta essencialmente de uma interacção entre factores hemodinâmicos, metabólicos e quimiotáticos, num meio geneticamente favorável **(52)**.

4.1 Factores Hemodinâmicos:

Os primeiros sinais de hiperperfusão e hiperfiltração resultam de uma diminuição da resistência quer na arteríola aferente, quer na eferente do glomérulo. São vários os mecanismos apontados como responsáveis por esta auto-regulação defeituosa, nomeadamente a activação do **Sistema Renina-Angiotensina** e **endotelina**, que por sua vez activam segundos mensageiros – Proteina cinase C, MAP cinase, factores de transcrição nuclear (NF-κB) e vários Factores de Crescimento (TGF-β, VEGF) **(27)** – cujos efeitos na fisiopatologia da doença serão abordados adiante em maior pormenor.

Estas alterações hemodinâmicas são geralmente bastante precoces na história da doença, facilitando a perda de albumina através dos capilares glomerulares, o que por sua vez constitui um estímulo para a produção de matriz pela célula mesangial, tem um efeito lesivo para os podócitos e desencadeia o espessamento da MBG **(27)**. Além disto, o aumento do stress mecânico provocado por estas alterações hemodinâmicas pode induzir libertação local de citocinas e dos factores de crescimento já referidos **(27)**.

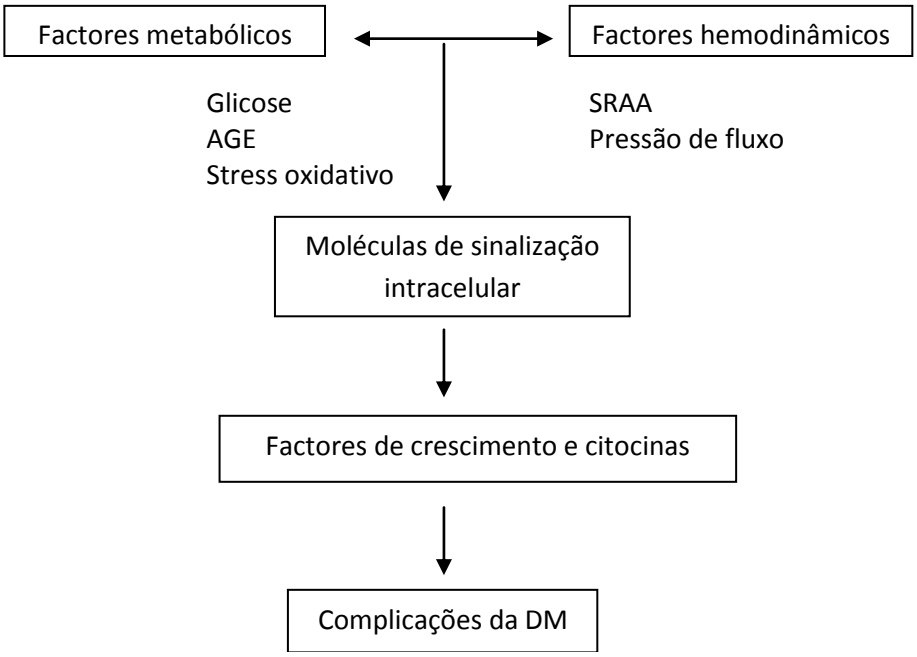
O papel da auto-regulação defeituosa do SRAA como mediador parcial destas alterações é apoiado pelo facto de o uso de bloqueadores deste sistema conseguir preservar a função e morfologia renal. Concomitantemente, estes bloqueadores antagonizam os efeitos pró-fibróticos da Angiotensina II, ao diminuir a sua estimulação pelo TGF-β1 **(27)**.

A Endotelina-1 (ET-1) é uma das principais citocinas produzidas pelas células endoteliais vasculares, mas pode ser também produzida nas células do músculo liso, macrófagos, leucócitos, cardiomiócitos e fibroblastos. A nível renal pode ser secretada pelas células endoteliais glomerulares, mesangiais e epiteliais. São dois os subtipos de receptores ($ET\text{-}1_A$ e $ET\text{-}1_B$) que medeiam os efeitos da ET-1. O subtipo A tem efeitos vasoconstritores e mitogénicos, ao passo que o subtipo B tem efeitos duais (vasodilatação/vasoconstrição). As células do músculo liso expressam ambos os subtipos, enquanto as células endoteliais apenas o subtipo B **(52)**. A activação destes receptores a nível renal leva à vasoconstrição, inibição da reabsorção de água e sais e estimula a proliferação glomerular. Alterações quer do mRNA quer dos receptores da ET-1 foram identificadas em modelos de animais diabéticos **(52)**. Em vários estudos em humanos conseguiu-se identificar uma correlação entre os níveis plasmáticos e urinários da ET-1 e os sinais dos diferentes estádios da nefropatia diabética (hiperfiltração; expansão mesangial; micro e/ou macroalbuminúria) **(52)**.

4.2 Factores Metabólicos:

A hiperglicémia é um factor crucial no desenvolvimento da nefropatia diabética, devido sobretudo aos seus efeitos sobre as células glomerulares e mesangiais. As células mesangiais são importantes para a manutenção da estrutura dos capilares glomerulares e na modulação da filtração glomerular. A hiperglicémia está associada a um aumento da proliferação das células mesangiais e à sua hipertrofia, assim como a um aumento da matriz e espessamento da membrana basal glomerular. No entanto, esta expansão das células mesangiais é mediada apenas em parte por uma elevação na concentração de glicose, isto porque foram observadas alterações semelhantes num meio com normal concentração de glicose, mas em que existia uma sobre-expressão dos transportadores de glicose – GLUT 1 e 4 – que por sua vez aumentam a entrada de glicose nas células **(27)**.

Pensa-se que a hiperglicémia poderá também levar a uma maior expressão do Factor de crecimento do endotélio vascular (VEGF), indutor de uma maior permeabilidade vascular.



Esquema 1. *Factores metabólicos e hemodinâmicos importantes na ND* ***(adaptado de 95)***

A hiperglicémia é necessária para a ocorrência de lesão, mas isoladamente não é a única responsável pela doença. Foram propostos 3 mecanismos para explicar como a hiperglicémia poderá causar lesão renal **(27)**:

1- Glicosilação não enzimática com formação de AGEs

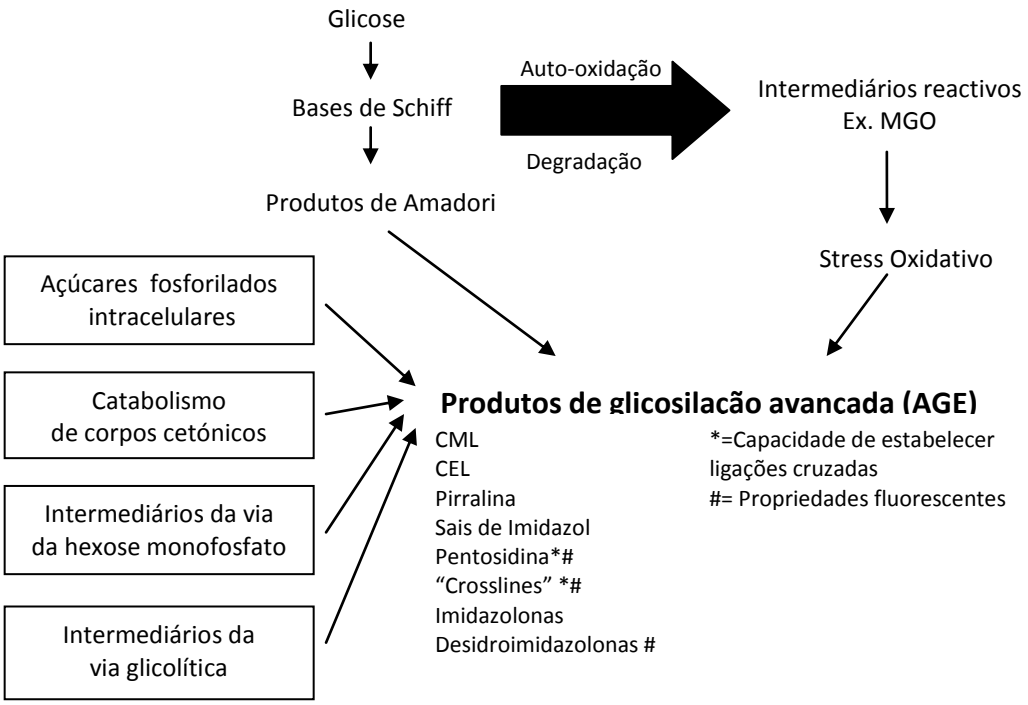
2- Activação da proteína cinase C (PKC)

3- Activação da via da aldolase redutase

4.2.1 Papel dos produtos finais da glicosilação avançada:

A glicosilação avançada tem uma importância particular não só no desenvolvimento da nefropatia diabética como também no desenvolvimento de complicações cardiovasculares – ateroesclerose e enrigecimento da parede arterial e miocárdica. Os produtos finais (AGEs) formados a partir desta via são um grupo heterogéneo de compostos resultantes de "Reacções de Maillard" nas quais os açúcares redutores em excesso reagem não-enzimaticamente com aminoácidos livres (lisina e arginina), proteínas, lipidos ou ácidos nucleicos. Numa primeira fase estas reacções são rápidas, dependentes de glicose, formando-se proteínas de glicosilação potencialmente reversíveis – Bases de Schiff **(95)**. Contudo, numa fase posterior, estas reações tornam-se mais demoradas, formando-se produtos mais estáveis, que se vão interligando com o colagénio e cristalinas das paredes dos vasos, dando assim origem a uma nova série de rearranjos e produtos mais complexos – AGEs. Uma vez estabelecida uma reacção cruzada entre os AGE e uma proteína, estes tornam-se resistentes à degradação proteolítica. Os AGEs podem também exercer os seus efeitos deletérios através da activação de receptores tradutores de sinais - RAGE – os quais pertencem a uma superfamília de imunoglobolinas e que são expressos por diversas células (monócitos/macrofagos; células endoteliais, mesangiais e podócitos) **(95)**. A ligação destes receptores aos AGEs activa um conjunto de vias implicadas na patogenia da nefropatia diabética tais como: formação de

espécies reactivas de oxigénio (ROS), activação da PKC e NF-κB, indução da expressão de diversos factores de crescimento e citocinas como TGF-β e VEGF.



Esquema 2. *Mecanismos intervenientes na produção de AGEs* ***(adaptado de 2)***

4.2.2 Proteina Cinase C:

A fosforilação reversivel das proteinas é o principal meio de regulação da actividade proteica no meio intracelular. Mais de 10% das 10.000 proteinas existentes nas células são fosforiladas **(51)**. Esta reacção consiste na transferência, mediada pela PKC, de grupos fosfato de moléculas de ATP para outras moléculas alvo, que são posteriormente removidos por fosfatases proteicas.

A proteína cinase C pertence a uma grande família de enzimas, constituídas essencialmente por um domínio catalítico de 250 aminoácidos semelhante em todas, diferindo apenas nos aminoácidos existentes de cada um dos lados do referido domínio. Esta variabilidade permite a identificação e fosforilação de diferentes resíduos proteicos pelas PKs. A PKC fosforila resíduos de serina e treonina de proteínas intracelulares, habitualmente

envolvidas num grande número de funções celulares como expressão de factores de crescimento e regulação da membrana basal.

O estado de hiperglicémia que caracteriza a Diabetes Mellitus leva, por intermédio de 2ºs mensageiros, à sobre-expressão deste conjunto de enzimas, que por sua vez induzem um aumento da secreção de prostanóides vasodilatadores e activação do factor de crescimento TGF-β1 **(51)**. Esta cadeia de acções acaba por induzir um estado de hiperfiltração glomerular e de produção excessiva de matriz extracelular pelas células mesangiais.

4.2.3 Via da Aldolase reductase

Os tecidos-alvo (retina, rim, nervos) dos efeitos deletérios da diabetes são particularmente permeáveis à glicose comparativamente com outros tecidos como o adiposo e muscular cujas células apresentam um mecanismo próprio de homeostase. A aldolase reductase, enzima que catalisa a redução de glicose em sorbitol (via dos poliois), está presente em todos os tecidos que são alvo das complicações da diabetes - lente, capilares retinianos, rins, endotélio vascular e nervos periféricos. Um aumento na actividade da aldolase reductase leva à acumulação de sorbitol. Este é mais tarde convertido a frutose pela enzima desidrogenase do sorbitol, através do uso de NAD+ como substrato. Contudo, a razão NAD+/NADH vai decrescendo e consequentemente a conversão de 3-fosfoglicerato a 1,3-bifosfoglicerato é bloqueada, o que conduz a um excesso de substrato livre para ser usado na síntese de fosfoglicerol – percussor do diacilglicerol, que é um dos activadores das PKC.

A hipertonicidade estimula a expressão do gene da aldolase reductase, mas a regulação desta resposta é feita por cinases como a MAPK e a PKC. Assim, uma elevação dos níveis de glicémia pode contribuir para uma maior expressão da enzima aldolase, quer exista ou não um meio hiperosmótico. Sabe-se também que as espécies reactivas de O2, ao diminuírem os níveis de NO, contribuem para a activação da aldolase reductase.

4.3 Pro-renina

Os doentes diabéticos apresentam baixos níveis de renina e altos níveis de pró-renina comparativamente com indivíduos saudáveis **(27,47)**. Verificou-se que doentes diabéticos jovens que apresentam níveis elevados de pró-renina têm maior risco de desenvolver retinopatia ou nefropatia e que doentes diabéticos insulino-dependentes com níveis elevados de pró-renina plasmática são mais propensos a desenvolver complicações microvasculares **(47)**. Estudos efectuados em crianças e adolescentes sugerem que uma actividade elevada da pró-renina plasmática é um factor de risco para o desenvolvimento de ND **(47)**. Contudo, o mecanismo através do qual a pró-renina induz lesão continua por esclarecer.

O receptor da pró-renina encontra-se localizado não só no rim, mas também em diversos órgãos, nomeadamente coração, cérebro, olho, tecido adiposo e musculo liso vascular. A nível renal, distribui-se pelo mesângio e podócitos, contribuindo assim para a manutenção da barreira de filtração glomerular. Observando o esquema que se segue, vemos que ambas – renina e pró-renina - se conseguem ligar ao receptor, apesar da afinidade da pró-renina ser 2 a 3 vezes superior **(47)**. Sabe-se também que a actividade enzimática (capacidade de gerar angiotensina I – "actividade renínica") da renina ligada é 4 a 5 vezes superior à da renina livre **(47)**. Assim, quando o receptor da pró-renina se liga à região âncora do prosegmento da pró-renina, parece existir uma "actividade renínica" bastante semelhante à da renina livre. Além da produção de angiotensina II, este receptor parece despoletar uma via de sinalização independente na qual ocorre fosforilação da tirosina, que por sua vez promove a activação das proteínas cinases activadas por mitogénios (MAPKs), existentes nas células do musculo liso vascular, células mesangiais e células do miocárdio; **(91,90,46,47)**. A activação deste receptor parece também aumentar a produção de TGF-β1 a de proteínas da matriz, sem contudo haver uma produção de angiotensina II prévia.

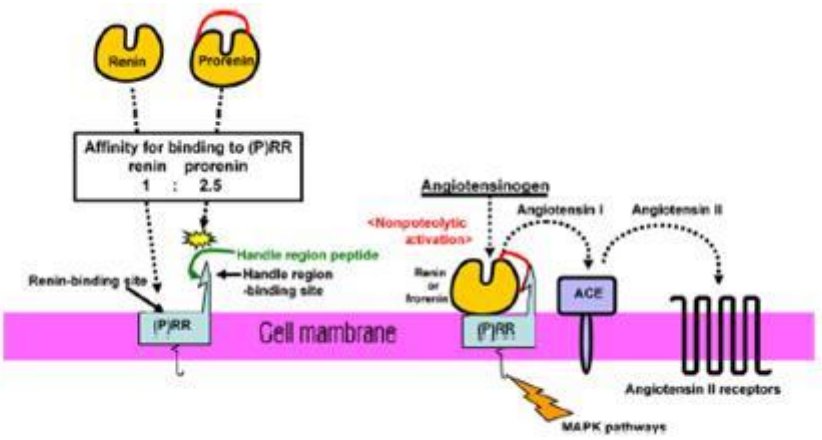


Figura x- *Vias de produção de angiotensina II e activação da proteína cinase activada por mitogénios (MAPK) dependentes da ligação de renina/pró-renina ao receptor de (pró)renina* ***(adaptado de 47)***

Foi com base nestes achados que se começou a questionar o possível papel patogénico da pró-renina no desenvolvimento da ND. Para testar esta hipótese foi desenvolvido um péptideo sintético, contendo a sequência de aminoácidos da região âncora do pró-segmento da pró-renina, com o intuito de inibir competitivamente a ligação de pró-renina ao receptor. Este péptideo foi posteriormente administrado a ratos com diabetes tipo 1 e 2, os resultados comparados com o grupo controlo tendo em conta os níveis de angiotensina I e II e o desenvolvimento de nefropatia no final do estudo **(47)**. Adicionalmente, para investigar o papel patológico da via de sinalização independente, que activa a MAPKs, procedeu-se à deleção do gene do receptor da angiotensina II tipo 1 em ratos com diabetes tipo 1, e os resultados comparados com o grupo no qual foi administrado o péptideo. No fim do estudo concluiu-se que a inibição competitiva do receptor parece suprimir estas duas importantes vias no desenvolvimento de nefropatia: a produção excessiva de angiotensina II no tecido renal e a activação da MAPK glomerular. Observou-se também uma regressão da nefropatia nos ratos com diabates tipo 1, nomeadamente dos níveis de proteinúria e de glomeruloesclerose **(99,47,48)**.

4.4 Citocinas

As citocinas são um grupo de polipeptídeos, de baixo peso molecular, com actividade autócrina, parácrina e justácrina **(69)**. Este grupo de moléculas é produzido por uma grande variedade de células e organiza-se em diferentes grupos, nomeadamente – interleucinas, factores de necrose tumoral, interferões, factores estimuladores de colónias e quimiocinas que em conjunto e de uma forma coordenada desempenham diversas e complexas respostas imunomodeladoras **(69)**. Actualmente sabe-se que a inflamação crónica e a activação do sistema imune inato desempenham um papel importante na patogénese da DM. As principais citocinas envolvidas na patogénese da diabetes são: IL-1, TNF-α, IL-6 e IL-18 **(69)**.

Em modelos experimentais de ND verificou-se que a expressão glomerular e tubular de IL-1 estava aumentada, havendo subsequentemente uma expressão aumentada de factores quimiotáticos e de moléculas de adesão, nomeadamente ICAM-1. Esta citocinas parecem também despoletar várias alterações hemodinâmicas intraglomerulares ao induzir a síntese de prostaglandinas (E2 e fosfolipase A2) e ao aumentar a permeabilidade das células endoteliais. Observou-se ainda que o IL-1 estimula a produção de ácido hialurónico, quer pelas células glomerulares quer pelas tubulares **(69)**.

Skizuka *et al.* observaram que os níveis séricos de IL-6 estavam aumentados em doentes com ND tipo2 comparativamente com os doentes diabéticos mas sem nefropatia. Observaram ainda que havia uma relação entre a gravidade da doença glomerular (expansão mesangial) e a expressão de mRNA do IL-6 **(69)**. Em estudos recentes verificou-se que havia uma relação directa entre os níveis urinários e expressão renal de IL-6 e a excreção urinária de albumina **(69)**. Estes dados apoiam a ideia de que esta citocina terá um papel importante no desenvolvimento da lesão renal, nomeadamente ao induzir a expressão de fibronectina, proliferação das células mesangiais e alterações da permeabilidade endotelial **(69)**.

A IL-18 é uma potente citocina inflamatória que estimula a activação de IFN-γ, que por sua vez induz a expressão de receptores quimiotáticos nas células mesangiais humanas. A IL-18 estimula ainda a produção de outras citocinas inflamatórias (IL-1 e TNF-α), aumenta a expressão de ICAM-1 e induz a apoptose das células endoteliais **(69)**. Esta citocina é expressa sobretudo pelo epitélio tubular renal, mas estudos recentes demonstraram que a infiltração por monócitos, macrofagos e células T poderão ser potenciais fontes desta citocina **(69)**. Observou-se também que os níveis serológicos e urinários de IL-8 estavam aumentados em doentes com ND, embora ainda não se tenha concluído se existe ou não uma relação entre estes valores e os níveis urinários de albumina, pois os dados são contraditórios **(69)**.

O TNF-α é uma citocina inflamatória pleiotrópica produzida sobretudo por monócitos, macrofagos e células T. Assim como as outras citocinas inflamatórias, a expressão e síntese de TNF-α não está limitada às células hematopoiéticas. Diversas células renais, como as células mesangiais, glomerulares, endoteliais, dendríticas e tubulares são também capazes de produzir esta citocina **(69)**. São várias as acções desempenhadas pelo TNF-α nas células renais, entre as quais a activação de segundos mensageiros, factores de transcrição e síntese de citocinas, factores de crescimento, receptores, moléculas de adesão celular, mediadores inflamatórios, proteínas de fase aguda e proteínas MHC. Esta variada actividade biológica desencadeia igualmente múltiplos efeitos de significativa importância no desenvolvimento de lesão renal. O TNF-α é citotóxico para as células renais conseguindo assim induzir lesão directa nestas células. Esta citocina também é capaz de induzir apoptose, alterações do fluxo sanguíneo intraglomerular e da TFG ao provocar um desequilíbrio hemodinâmico entre mediadores vasoconstritores/vasodilatadores e ao provocar alterações da permeabilidade endotelial. Além destas alterações, o TNF-α consegue ainda induzir em diversas células renais a síntese de ROS, ao activar a NADPH oxidase através da PKC e MAPK. A geração local de ROS vai alterar a função de barreira das paredes dos capilares glomerulares, aumentado assim

a permeabilidade dos capilares para a albumina. Em vários estudos realizados em roedores diabéticos foi observado repetidamente um aumento do mRNA codificador do TNF nas células glomerulares e tubulares o que reforçou a ideia de que esta citocina tem um papel importante no desenvolvimento inicial da ND **(69)**. Estudos realizados com base em técnicas de microdiálise demonstraram um aumento siginificativo dos níveis de TNF-α no fluido intersticial e urina, que precedem o desenvolvimento de albuminúria. Este achado sugere que existe uma relação directa entre as concentrações urinárias e renais desta citocina e a excreção urinária de albumina **(69)**.

4.5 Factores de Crescimento

São múltiplos os mediadores intervenientes na patogénese da ND, porém todos eles acabam por convergir num ponto comum que é a activação do TFG-β, do seu receptor renal e de um conjunto de moléculas intracelulares denominadas Smad. Em conjunto, estas moléculas medeiam a acumulação de MEC nas células mesangiais, tubulares e intersticiais. Foi através do uso de inibidores do TGF-β (anticorpos neutralizadores), e da ablação do gene Smad3 em modelos animais que se conseguiu chegar a esta conclusão. Existem, contudo, sérias dúvidas quanto ao papel do TGF-β como um dos mediadores de albuminúria. A perda de proteínas através da barreira de filtração glomerular deve-se sobretudo a uma alteração na composição da membrana glomerular e da integridade dos podócitos. Sabe-se, também, que além do importante papel fibrogénico, o TGF-β desempenha funções reguladoras do crescimento e diferenciação celular, imunomodeladoras e de produção de citocinas **(72)**.

Apesar de existirem evidências crescentes que sugerem que o Factor de crescimento do endotélio vascular (VEGF) aumenta a permeabilidade da barreira de filtração às proteínas **(27,115)**, o papel deste factor de crescimento é ainda pouco claro **(27)**. Importantes estudos realizados em animais, em que se conseguiu inibir o VEGF através do uso de anticorpos

neutralizadores e de pequenas moléculas inibidoras do receptor, demonstraram uma diminuição marcada da albuminúria **(72)**.

O Factor de crescimento derivado do tecido conjuntivo (CTGF) parece também ser um mediador dos efeitos pró-fibróticos. É um membro da família das CCN que consiste em 6 proteínas reguladoras da matriz celular e que desempenham as suas funções de acordo com a ligação de moléculas sinalizadoras extracelulares a um dos seus quatro domínios **(72)**. As funções biológicas deste factor de crescimento são diversas e complexas. O CTGF é fundamental para a produção de MEC ou qualquer outra actividade pro-fibrótica desencadeada em resposta ao TGF-β. Está também envolvido no crescimento e diferenciação celular, migração, apoptose, angiogénese e condrogénese **(72)**. O TGF-β induz a produção deste factor, que por sua vez amplifica a actividade do primeiro. Logo após a sua identificação, observou-se que a expressão de mRNA do CTGF estava fortemente aumentada nas células mesangiais de doentes diabéticos e em células humanas em cultura num meio hiperglicémico **(72)**. Após alguns estudos in vitro chegou-se à conclusão que a sua expressão era regulada não só pelo TGF e glicémia, mas também por outros factores como angiotensina II, aldosterona e forças mecânicas cíclicas.

4.6 Mediadores lipídicos

Pequenas moléculas lipídicas derivadas do ácido araquidónico têm vindo a ser implicadas na patogénese da ND. O ácido araquidónico é clivado pela ciclo-oxigenase II em diferentes prostanóides. Em modelos de ratos diabéticos, foram observados níveis elevados de prostanóides inflamatórios, tais com prostaglandinas E2 e I2 **(27)**. Também em alguns estudos animais e na mácula densa de rins humanos portadores de diabetes foi detectada uma elevada expressão de ciclo-oxigenase **(27)**. O ácido araquidónico pode também ser oxidado pelas lipoxigenases. Surgem cada vez mais evidências que alguns dos produtos resultantes dessa

oxidação poderão contribuir para a patogénese da ND, nomeadamente vários estudos em animais, portadores da doença, nos quais os níveis de lipoxigenase 12 e 15 sem encontram aumentados **(39,27)**. Parece haver cada vez mais fundamentos para considerar este mecanismo um dos mediadores chave da hipertrofia mesangial e acumulação de matriz. São, no entanto, necessários mais estudos para que se consiga caracterizar mais detalhadamente este processo.

4.7 Stress Oxidativo

Evidências crescentes apontam para que uma produção exagerada de espécies reactivas de oxigénio (ROS) contribua para o desenvolvimento de complicações vasculares da diabetes, assim como da diabetes *per se* **(86,35)**. Sabe-se hoje que a excessiva produção de ROS na diabetes é uma consequência da hiperglicémia **(86,35)** e que são vários os tipos de células capazes de as produzir, nomeadamente células endoteliais, do musculo liso vascular, mesangiais e epeteliais tubulares. Devido à capacidade destas espécies reactivas de oxidarem e danificarem directamente DNA, proteínas, lípidos e hidratos de carbono, acredita-se que terão um papel fundamental nas complicações tardias da diabetes.

Além desta capacidade de danificar directamente as macromoléculas, as ROS podem funcionar como moléculas sinalizadoras, activando assim diversas vias causadoras de lesão celular **(35)**. Por exemplo, em condições de hiperglicémia, as ROS medeiam a activação de cascatas de tradução e de factores de transcrição, que por sua vez activam a transcrição de genes pró-fibróticos.

As ROS podem ainda funcionar como amplificadores de lesão, estimulando moléculas como PKC, TFG-β e angiotensina II, que por sua vez levam à formação de ROS ou exercem os seus efeitos sinalizadores através destas espécies reactivas **(35)**.

4.8 Nefrina

A nefrina é uma proteína transmembranar pertencente à superfamília das imunoglobulinas. O NPSH1, gene que a codifica, encontra-se no cromossoma 19. A nefrina encontra-se habitualmente nos podócitos, e é crucial para a manutenção da integridade da barreira de filtração. Esta proteína é também expressa no pâncreas e sistema nervoso. O desenvolvimento renal e o seu normal funcionamento baseiam-se na interacção que ocorre entre os podócitos e as células endoteliais glomerulares. A fenestração das células endoteliais glomerulares é induzida pelo factor de crescimento do endotélio vascular (VEGF), molécula esta que é expressa e secretada pelos podócitos. As células endoteliais, por sua vez, modulam a expressão de VEGF. Foi também demonstrado que a adição de VEGF exógeno a culturas de podócitos humanos, induziu um aumento de nefrina fosforilada, o que poderá prevenir a apoptose dos podócitos **(41)**.

A expressão de nefrina parece estar reduzida nos doentes portadores de ND, e apesar de o mecanismo não estar completamente esclarecido, aquele achado parece ser mediado pelo aumento dos níveis de angiotensina II e dos produtos finais da glicosilação **(59,41)**. Pensa-se que o tratamento com inibidores do SRAA poderá ter um efeito protector, uma vez que diabéticos tipo 2 mantiveram uma expressão estável de nefrina após 2 anos de tratamento, comparativamente com aqueles que não foram submetidos ao tratamento **(27)**.

4.9 Proteínas morfogenéticas do osso

A expressão aumentada de genes intervenientes no desenvolvimento, entre os quais as proteínas morfogenéticas do osso (BMPs) e Gremelin (antagonista das BMPs) apoiam a ideia de que os processos ontogénicos são importantes no desenvolvimento da ND **(27,114)**.

As BMPs são homodímeros da superfamília das TGF-β de citocinas não-cisteínicas **(31,72,114)**. Esta superfamília inclui mais de 20 BMPs, de entre as quais a BMP-7 é o

membro mais proeminente e primariamente expresso nos túbulos e glomérulos renais. Além do seu importante papel no desenvolvimento renal, também participam na regulação do crescimento, diferenciação, quimiotaxia e apoptose de várias células adultas tais como as células epiteliais, mesenquimatosas, hematopoiéticas e neorológicas **(113,114)**. A perda da expressão da BMP-7 endógena foi observada em ratos diabéticos e parece estar também associada a actividade pro-fibrótica **(72,114)**. Em modelos animais diabéticos a expressão da BMP-7 encontra-se reduzida a 50% após 15 semanas de doença. Em cultura de células tubulares níveis elevados de TGF-β reduzem a expressão de BMP-7 e dos receptores tipo I e II destas BMPs **(72,114)**. Morrissey e colaboradores conseguiram demonstrar que a administração exógena de BMP recombinante poderá reduzir parcialmente a fibrose intersticial e glomerular da ND induzida experimentalmente **(72,114)**.

A actividade renal da BMP-7 não é determinada apenas pela sua disponibilidade, mas também pelo balanço entre agonistas como as proteinas Kielina/Cordina (KCP), e antagonistas como o Gremelin. O Gremelin é uma proteína com 184 aa, pertencente à superfamília das citocinas não cisteinicas, que desempenha um papel importante no desenvolvimento dos membros, rins e na diferenciação celular da crista neural. No adulto saudável a expressão renal de Gremelin é practicamente indetectável. Contudo, em diferentes modelos de doença renal, incluindo a ND, a expressão deste antagonista aumenta significativamente, sendo observado predominantemente em áreas de fibrose tubulointersticial. Parece haver uma correlação directa entre os níveis do mRNA do Gremelin e os níveis de creatinina sérica e o grau de fibrose **(25,114)**. Sabe-se ainda que meios com elevada glicemia, TGF-β e sujeitos a força mecânicas cíclicas induzem uma expressão elevada de Gremelin **(114)**. Com base nestes dados chegou-se à conclusão que o Gremelin terá um papel significativo na patogénese da fibrose tubulointersticial da ND.

4.10 Susceptibilidade Genética

Apenas um 1/3 a ½ dos doentes diabéticos irão desenvolver doença renal significativa. A hipertensão, mau controlo glicémico, albuminúria e os principais factores de risco para o desenvolvimento de ND não conseguem, contudo, explicar a grande variabilidade interindividual. O genótipo parece ser um importante determinante tanto da incidência como da gravidade da nefropatia. A probabilidade de desenvolver nefropatia é marcadamente maior nos doentes que têm irmãos ou pais portadores de doença. Um estudo realizado em famílias de Indios Pima com DM tipo 2 concluiu que a probabilidade da descendência desenvolver proteinúria era de 14% se nenhum dos pais apresentasse proteinuria; 23% se um deles tivesse e de 46% se ambos apresentassem **(27)**. Vários estudos analisaram uma grande variedade de genes canditados entre os quais o da renina-angiotensina, do oxido nítrico e das bradicininas, não tendo, até à data, sido possível definir um conjunto de genes responsáveis ou indicadores de um maior risco de desenvolver ND.

Avanços na genética molecular permitiram o desenvolvimento de um sistema de genotipagem de polimorfismos determinados por apenas 1 nucleótido **(27)**. Estes polimorfismos correspondem a cerca de 90% das variações do genoma humano e pensa-se que aproximadamente 300.000 serão funcionantes, pois ocorrem em regiões codificadoras e promotoras **(69)**.

O polimorfismo do gene da enzima conversora da angiotensina tem sido intensamente estudado, tendo-se concluído que um polimorfismo de inserção-deleção é responsável pela diferença dos níveis enzimáticos entre os indivíduos. Assim, diabéticos tipo 2, portadores de polimorfismo DD dos gene ECA terá um maior risco de desenvolver ND, proteinúria severa, falência renal e de mortalidade durante a diálise **(27)**. Também em mais de 1000 doentes, caucasianos, portadores de DM tipo 1 foi observada uma correlação entre variações do gene ECA e o desenvolvimento de nefropatia **(27)**.

Foram identificados vários polimorfismos na região promotora do CTGF que podem potencialmente contribuir para a susceptibilidade de alguns doentes desenvolverem alterações fibróticas em detrimento de outros doentes em condições semelhantes. Contudo, continua por esclarecer se estes polimorfismos estão ou não associados com os níveis elevados de CTGF e se predispõem ou não a uma maior susceptibilidade de desenvolver fibrose renal.

Foi identificada uma associação significativa entre polimorfismos dos genes que codificam o IL-1β e o IL-1RN (receptor antagonista do IL-1) e a nefropatia diabética **(69)**. Os genes que codificam a IL-6 e o seu receptor apresentam também várias regiões polimórficas que parecem constituir potenciais factores de susceptibilidade genética para a progressão da ND **(69)**. O gene do TNF-α, localizado no cromossoma 6, é altamente polimórfico. O polimorfismo localizado na posição 308 parece estar significativamente associado a um risco acrescido de falência renal em diabéticos tipo 2 **(69)**.

A procura e estudo de diferentes polimorfismos associados à ND é fundamental na busca de um maior entendimento sobre a origem e patogénese desta complicação da DM, no aperfeiçoamento do conhecimento já adquirido sobre as variações individuais, e poderá permitir no futuro identificar os doentes com maior susceptibilidade de desenvolver a doença ou aqueles em que a doença terá um prognóstico mais sombrio. Estes polimorfismos poderão ainda constituir novos alvos terapêuticos.

5. Novos e Antigos Marcadores de progressão da Nefropatia diabética

O estabelecimento de nefropatia é caracterizado pelo aumento da excreção de albumina e/ou aumento transitório da Taxa de filtração glomerular (TFG). Em indivíduos com predisposição para desenvolver nefropatia diabética e que não recebem tratamento adequado ocorre um aumento exponencial na Taxa de excreção de albumina (TEA) ao longo dos anos e uma diminuição linear da TFG após o estabelecimento de nefropatia marcada. Esta percepção tem sido tradicionalmente categorizada como transição de normo para micro e por fim para macroalbuminúria. Apesar da albuminúria ser um marcador muito sensível de lesão renal, carece de especificidade como marcador de ND **(51)**.

Recentemente, questionou-se se a albuminúria deverá ser estimada por imunoensaio ou por cromatografia líquida de alta definição (CAD). Contudo, esta última técnica sobrestima a TEA nas fases iniciais de normo e microalbuminúria **(51)**. Foram inclusivamente realizados vários estudos na comunidade, entre os quais o "the Prevention of Renal and Vascular End-stage Disease" (PREVEND) **(45,51)** e o "Australian Diabetes, Obesity and Lifestyle" (AusDiab) **(5,51)** que mostraram que indivíduos não diabéticos apresentavam, após realização de CAD, elevações dos níveis de albumina semelhantes à dos indivíduos diabéticos com normoalbuminúria **(51)**. Para realmente se perceber melhor o papel da CAD como um potencial método na detecção de progressão de doença, será necessário delinear limiares a partir dos quais se considera a passagem de normo para micro, e desta para macroalbuminúria.

Os estádios da nefropatia, quer sejam determinados através da TEA ou da TFG, deverão ser categorizados para que assim se possa avaliar a progressão da doença. O facto de serem duas variáveis contínuas poderá levar à ocorrência de problemas de interpretação em alguns

ensaios clínicos ou até mesmo na prática clínica. Se, por um lado, a variação percentual das variáveis é um método de escolha num contexto de investigação, é muitas vezes necessário recorrer a uma notação categórica num contexto clínico devido à ausência de vigilância regular **(51)**. Este dilema é ilustrado na tabela seguinte:

	Função		**Estrutura**
	AER	**GFR**	
Contínua	variação percentual/ano	• variação percentual/ano • ml/min/ano	• expansão mesangial • espessamento da MBG • fibrose intersticial
Categórica	• Microalbuminúria • Macroalbuminúria	• Duplicação da creatinina • Transição entre estádios da doença renal crónica • Doença renal terminal	perda de nefrónios

Tabela 1- *Categorias versus marcadores contínuos da nefropatia* ***(adaptado de 51)***

Tradicionalmente, a TFG é considerada um índice menos sensível na avaliação da progressão da doença. Só após o estabelecimento de um estádio avançado de doença é que é notória uma diminuição progressiva da TFG. São vários os marcadores usados na medição da TFG. A **inulina** tem sido considerada o **gold standard**, mas outros como o iohexol, Tc-DTPA e ácido tetracético de etileno diaminico (EDTA) oferecem uma precisão bastante similar. Contudo, todos eles requerem medições muito complexas e morosas, além de que são marcadores extremamente caros. Estas limitações levaram à procura de susbtitutos. Existem duas fórmulas bastante usadas – a Cockroft-Gault e a MDRD-4. Esta última é bastante precisa para TFG < 60ml/min/1.73m^2; no entanto, ambas são influenciados por variações no peso e massa muscular **(51)** e pela ocorrência de secreção tubular de creatinina que erroneamente sobre-estima a TFG. Adicionalmente, são conhecidas possíveis interferências de substâncias endógenas (bilirrubinas, cetonas e glicose) e exógenas (cefalosporinas) na sua aferição **(51)**.

A **Cistatina C** é um novo marcador que tem vindo a ganhar progressivamente mais relevo sobretudo para TFG elevadas. Estudos realizados em doente diabéticos tipo 2 mostram que a Cistatina C fornece uma estimativa mais precisa para TFG < 60ml/min/1,73m^2 quando comparada com a creatinina sérica, C-G e MDRD-4. Mas é sobretudo em TFG > 90ml/min/1,73m^2 que as estimativas deste novo marcador são consideravelmente superiores **(51)**. A cistatina C é um inibidor da cisteina protease, encontra-se em todas as células e é livremente filtrado pelo glomérulo. Não é influenciado pela idade, peso, raça ou ingestão proteica. Existem algumas evidências que relacionam este marcador com processos inflamatórios, mas ainda não é claro se será apenas reflexo da grande sensibilidade deste índice ou se existe um efeito directo da inflamação na elevação dos níveis de cistatina C **(51)**. Embora os primeiros estudos sobre a cistatina C se tenham iniciado em 1985, o teste laboratorial apenas recentemente foi comercializado, encontrando-se disponível pelas técnicas automatizadas de imunonefelometria e imunoturbidimetria, ambas muito rápidas e sensíveis e que podem ser incluídas nas rotinas dos laboratórios clínicos.

A cistatina C parece ser também uma boa preditora do risco cardiovascular **(66)** e de desenvolvimento de diabetes **(26,66)**. Num estudo caso-controlo, foram acompanhados 1466 doentes não diabéticos com doença cardiovascular basal, tendo-se evidenciado um aumento de três vezes no risco de desenvolver diabetes nos doentes que apresentavam concentrações elevadas de cistatina C no início do estudo **(26,66)**. Verificou-se que os valores de cistatina sérica se distribuem segundo uma curva de Gauss e sofrem apenas pequenas variações de acordo com o sexo **(3,66)**. A partir dos 60 anos de idade, ocorre aumento significativo da cistatina C por causa da queda da filtração glomerular causada pelo envelhecimento. Desta forma, a cistatina C têm-se mostrado um marcador de função renal bastante promissor, sensível e independente de género, factores nutricionais e massa corpórea **(80,66)**.

Método	Vantagem	Desvantagem	Comentários
Clearance de creatinina	O doseamento da excreção urinária de creatinina nas 24h permite avaliar a completude da colheita de urina	• Subestima a hiperfiltração e sobre-estima a TFG nos estádios 3 e 4 • Morosa e requer treino por parte dos pacientes para que as colheitas sejam completas	Subestima a progressão da TFG
Cockroft-Gault	Tem em conta o peso para o cálculo da TFG estimada	• Subestima a TFG nos estádios 1 e 2 da insuf. renal	Subestima a progressão da TFG nos estádios 1 e 2 da insuf. renal
MDRD-4	• Adequada para cálculo automatizado • Fiável nos estádios 3 e 4	• Influenciada pelo peso e massa muscular • Subestima a TFG nos estádios 1 e 2 da insuf. renal	Subestima a progressão da TFG nos estádios 1 e 2 da insuf. renal
Cistatina C	Independente do peso e da massa muscular	• Mais cara que a creatinina • Valores falsamente diminuídos de TFG com inflamação, corticóides e hipertiroidismo	Bom marcador de progressão da TFG nos estádios 1 e 2

Tabela 2- *Comparação dos métodos de determinação da TFG* ***(adaptado de 51)***

Estudos recentes proporcionaram novas perspectivas na relação existente entre o declínio progressivo da função renal e a taxa de excreção de albumina em doentes numa fase inicial, mas já com microalbuminuria **(51)**. Num estudo interventivo e multifactorial, doentes hipertensos e diabéticos tipo 2 receberam tratamento apertado durante 8 anos. No fim desse período conclui-se que os doentes intensivamente tratados apresentavam uma redução significativa (50%) da albuminúria comparativamente com o grupo controlo que apresentava um aumento dos níveis de albuminúria. No entanto, o declínio da TFG durante esse mesmo período foi semelhante nos dois grupos – 3-4 ml/min/1,73m^2. Posteriormente foi ainda realizada, nos mesmos doentes, uma avaliação anual das alterações da TFG, tendo-se chegado à conclusão que os doentes que reverteram para normoalbuminúria apresentavam uma taxa de declínio menor (2,3 ml/min/1,73m^2) que aqueles que se mantinham normoalbuminúricos (3,7 ml/min/1,73m^2) ou que tinham progredido para nefropatia marcada (5,4 ml/min/1,73m^2) **(51)**.

Achados semelhantes foram obtidos em outros estudos **(51)**, permitindo aferir que existe realmente uma relação entre TEA e a TFG, mesmo em estádios iniciais de nefropatia.

Diversas citocinas, como o CTGF e TGF-β têm vindo a ser apontadas como possíveis marcadores da progressão da doença **(51)**. O primeiro estudo a sugerir uma relação entre os níveis de CTGF e alterações observadas ecograficamente, foi realizado com base em biopsias de rins humanos (65 indivíduos), de entre os quais apenas 3 eram diabéticos. Nesse estudo, o número de mRNA de CTGF positivo nas células estava de acordo com o score fibrótico da biopsia e com o CTGF urinário. Num estudo subsequente, já em doentes diabéticos, observou-se uma correlação entre os níveis urinários de CTGF e a razão Albumina/Creatinina, quando ambos eram apresentados através de escalas logarítmicas **(51)**. Assim, em doentes microalbuminúricos os níveis urinários de CTGF estão 10 vezes aumentados e 100 vezes aumentados em doentes macroalbuminúricos **(51)**. Pensa-se que a excreção urinária de CTGF terá predominantemente origem renal. Caso este dado se confirme, o uso deste índice de lesão renal será mais especifico que os níveis de albumina, que são bastante sensíveis mas pouco específicos. Surge ainda a possibilidade de se conseguir distinguir albuminúria associada a doença macrovascular da associada a nefropatia, através da relação entre os níveis urinários de CTGF e a TEA **(51)**. Existe também uma relação entre o TGF-β urinário e o CTGF **(51)**.

Nas considerações acima descritas deu-se ênfase aos marcadores que estão neste momento em uso ou em relação aos quais existe a possibilidade de se tornarem úteis na prática clínica.

Actualmente, novas técnicas vêm sendo aprimoradas para detecção ainda mais precoce da ND. O perfil proteómico está a ser utilizado para identificar o perfil de diferentes proteínas envolvidas tanto no estado normal como no patológico dos tecidos. A identificação de novas proteínas e da sua função permitirá não somente o entendimento da patogénese, como também a identificação de biomarcadores associados ao diagnóstico a ao possível tratamento

de algumas doenças. Como todos os métodos diagnósticos laboratoriais, a definição de biomarcadores com base na análise proteómica possui algumas limitações, tais como a necessidade de um sistema de bio-informática eficaz para armazenamento e análise de dados e da colaboração de especialistas na área de pesquisa em genoma humano. Necessita também de modelos genéticos adequados, bem como o emprego de protocolos de pesquisa para padronização dessas novas técnicas.

6. Manifestações clínicas

6.1 Normoalbuminúria

Aproximadamente 1/3 dos diabéticos tipo 1 irão ter uma elevada TFG quando comparados com indivíduos saudáveis e da mesma idade **(76)**. Esta elevação é mais pronunciada em indivíduos recentemente diagnosticados e nos períodos com deficiente controlo metabólico. Nos diabéticos tipo 2, o grau de hiperfiltração é menor.

Estudos longitudinais mostram que a hiperfiltração é um factor de risco para o aumento subsequente da excreção urinária de albumina e posterior desenvolvimento de ND no diabético tipo 1 **(76)**. Nos diabéticos tipo 2, o valor prognóstico da hiperfiltração continua a ser debatido. Contudo, sabe-se que o atingimento de um óptimo controlo metabólico neste estádio reduz a TFG para valores normais após um período de dias ou semanas, quer no diabético tipo 1 quer tipo 2.

6.2 Microalbuminúria

Em 1969, "Keen and collegues" **(76)** observaram uma elevada excreção urinária de albumina em diabéticos tipo 2 recentemente diagnosticados. Esta taxa de excreção anormal e subclínica foi denominada microalbuminúria. Nos doentes diabéticos, além da hiperglicémia,

são vários os factores que podem induzir microalbuminúria, nomeadamente hipertensão, obesidade mórbida, exercício intenso, diversas doenças agudas ou crónicas e ainda insuficiência cardíaca **(76)**. Além disso, a variação diária da excreção urinária de albumina é grande, daí que seja necessária mais do que uma amostra para determinar se um individuo tem ou não microalbuminúria persistente. Assim, está preconizado que uma excreção urinária de albumina dentro de valores considerados microalbuminúricos (30 – 300 mg/24h), em pelo menos 2 ou 3 amostras sucessivas, estéreis e sem cetonúria, é aceite como havendo microalbuminúria persistente.

Este estádio é um período silencioso, não detectável em crianças diabéticas tipo 1 com menos de 12 anos e raramente nos primeiros 5 anos de doença. Poderá ter uma duração de 10 ou mais anos, até ao aparecimento dos primeiros sintomas de nefropatia.

6.3 Nefropatia Diabética

A nefropatia diabética é uma síndrome clínica caracterizada por albuminúria persistente (> 300mg/24h); diminuição progressiva da TFG (cerca de 12 a 20); elevação da tensão arterial e da morbi-mortalidade cardiovascular **(75,76)**. Apesar da albuminúria ser o primeiro sinal; o edema periférico é o primeiro sintoma da ND, podendo progredir até um estado de anasarca **(76)** . Estudos recentes mostraram que a hipertensão capilar, o aumento da área de superfície e redução do coeficiente de reflexão das proteínas destes capilares contribuem para a formação deste edema **(76)**.

Sabe-se hoje que este declínio inexorável da TFG é também muito variável, havendo assim um decréscimo entre 2 a 20 mL/min/ano, com uma média de 12 mL/min/ano em diabéticos tipo 1 **(75,89,76)**. Também os diabéticos tipo 2 com nefropatia apresentam uma perda semelhante da capacidade filtrativa e com igual grau de variabilidade **(70,76)**. Estudos

morfológicos, abrangendo estes dois grupos de doentes, mostraram uma correlação inversa entre o grau de lesões glomerulares/tubulo-intersticiais e a TGF.

À medida que a ND vai progredindo também o numero de complicações micro e macrovasculares é maior. Mesmo que assintomáticos estes doentes devem ser monitorizados periodicamente para a detecção destas complicações.

7. Tratamento Actual

7.1 Controlo Glicémico (prevenção primária e secundária)

Vários ensaios clínicos, quer em diabéticos tipo 1 quer em diabéticos tipo 2, demonstraram que um bom controlo glicémico atrasa o desenvolvimento de todas as complicações microvasculares incluindo a nefropatia **(61)**. Este controlo glicémico pode ser alcançado recorrendo à insulinoterapia, fármacos hipoglicemiantes como as Sulfonilúreias, Biguanidas, Tiazolidinedionas entre outros, e mais recentemente em alguns centros com o transplante pancreático e de ilhotas pancreáticas. Não faz parte do âmbito deste artigo uma explanação exaustiva dos fármacos disponíveis para um bom controlo glicémico em doentes diabéticos. Será dada atenção especial aos agentes que, além de um efeito hipoglicemiante, tenham demonstrado efeitos renoprotectores.

7.1.1 Insulinoterapia

O regime intensivo de insulinoterapia tem demonstrado os seguintes efeitos renoprotectores:

- Reversão parcial da hiperfiltração e hipertrofia glomerular, os quais são considerados importantes factores de risco para o desenvolvimento de lesão glomerular;

- Atraso no desenvolvimento de uma elevada excreção de albumina, reduzindo assim o estabelecimento ou a progressão da nefropatia diabética durante anos;
- Estabilização ou diminuição da excreção proteica em doentes com uma elevada excreção de albumina

7.1.2 Tiazolidinedionas (TZD)

Em vários modelos animais com DM tipo 2, os sensibilizadores da insulina – Tiazolidinedionas (TZDs), mais conhecidos como **agonistas da PPAR-γ** mostraram ser bastante promissores tanto no tratamento da resistência à insulina como das complicações renais decorrentes da diabetes. Dentro do grupo das TZDs temos a pioglitazona e rosiglitazona, ambas largamente usadas em diabéticos tipo 2.

As TZDs são ligandos sintéticos de um receptor de transcrição nuclear denominado PPAR-γ (Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma), membro da subfamília PPAR e na qual também estão incluídos o PPAR-α e PPAR-β/δ **(111)**. O PPAR-γ é expresso predominantemente no tecido adiposo e é um regulador chave da adipogénese, armazenamento lipídico e homeostase energética **(111)**. É também expresso em níveis menores nos rins e vasos, levando a crer que terá também um papel importante, quer como regulador da função renal, quer no controlo tensional. Após a ligação deste receptor a ligandos endógenos ou a ligandos sintéticos (TZDs) ocorre a sua heterodimerização com outro receptor nuclear – RXRα (retinoid X receptor α). Este heterodímero liga-se então a uma sequência de DNA especifico – PPRE (PPAR responsive element), iniciando ou silenciando a transcrição de genes importantes na modulação da homeostase da glicose **(111)**. Existem cada vez mais evidências que sugerem que a activação destes receptores inibe a libertação de factores dessensibilizadores da insulina como NEFAs, TNF-α, leptina, IL-6 e resistina,

levando ainda à libertação de adiponectina e visfastina (factores sensibilizadores) **(100,53,111)**.

Além de reduzirem a resistência à insulina, as TZDs parecem também contribuir para a redução da proteinúria, atrasando assim a progressão da ND, independentemente de haver ou não um bom controlo glicémico **(111)**. O efeito renoprotector deste grupo de fármacos é hoje globalmente aceite e os mecanismos através dos quais exercem este efeito intensivamente estudados. Sabe-se que ao proporcionarem um bom controlo glicémico previnem a toxicidade renal exercida pelo excesso de glicose; normalizam os níveis de insulina circulantes; normalizam o ciclo celular que devido à hiperglicémia se encontra bloqueado na fase G1 em muitas células glomerulares que sofrem hipertrofia **(111)**. Recentemente, foi demonstrado que o efeito renoprotector das TZDs se deve também ao facto de apresentarem actividades anti-inflamatórias, imunomoduladoras e anti-ateroscleróticas através das quais inibem a expressão de ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1); activação de NF-κB, libertação de TNF-α, IL-1β e IL-6 e infiltração renal de macrófagos.

Estes fármacos apresentam, contudo, algumas limitações. Um dos efeitos secundários é o ganho ponderal e retenção de líquidos, o qual se pensa que esteja associado à activação dos receptores PPARγ dos ductos colectores. Recentemente foi descrito que o uso prolongado da rosiglitazona estava associado ao desenvolvimento de insuficiência cardíaca congestiva e a maior número de eventos cardiovasculares **(111)**. Relativamente à pioglitazona, embora não existam evidências que mostrem que tenha os mesmos efeitos colaterais, aconselha-se, à semelhança da rosiglitazona, alguma cautela no seu uso **(111)**.

7.1.3 Transplante Pancreático

Continua por esclarecer se o transplante pancreático isolado é superior à insulinoterapia em relação à sobrevida. Apesar disso, num estudo prospectivo recente **(23)**, oito doentes submetidos a transplantação pancreática foram seguidos durante um período de 10 anos, tendo realizado biopsias renais aos 0, 5 e 10 anos. Antes do transplante, três apresentavam normoalbuminuria, três microalbuminuria e dois proteinuria marcada. Todos eles apresentavam enxertos funcionantes nos diferentes períodos em que foram efectuadas as biopsias. Concluiu-se que, 5 anos após o transplante não foram observadas melhoras significativas da estrutura glomerular **(23)**. Contudo, 10 anos após o procedimento observaram-se as seguintes alterações **(23,29)**:

- Redução do volume e matriz mesangial;
- Normalização do volume mesangial e das membranas basais tubulares e glomerulares; e desaparecimento das lesões nodulares glomerulares em alguns doentes;
- Redução da atrofia tubular, possivelmente devido à reabsorção dos nefrónios lesados.

7.1.4 Transplante de Ilhotas pancreáticas

O transplante de ilhotas pancreáticas demonstrou até à data resultados interessantes, mas ainda pouco satisfatórios. De acordo com dados de 8 dos principais centros de transplantação, obtidos em 2002, 439 doentes de vários pontos do mundo receberam células de ilhotas. A percentagem de doentes que sobreviveram a este procedimento foi de 79%, dos quais 14% não apresentavam qualquer secreção de insulina enquanto que cerca de 45% apresentavam uma secreção de peptídeo C > 0,5 ng/mL, sugestiva de uma função residual das ilhotas pancreáticas. A existência de uma secreção intraportal minima de insulina parece ser importante na normalização da glicose hepática **(76)**.

Sete doentes que foram observados por Shapiro e colaboradores, e que estavam a fazer regime imunosupressor com sirolimus, tacrolimus e talizumab, ficaram insulino independentes. Estes resultados foram também observados por outros investigadores, contudo, 5 anos após o transplante esta insulino-independência foi observada em apenas 10% dos doentes **(94,9).**

7.2 Controlo da Tensão arterial (prevenção primária e secundária)

A redução sustentada da tensão arterial parece ser talvez a intervenção mais importante tanto na prevenção como no abrandamento da progressão da nefropatia diabética **(19)**.

7.2.1 Agentes Reguladores do Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona (IECAS/ARAS)

O uso de bloqueadores do sistema renina-angitensina foi um dos grandes avanços no controlo da nefropatia diabética. Estudos-chave como o RENAAL e o "Ibersartan Diabetic Nephropathy Trial" (IDNT) **(61,76,84)** comprovaram os seus efeitos renoprotectores, independentemente de haver ou não uma redução na tensão arterial.

A angitoensina II, produto final do SRA, é formada quando a angiotensina I é clivada pela enzima conversora da angiotensina (ECA). Posteriormente, a angiotensina II liga-se ao receptor da angiotensina II tipo 1 (AT1), que medeia a vasoconstrição, retenção de água e reabsorção de sais, inibe a função endotelial, e estimula a deposição de tecido conjuntivo e transporte de LDL. A angiotensina II também se pode ligar ao receptor tipo 2 (AT2), que tem funções essencialmente opostas, ou seja, vasodilatação, espoliação de sódio, estimulação da função endotelial e inibição quer da deposição de tecido conjuntivo quer do crescimento celular. O receptor tipo 1 é expresso em diversos tecidos – sistema cardiovascular, renal, endócrino e nervoso – ao passo que o receptor tipo 2 é activado durante situações de stress e a

sua distribuição limita-se ao pâncreas, coração, rim, cérebro, glandular supra-renais e vasos. A forma como se processa o equilíbrio entre estes dois receptores permanece ainda por esclarecer **(84)**. De entre a variada gama de fármacos disponíveis para o controlo da tensão arterial, os bloqueadores dos receptores da angiotensina II (ARAs) e os inibidores da ECA têm sido largamente usados, dada a sua eficácia quer na prevenção primária, quer em doentes com nefropatia já estabelecida.

Os ARAs modulam a tensão arterial através da inibição da activação do receptor AT1. Simultaneamente, e através de um mecanismo de feedback, ocorre um aumento na sintese de angiotensina II, que em períodos de strees activa o receptor AT2. Os inibidores da ECA (IECAs) desempenham o seu papel modulador ao inibir a conversão da angiotensina I em II. Contudo, outras fontes de angiotensina II não são inibidas, mantendo-se algum grau de conversão através de outras enzimas como: cage, catepsina G e quimase **(84)**. Os IECAs inibem ainda a degradação da bradicinina, cujo impacto na ND é ainda pouco conhecido.

Diabéticos tipo 1:

Os beneficios do tratamento anti-hipertensor com os IECAs podem ser observados logo desde o inicio da doença, quando a microalbuminúria é a única manifestação. Num dos estudos realizados, a administração de um IECA a diabéticos tipo 1, normotensos, mas com microalbuminúria permitiu uma redução na excreção urinária de albumina, tendo-se observado também uma redução na progressão da nefropatia nos 2 anos seguintes, quando comparados com doentes tratados com placebo **(106)**.

Um benefício ainda mais pronunciado foi demonstrando num dos maiores ensaios clínicos realizados até hoje em diabéticos tipo 1 com nefropatia avançada **(57,43)**. Cerca de 409 doentes com proteinúria marcada e concentração plasmática de creatinina ≤ 2,5 mg/dl foram seleccionados aleatoriamente para a realização de tratamento com captopril ou placebo. Outros anti-hipertensores foram sendo associados consoante as necessidades, mas outros

IECAs ou bloqueadores dos canais de cálcio foram excluídos. Quatro anos após um controlo tensional equivalente, os doentes medicados com captopril apresentavam uma menor taxa de elevação da creatinina plasmática e uma menor probabilidade de progressão para doença terminal. Porém, estes benefícios foram observados em doentes com concentrações plasmáticas de creatinina ≥ 1,5mg/dl, nos quais houve uma redução de 50% na taxa de elevação da concentração de creatinina comparativamente com o grupo medicado com placebo. Nos doentes com concentrações plasmáticas de creatinina mais baixas, não foram observadas melhorias pois a taxa de progressão para doença renal terminal é muito lenta.

Diabéticos tipo 2:

Existem menos informações sobre os efeitos da terapia anti-hipertensora com IECAs em diabéticos tipo 2. Contudo, parece haver um efeito semelhante neste grupo de doentes. Actualmente, estão disponíveis mais dados sobre a eficácia dos ARAs.

Também neste grupo de doentes um óptimo controlo tensional é importante na prevenção da progressão da nefropatia e de outras complicações, permanecendo ainda por definir o limite mínimo de pressão sistólica. No estudo "United Kingdom Prospective Diabetes Study" (UKPDS), cada 10 mmHg de redução na pressão sistólica estava associada a uma redução de 12% no risco de complicações diabéticas (P <0.001) **(1)**. Igualmente, no estudo "Irbesartan Diabetic Nephropathy Trial" (IDNT), foi observado um decréscimo progressivo no risco de mortes cardiovasculares e de falência cardíaca (mas não de enfarte do miocárdio) à medida que valores sucessivamente menores (até um limite de 120 mmHg) de pressão sistólica eram alcançados. Neste estudo foi também observada uma redução na elevação da concentração de creatinina sérica, e da progressão para doença renal terminal **(13,79)**.

A ***combinação de IECAs e ARAs*** demonstrou ser mais eficaz na redução da proteinúria quer em diabéticos tipo 1 quer tipo 2 que o uso destes fármacos em monoterapia **(65,97)**. Num

estudo recente, a combinação do ramipril com candersartan mostrou ser segura e ter um efeito aditivo na redução da tensão arterial, poteinúria e na excreção urinária de TGF-β em doentes com ND **(8)**.

7.2.2 Agentes Reguladores do Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona

Recentemente, surgiu uma nova classe de anti-hipertensores, os ***inibidores directos da renina*** sendo o ***Aliscireno*** o representante actual desta classe. A sua segurança, tolerabilidade e efeito anti-hipertensor é equivalente à dos ARAs e IECAs **(19,74)**. No estudo AVOID, foi testada a combinação aliscireno com o losartan. Neste estudo foi observado uma redução significativa (20%) da proteinúria no grupo submetido ao tratamento duplo, comparativamente com o grupo de doentes tratados apenas com losartan. Não foi, contudo, observado um grande impacto na redução da tensão arterial com o uso desta combinação **(74)**.

O papel do aliscireno na prevenção da progressão da doença renal crónica é ainda desconhecido **(49)**.

7.2.3 Antagonistas da Aldosterona

O uso dos diuréticos no controlo tensional faz parte da actual prática clínica. Porém, não lhes é reconhecido qualquer efeito anti-proteinúrico, à excepção dos ***antagonistas da aldosterona*** **(15)**, que parecem reduzir a proteinúria quer em monoterapia quer em associação com IECAs ou ARAs, tanto nos diabéticos tipo 1 como nos de tipo 2 **(82,105)**. Este efeito parece dever-se a uma redução da expressão de genes reguladores da matriz, nomeadamente TGF-β, metaloproteinases, VEGF e factor de crescimento insulínico (IGF). O facto de terem um papel redutor do stress oxidativo e da expressão de MCP-1 parece também contribuir para o efeito renoprotector destes fármacos **(36,8)**.

Os benefícios da ***espironolactona*** foram observados após a realização de um estudo randomizado e duplamente cego, constituído por 59 diabéticos tipo 2 já medicados com um IECA ou ARA **(105)**. No grupo submetido ao tratamento com 50mg/dia de espironolactona observou-se uma redução de 40% na relação albumina/creatinina urinária e de 7/3mmHg na tensão arterial. No grupo que recebeu placebo não foi observada qualquer alteração nestes parâmetros.

A eficácia e inocuidade da ***esplerenona*** foram também alvo de estudo. Efectuou-se um estudo randomizado com 268 diabéticos tipo 2 também a fazer tratamento com IECA **(28)**. Em comparação com o placebo, após o tratamento com aquele fármaco, em doses de 50 ou 100mg/dia, houve uma redução significativa (40-50% vs <10%) na excreção urinária de albumina. Contudo, 9% dos doentes a fazer 50mg de esplerenona e 23% dos doentes a fazer 100mg, desenvolveram hipercaliémia severa (>6mmol/L). Os autores deste estudo concluíram que a combinação de um IECA com 50mg/dia de esplerenona apresenta, além de um efeito antiproteinúrico suplementar, um risco de desenvolver hipercaliémia semelhante ao dos doentes a fazer placebo (que é de 12%).

Ainda não existem dados sobre o efeito benéfico a longo prazo deste tratamento duplo na TFG. Porém, o risco de induzir ou agravar a hipercaliémia em doentes com uma longa história de nefropatia poderá limitar o uso destes antagonistas da aldosterona.

Recentemente, num estudo efectuado em ratos diabéticos, verificou-se que a administração de ***FAD286 – inibidor da aldosterona sintetase*** conseguiu reduzir a expressão de NF-κB, mRNA da IL-6, mRNA do TGF-β, fibronectina, colagénio tipo IV e albuminúria **(8)**.

7.2.4 Antagonistas dos Canais de Cálcio

Os elevados níveis de cálcio intracelular parecem desempenhar um papel significativo no desenvolvimento da ND. Os antagonistas dos canais de cálcio são uma classe bastante heterogénea de agentes anti-hipertensores. Alguns destes agentes, como o ***Diltiazem*** e o ***Verapamil*** (bloqueadores canais de cálcio não dihidropiridinicos) parecem ser tão eficazes quanto os IECAs e os ARAs na redução da excreção proteica em doentes diabéticos **(7,6,15)**. Foi também demonstrado que existe um efeito acrescido nesta redução com associação do verapamil e de um IECA.

Estudo em roedores demonstraram que estes agentes induzem uma diminuição da espessura da MBG, e previnem o desenvolvimento de glomeruloesclerose e fibrose intersticial. O facto destes agentes inibirem o stress oxidativo e a peroxidação lipídica parece explicar os efeitos renoprotectores destes fármacos **(8)**. O papel benéfico destes fármacos na preservação da função renal comparativamente com os IECAs não foi ainda avaliado em humanos **(57)**.

Quanto aos bloqueadores de cálcio dihidropiridinicos (nifedipina, amlodipina e nitrendipina) o seu efeito antiproteinúrico é muito variável **(15,34, 58,112,4,54)**.

7.3 Controlo lipídico

Nos estudos efectuados até ao momento, o efeito renoprotector dos inibidores da HMGCoA reductase em doentes diabéticos tipo 1 e 2 parece ser altamente variável **(76)**. Tratam-se, contudo, de estudos de curta duração, com um número relativamente pequeno de doentes e que tinham como objectivo apenas o impacto na excreção urinária de albumina e não na evolução da doença renal.

7.4 Restrição proteica

A restrição na quantidade de proteínas ingeridas parece atrasar a progressão da doença renal em praticamente todos os modelos animais submetidos a estudos. Surpreendentemente, em todos os estudos observacionais realizados em diabéticos tipo 1 e 2, surgem dados contraditórios. Em 2 pequenos ensaios (com 35 e 19 diabéticos tipo 1, respectivamente) foi demonstrado que uma restrição proteica de 0,6g/kg/dia abrandava o declínio da TFG em cerca de 60 – 75% dos casos **(38)**. Resultados completamente diferentes foram obtidos num outro estudo prospectivo, randomizado, que incluiu 82 doentes com nefropatia diabética. Neste estudo, a taxa de declínio da TFG foi semelhante nos dois grupos **(38)**. Parece, contudo, haver pelo menos duas explicações que poderão justificar estes resultados contraditórios. Primeiro, no último estudo, a diferença na quantidade de proteínas ingeridas entre os dois grupos era menor (0.89 vs 1.02 g/kg/dia). Segundo, a tensão arterial, albuminúria e a glicémia foram intensivamente controladas nos dois grupos de doentes. Dado que estes parâmetros são factores de risco independentes e com elevado peso na deterioração da TFG, a capacidade de detecção de pequenas diferenças decorrentes da restrição proteica poderá estar mascarada.

É importante referir que, além da falta de compliance por parte destes doentes, já a realizar diversas restrições alimentares, é premente o risco de desnutrição proteica induzido pelo défice de insulina associado a esta restrição alimentar **(38)**.

8. Novos alvos terapêuticos

O controlo glicémico e tensional, apesar de retardarem a progressão da doença renal, não conseguem prevenir totalmente nem reverter a ND. Estratégias alternativas estão sob investigação pré-clínica ou em estádios iniciais da investigação clínica. É possível que estes agentes sejam dentro de algum tempo propostos como adjuvantes do tratamento convencional.

8.1 Inibidores da acumulação e efeitos dos produtos finais da glicosilação avançada (AGEs)

Ao AGEs têm a capacidade de alterar as propriedades estruturais e funcionais quer de moléculas extracelulares como intracelulares, de induzir stress oxidativo e de estimular a expressão de citocinas e factores de crescimento através da activação de vias dependentes e independentes de receptores.

Foi já testada uma grande variedade de fármacos que reduzem a sua formação e que estimulam a sua degradação. A ***aminoguanidina,*** o protótipo dos inibidores da formação de AGEs foi administrada num ensaio clínico realizado em diabéticos tipo 1 com nefropatia moderada – "A Clinical Trial in Overt Nephropathy of Type 1 Diabetes" (ACTION) **(19,16)**, tendo-se observado uma redução significativa da proteinúria. Estes efeitos renoprotectores devem-se sobretudo a uma inibição da acumulação de MEC, e à capacidade deste agente de atenuar a expansão das células mesangiais ao inibir a expressão CTGF **(103,8)**. Contudo, o objectivo principal, que era a redução do tempo de duplicação dos níveis de creatinina sérica, não foi alcançado. Os estudos realizados posteriormente foram interrompidos por questões de segurança, dada a possibilidade de indução de uma síndrome lupus-like.

Uma outra estratégia terapêutica para redução de AGEs está a ser testada e envolve o ***Alagebrium.*** Este agente consegue clivar in-vitro AGEs pré-formados e em estudos em roedores conseguiu inibir a acumulação de MEC através da inactivação da PKC **(17,8)**. No entanto, o seu mecanismo de acção in-vivo permanece por esclarecer **(21,19)**. Este agente provou ser eficaz em retardar o aparecimento da albuminúria e da lesão da estrutura renal em vários modelos animais com diabetes **(21,19)**. Está actualmente em curso um ensaio clínico cujo objectivo é observar o impacto do Alagebrium na ND.

8.2 Inibidores da Proteina Cinase C (PKC)

As proteínas cinase C são uma família de pelo menos 12 cinases de serina-treonina que desempenham um importante papel de transdução intracelular. Na busca de novos agentes terapêuticos para a ND deu-se especial atenção à PKC. A produção excessiva de produtos metabólicos aberrantes, fomentada por um meio com uma glicémia excessiva, sobre-estimula esta cinase, particularmente em órgãos susceptíveis ao desenvolvimento de complicações micro e macro-vasculares. O ***Mesilato de Ruboxistaurina*** é uma bisindolilmaleimida com alto grau de especificidade na inibição das isoformas βI e βII da PKC. A ligação da Ruboxistaurina à PKC-β impede a ligação de ATP a esta cinase, inibindo assim a fosforilação de vários substratos **(101)**.

Em estudos realizados em culturas de células, foi observada regressão das alterações patológicas induzidas pela hiperglicémia após o uso de um análogo da Ruboxistaurina, verificando-se também uma inibição da expressão de factores de crescimento, habitualmente desencadeados pela PKC **(101)**.

Os estudos em modelos de roedores revelaram resultados consistentes nos diversos modelos usados. Especificamente, além de normalizar a hiperfiltração glomerular, a Ruboxistaurina conseguiu reduzir a albuminúria, o TGF-β e as proteínas da matriz

extracelular **(101)**. Observou-se ainda um decréscimo da expansão do mesângio, no grau de glomeruloesclerose e de fibrose tubulo-intersticial. Quando adicionado um IECA à Ruboxistaurina, a redução da albuminúria, glomeruloesclerose e da destruição de células endoteliais foi ainda maior **(101)**.

Recentemente, foi estudada a expressão genética da PKC-β em biopsias de rins humanos, portadores de ND **(56,101)**. Os dados resultantes deste estudo são consistentes com os achados encontrados em modelos experimentais, ou seja, também neste estudo a expressão do mRNA da PKC-β foi consideravelmente maior nas amostras de doentes com ND **(56,101)**. Concluiu-se ainda que esta sobre-expressão está directamente relacionada com um deficiente controlo glicémico.

Até à data, a ruboxistaurina foi fornecida a mais de 1400 doentes com uma história de diabetes superior a 4 anos. Contudo, apenas um dos ensaios de fase 2 foi completado **(101)**. Neste ensaio clínico constituído por 123 doentes com ND já com macroalbuminuria, os participantes foram aleatoriamente seleccionados para fazer tratamento com placebo ou ruboxistaurina 32 mg/dia durante 1 ano. Antes da randomização, os participantes teriam de ter a sua doença estabilizada com IECAs, ARAs, ou ambos durante pelo menos 6 meses, tendo sido mantido este último tratamento durante o ensaio. No fim deste ensaio clínico concluiu-se que os doentes medicados com o inibidor da PKC apresentavam maior redução da albuminúria, não apresentavam elevação dos níveis urinários de TGF-β e mantiveram níveis mais estáveis da TFG durante esse ano comparativamente com os que fizeram placebo **(101)**.

Noutros ensaios clínicos realizados em doentes com retinopatia e/ou neuropatia diabética, a Ruboxistaurina foi bem tolerada e parece ser aparentemente segura **(102,101)**. São, porém, necessários ensaios clínicos mais abrangentes para avaliar a inocuidade destes agentes.

Os inibidores da PKC emergem, assim, como fortes candidatos no tratamento e eventualmente na prevenção da ND.

8.3 Inibidores do TGF-β

Um número crescente de evidências mostra que o TGF-β desempenha um papel importante no desenvolvimento da ND. Inicialmente observou-se uma elevada expressão desta citocina fibrogénica em ratos diabéticos **(8)**. Mais tarde, verificou-se que os níveis de mRNA desta citocina em doentes com ND em fase inicial eram igualmente elevados **(8)**. Sabe-se hoje que o TGF-β induz uma maior expressão de GLUT-1 nas células mesangiais e CTGF, os quais promovem, respectivamente, uma elevação da concentração de glicose intracelular e deposição de componentes da matriz extracelular (colagénio tipo I, IV e fibronectina), o que leva à ocorrência de anormalidades metabólicas e hipertrofia das células mesangiais **(37,8)**.

A administração, em ratos diabéticos, de um ***anticorpo neutralizador do TGF-β – IgG4*** parece conseguir suprimir a fibrose renal e reduzir a albuminúria através da manutenção de níveis equilibrados do propeptideo-C e do procolagéneo-I **(8)**. Foi também administrada uma combinação do anticorpo com um IECA (lisinopril), tendo-se observado posteriormente uma redução da proteinuria **(12,8)**.

Estão em cursos vários estudos em animais, com diferentes grupos de agentes que visam essencialmente inibir/ reduzir a expressão desta citocina. A sua aplicabilidade e eficácia em humanos ainda não foram testadas.

8.4 Inibidores do receptor de pró-renina

Após vários estudos realizados em animais diabéticos, conclui-se que a administração de um péptideo sintético que mimetiza a região âncora do pró-segmento da pró-renina impede o desenvolvimento e progressão da nefropatia ao inibir competitivamente a ligação da pró-renina ao receptor **(47,99)**.

É, por isso, um novo alvo terapêutico de importância crescente na melhoria do prognóstico da ND.

8.5 BMP-7 e Gremelin

Após vários estudos, observou-se que a BMP-7 desempenha um papel protector em culturas de células renais. De Petris e colaboradores investigaram o efeito de BMP-7 recombinante em podócitos de ratos **(22,114)**, tendo observado que culturas de podócitos num meio rico em glicose apresentavam uma diminuição da sinaptopodina, podocina, transcrição de BMP-7 e da síntese proteica, comparativamente com as culturas num meio normoglicémico. Observaram ainda que o tratamento com BMP-7 conseguiu recuperar a expressão de sinaptopodina e podocina. Com base nestes resultados, os autores destes estudos pensam que a BMP-7 poderá atrasar a lesão podocitária, induzida pelo excesso de glicose, através da resistência exercida pela sinaptopodina e podocina.

Mitu e colaboradores apoiam a tese de que a BMP-7 poderá ser um factor de sobrevivência dos podócitos, resgatando-os da apoptose desencadeada pela activação das Caspases-3. Estes autores observaram ainda que a BMP-7 ao estimular a via Smad-1, -5, -8, suprime a mitose das células mesangiais, atrasando assim a progressão da lesão renal **(64,73,114)**.

Recentemente, observou-se que a actividade da BMP-7 parece impedir a acumulação de matriz extracelular (MEC), através de uma menor expressão de TGF-β e consequentemente de uma estimulação da actividade e manutenção de níveis de MMP2 **(114)**. Zeisberg e colaboradores descobriram que a BMP-7 poderá reverter a transição epitélio-mesenquial induzida pelo TGF-β1, ao aumentar a expressão de Caderina-E **(114)**, tendo observado também que a administração de BMP-7 recombinante induziu a reparação de células do epitélio tubular renal que se encontravam severamente lesadas **(114)**.

A inibição de Gremelin (antagonista do BMP-7) poderá também ter efeitos terapêuticos ao permitir a ligação do BMP-7 endógeno aos seus receptores. Além disso, sabe-se que o Gremelin poderá aumentar a síntese de DNA, a contagem celular e acelerar a progressão do ciclo celular das células do músculo liso ao diminuir a expressão de p27 **(62,114)**. É possível que o Gremelin regule o crescimento celular através de uma via independente do BMP-7, o que acentua a importância deste antagonista da BMP-7 como um dos novos alvos terapêuticos no tratamento da DM.

8.6 Sulodexide

O sulodexide pertence à mesma família de glicosaminoglicanos que a Heparina sódica, Heparina de baixo peso molecular e danaparoide. Os efeitos nefroprotectores ainda carecem de algum esclarecimento, mas as hipóteses actuais sugerem que este agente tem a capacidade de preservar a carga iónica da barreira glomerular, exercendo um efeito directo na redução da proliferação e fibrose do rim diabético **(107,19)**. Os efeitos do sulodexide foram observados em pequenos ensaios clínicos realizados em indivíduos com ND sob terapêutica com IECAs, nos quais houve uma redução significativa da albuminúria **(44,19)**.

Infelizmente, dados preliminares de 2 ensaios clínicos envolvendo mais de 3000 doentes com DM tipo 2 com micro e/ou macroalbuminuria parecem não confirmar o papel renoprotector deste agente **(19)**.

8.7 Antagonista da Endotelina

Existem vários dados que apontam a endoltelina (ETA) como um potencial alvo terapêutico da ND. Estão actualmente em curso alguns ensaios clínicos nos quais se pretende observar os efeitos decorrentes da inibição dos receptores da ETA – ***CPU 0213 e Avosentan*** **(24,19,8)** em doentes com doença renal ligeira a moderada. Observou-se que o tratamento

com CPU 0213 - antagonista dos receptores ET_A e ET_B conseguiu normalizar a função renal em roedores com ND, através da redução da actividade da NADPH oxidase **(8,110)**. Em ensaios de fase IIb, o Avosentan – antagonista do receptor ETA, demonstrou os seus efeitos renoprotectores ao diminuir a albuminúria em doentes com ND **(8,108)**. Um ensaio de fase III com mais de 200 doentes – ASCEND, está actualmente a decorrer, mas teve de ser temporariamente suspenso por retenção de líquidos em indivíduos submetidos à administração de avosentan. O futuro a longo-prazo deste agente permanece neste momento por esclarecer.

8.8 Inibidor da Rho/Rho Cinase

A hiperglicémia induz a activação da via da Rho/Rho cinase nas células mesangiais, que por sua vez estimula a expressão de TGF-β, CTGF, NADPH oxidase, proteína activada – 1 (AP-1) e fibronectina. O tratamento com ***Fasudil***, um inbidor selectivo desta via, conseguiu atrasar significativamente o desenvolvimento de ND em ratos diabéticos e atenuar os valores de proteinuria, as lesões de glomeruloesclerose e a fibrose em ratos com ND já instituída **(78,8)**.

8.9 Agentes Anti-fibróticos

A instituição de tratamento com agentes anti-fibróticos, como o ***Tranilast***, conseguiu suprimir a acumulação renal de colagénio e reduzir a expressão de TGF-β em doentes com ND numa fase avançada, atenuando assim o grau de fibrose túbulo-intersticial e a atrofia tubular **(63,8)**.

Num estudo experimental efectuado em roedores, também demonstrou ser capaz de prevenir a progressão da ND e, ao, inibir a expressão excessiva de TGF-β e de colagénio tipo I, de reduzir o grau de albuminúria e expansão mesangial **(63,8)**.

O potencial terapêutico do Tranilast foi recentemente demonstrado num ensaio clínico onde, após a instituição daquele agente em doentes com ND num estádio inicial, foi observada uma redução significativa dos niveis albuminúria e de colagénio tipo IV urinário **(96,8)**.

O ***SMP-534***, um novo agente anti-fibrótico que está agora estudo, também tem demonstrado resultados encorajadores. Ao reduzir a expressão renal de TGF-β, fibronectina e colagénio tipo IV tem conseguido atenuar o grau de fibrose glomerular, albuminúria e expansão mesangial **(98,8)**.

8.10 Inibidores da NADPH Oxidase

A NADPH oxidase desempenha um papel importante na patogénese da ND, a sua activação leva à geração de espécies reactivas de oxigénio (ROS). Um inibidor desta enzima - **Apocinina** - demonstrou ser eficaz na prevenção da progressão da ND, após se ter observado, em roedores, uma redução da expansão glomerular e mesangial, da relação albumina/creatinina e da relação proteina/creatina urinária **(68,8)**. O facto deste agente inibir a expressão renal de VEGF e a peroxidação lipídica parece justificar estes efeitos renoprotectores **(68,8).**

8.11 Inibidor do CTGF

Recentemente, o tratamento com o CTGF antisense – ODN mostrou ser eficaz na redução da proteinúria e dos genes envolvidos na expansão da matriz mesangial em ratos com DM tipo 1 e 2 **(72)**. Curiosamente, também foi observada uma redução da albuminúria e da espessura da MBG em ratos diabéticos db/db e com um alelo CTGF funcionante **(72)**. Verificou-se ainda que o tratamento com anti-CTGF conseguiu reverter a rigidez

microvascular, melhorou a função cardíaca e normalizou os valores tensionais em roedores com DM tipo 1 **(72)**.

Foi realizado um ensaio clínico de fase 1 com um anticorpo anti-CTGF totalmente humano (FG3019) em diabéticos tipo 1 e 2 com microalbuminuria para observar a sua inocuidade. A administração deste anticorpo foi bem tolerada e conseguiu reduzir em 50% a relação albumina/creatinina urinária **(72)**.

9. Tratamento Substitutivo

Apesar de se conseguir retardar o desenvolvimento e progressão da ND, muitos doentes acabam por progredir para doença terminal. Muitos nefrologistas concordam que o tratamento substitutivo deve ser iniciado mais precocemente nestes doentes, aproximadamente com TFG de 15 mL/min. Poderá ser iniciado ainda mais cedo caso a hipervolémia e os valores tensionais sejam incontroláveis com os tratamentos de primeira linha, ou caso o doente se encontre extremamente desnutrido, apresente gastroparésia ou se encontre em urémia.

Os doentes diabéticos com doença renal terminal dispõem actualmente de várias opções de tratamento sustituitivo:

1. ***Hemodiálise***
2. ***Diálise Peritoneal (CAPD- Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis)***
3. ***Transplantação (renal, renal e pancreática, pancreática após renal)***

1. *Hemodiálise*

A hemodiálise em doentes diabéticos é semelhante à dos doentes não diabéticos. O tratamento hemodialitico consiste habitualmente em 3 sessões semanais com duração de 4 a 5 horas e com um fluxo sanguíneo extra-corpóreo entre os 300-500 mL/min.

Este tratamento exige o estabelecimento de um bom acesso vascular, o que coloca muitas vezes grandes desafios, devido, nomeadamente, à calcificação dos vasos de médio calibre, à ateroesclerose dos pequenos vasos e ao grande risco de infecção da ferida. Habitualmente opta-se por criar uma fístula arteriovenosa; porém, a existência prévia de doença vascular limita a utilidade deste acesso, que tem uma taxa de 30 a 40% de falência primária. Um acesso vascular alternativo é a colocação de um enxerto de politetrafluoretileno. Contudo, a viabilidade desta segunda opção é de apenas 47% aos 3 anos, em comparação com 80% para a fístula arteriovenosa **(104)**.

O controlo glicémio nestes doentes é extremamente difícil. A gastroparésia, que habitualmente ocorre nestes doentes, dificulta grandemente a dosagem e administração atempada dos esquemas insulínicos pois a absorção dos alimentos ingeridos está desregulada. Além disso, o catabolismo da insulina está reduzido, prolongado assim os efeitos deste agente **(104)**.

A sobrevivência dos doentes diabéticos em diálise é inferior à dos doentes com doença renal terminal de outras causas **(104)**. Segundo o relatório de 2006 da base de dados da USRDS, a taxa de sobrevida de doentes diabéticos dialisados era de 25% aos 5 anos **(104)**. Sabe-se, também, que a sobrevida destes doentes varia inversamente com a idade, sendo superior em doentes jovens, com bom controlo tensional e sem doença cardíaca clinicamente evidente **(60,104)**.

Nestes doentes, a doença cardíaca e a infecção são as duas principais causas de morte **(104)**.

2. Diálise Peritoneal (DP)

A DP não é uma das modalidades terapêuticas mais usadas neste tipo de doentes. O seu uso varia grandemente nos diferentes países, não só por questões médicas mas também por questões logísticas. Estão disponíveis 2 técnicas ligeiramente diferentes para a sua realização. Na diálise peritoneal em ambulatorio continua (DPAC), a solução de diálise é manualmente infundida na cavidade peritoneal durante o dia e trocada diversas vezes durante esse período. O outro método é a diálise peritoneal continua automatizada (DPCA), no qual o doente está ligado a uma cicladora que efectua automaticamente a trocas do dialisado. A escolha do método a aplicar dependerá da rapidez com que cada doente consegue transferir os solutos através da membrana peritoneal. Assim, quanto maior a rapidez maior a necessidade de efectuar a diálise automatizada.

Algumas das razões que motivam o seu uso são: a esclerose dos vasos do antebraço em doentes terminais e que impossibilita a realização de fistulas para hemodiálise; durante os 2 primeiros anos a sobrevida é maior em doentes a fazer DP que hemodiálise **(42),** com excepção dos doentes bastante idosos **(109)**; e a DP permite uma filtração mais lenta e sustentada sem flutuações bruscas dos líquidos corporais nem das concentrações dos electrólitos **(42)**.

O principal problema da DP é o ganho de peso e a obesidade, decorrentes da necessidade de altas concentrações de glicose no dialisado para ocorra a remoção osmótica do excesso de líquidos corporais. O uso de fluidos contendo glicose tem outras desvantagens. A esterilização a quente da glicose num meio ácido gera produtos de degradação (PDGs) altamente reactivos, que além de serem citotóxicos conduzem à formação de produtos finais da glicosilação da glicose. Como já foi anteriormente referido, estimulam a fibrogénese, neoangiogénese e têm propriedades inflamatórias **(76)**.

3. Transplantação

3.1 Transplante Renal

Sabe-se hoje que a reabilitação médica do doente diabético urémico tem melhores resultados após o transplante **(76)**. Também é verdade que a sobrevida de um doente diabético após o transplante é menor que a de um doente não diabético, devido sobretudo a complicações decorrentes da doença vascular pré-existente, da hipertrofia ventricular esquerda e da hipertensão pós-transplante **(76)**.

Mesmo assim, a esperança de vida de um doente diabético transplantado é superior à do diabetico dialisado **(76)**. De acordo com os estudos de de Wolfe e colaboradores **(76)**, o risco relativo de morte nos transplantados é de 0,27, sendo inferior ao dos doentes em lista de espera (0,39).

Actualmente, a grande maioria de doentes que recebem transplante são diabéticos tipo 1, apesar dos resultados em alguns diabéticos tipo 2 cuidadosamente seleccionados serem bons. Esta preferência deve-se sobretudo aos rigorosos critérios de selecção para transplantação, que habitualmente privilegiam doentes jovens nos quais a probabilidade de apresentarem DM tipo 2 é menor.

3.2 Transplante de Rim e Pâncreas (TRP)

Durante bastante tempo os resultados deste transplante duplo foram desencorajadores. Após a introdução de inibidores da calcineurina e protocolos com baixa dosagem de corticóide começaram a ser obtidos resultados bastante satisfatórios. Becker e colaboradores **(11)** observaram que a sobrevivência dos doentes se aproximava da dos doentes submetidos a transplante por doença renal não diabética e era claramente superior à dos receptores de rins de dadores vivos e de cadáveres. Segundo os estudos de Kaplan-Meier, a sobrevivência aos

10 anos dos doentes que fizeram TRP é de 82% comparativamente com 71% nos doentes que receberam rins de dadores vivos.

A reversibilidade das complicações microvasculares é minima, mas foram observadas melhoras significativas da polineuropatia sobretudo dos reflexos cardiorespiratórios e da condução nervosa **(76)**. Foram observadas também melhoras da função gástrica e vesical (B371, 336), assim como uma melhoria significativa na qualidade de vida, controlo metabólico e da sobrevida **(76)**.

Actualmente dá-se preferência ao TRP em doentes diabéticos tipo 1. Nos EUA, os doentes diabéticos com menos de 55 anos são geralmente propostos para TRP quando a TFG é inferior a 40 mL/min. Já na Europa os critérios são mais restritos, considerando-se a TRP quando a TFG é inferior a 20 mL/min.

3.4 Transplante de pancreático após transplante renal

Esta é uma estratégia alternativa que pode ser considerada em doentes diabéticos que possuam um dador renal vivo. Numa primeira fase é realizado o transplante renal e logo que a função renal esteja estabilizada (TFG > 50 mL/min) é realizado o transplante de pâncreas de cadáver. Esta abordagem tem tido, até à data, resultados satisfatórios **(40)**.

O transplante de segmentos pancreáticos de dadores vivos está ainda em estudo **(33)**.

Diálise VS Transplantação Renal

Num relatório da USRDS observou-se que a sobrevivência 5 anos após transplantação foi entre 75 a 83% **(60,104)** comparativamente com os 25% quer da hemodiálise quer da DP no mesmo período de tempo **(104)**. Os doentes transplantados apresentam também uma melhor qualidade de vida e maior reabilitação **(32)**. Sabe-se também que esta diferença de resultados deve-se em grande parte à selecção rigorosa dos doentes aceites para

transplantação. Habitualmente os doentes seleccionados são jovens, logo com menos probabilidade de apresentar DM tipo 2 ou doença vascular extra-renal. Contudo, os resultados da transplantação continuam a ser superiores mesmo em doentes jovens a fazer diálise e que poderiam ser potenciais candidatos para transplantação. Pensa-se que a restituição de uma função renal praticamente normal, após o transplante, consiga retardar a progressão da doença microvascular uma vez que reduz os níveis de AGEs em circulação **(32)**.

10. Conclusão

A Nefropatia Diabética é a causa mais comum de doença renal terminal nos EUA, Europa, Japão, India e Africa. Comparativamente com outras causas de nefropatia, o risco de morbi/mortalidade dos doentes com doença renal terminal de origem diabética é claramente superior ao de outros doentes devido às comorbilidades que acompanham a diabetes, nomeadamente a doença coronária e cerebrovascular.

A ND, se devidamente controlada, terá uma progressão espectável, iniciando-se pela microalbuminuria até culminar em doença renal terminal. A taxa de declínio da função renal poderá ser abrandada se houver um óptimo controlo glicémico e tensional, redução da ingestão proteica e se for adoptado um estilo de vida menos sedentário.

Nos últimos 20 anos foram feitos grandes progressos na definição dos mecanismos celulares e moleculares implicados no desenvolvimento e progressão da doença. Estes avanços conduziram ao desenvolvimento e aplicação de tratamentos mais racionais e mais eficazes. Por exemplo, sabe-se hoje que a combinação de IECAs quer com ARAs quer com BCC parece ser uma opção terapêutica bastante promissora no controlo de doentes com ND.

Por outro lado, a elucidação do papel de vários agentes tais como o TGF-β, AGEs, PKC, Rho-cinase, NADPH oxidase, ET-1, entre outros, na patogénese e progressão da ND, permitiu o desenvolvimento de novos agentes farmacológicos dirigidos a estes alvos que parecem

travar a progressão da doença. Apesar de muitos terem demonstrado resultados promissores nos estudos iniciais, são necessários mais ensaios clínicos para eslarecer a inocuidade e o potencial terapêutico destes novos agentes.

11. Referências bibliográficas

1. Adler A.I., Stratton I.M. et al (2000). Association of systolic blood pressure with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 36): prospective observational study. BMJ; 321:412
2. Adler, S (2004). Diabetic nephropathy: Linking histology, cell biology, and genetics. Kidney Int; 66:2095
3. Amaral F.B., Prates A.B. et al (2005). Valores de referência da cistatina C para avaliação da função renal em indivíduos normais: influência da idade e gênero. Anais do 8º Congresso Brasileiro de Clínica Médica
4. Atkins R.C., Briganti E.M. et al (2005). Proteinuria reduction and progression to renal failure in patients with type 2 diabetes mellitus and overt nephropathy. Am J Kidney Dis; 45:281
5. Atkins R.C., Polkinghorne K.R. et al (2004). Prevalence of albuminuria in Australia: the AusDiab Kidney Study. Kidney Int Suppl; S22–S24
6. Bakris G.L., Copley J.B. et al (1996). Calcium channel blockers versus other antihypertensive therapies on progression of NIDDM associated nephropathy. Kidney Int; 50:1641.
7. Bakris, G.L (1990). Effects of diltiazem or lisinopril on massive proteinuria associated with diabetic nephropathy. Ann Intern Med; 112:707.
8. Balakumar P., Arora M.K. et al (2009). Recent advances in pharmacotherapy for diabetic nephropathy: Current perspectives and future directions. Pharm Res 60: 24-32
9. Balamurugan A.N., Bottino R. et al (2006). Prospective and challenges of islet transplantation for the therapy of autoimmune diabetes. *Pancreas*; 32:231-243.
10. Ban C., Twigg S.M. (2008) Fibrosis in diabetes complicatinons: Pathogenic mechanisms and circulating and urinary markers. Vasc Health Risk Man 4(3): 575-596
11. Becker B.N., Brazy P.C. et al (2000). Simultaneous pancreas-kidney transplantation reduces excess mortality in type 1 diabetic patients with end-stage renal disease. *Kidney Int*; 57:2129-2135
12. Benigni A., Zojaa C. et al (2006). Beneficial effect of TGF-β antagonism in treating diabetic nephropathy depends on when treatment is started. Nephron Exp Nephrol; 104:e158-68
13. Berl T., Hunsicker L.G. et al (2005). Impact of achieved blood pressure on cardiovascular outcomes in the irbesartan diabetic nephropathy trial. J Am Soc Nephrol; 16:2170
14. Bianchi S., Bigazzi R. e tal (2005). Antagonists of aldosterone and proteinuria in patients with CKD: an uncontrolled pilot study. Am J Kidney Dis; 46:45
15. Bohlen L., de Courten M. et al (1994). Comparative study of the effect of ACE-inhibitors and other antihypertensive agents on proteinuria in diabetic patients. Am J Hypertens; 7:84S**)**
16. Bolton W.K., Cattran D.C. et al (2004). Randomized trial of an inhibitor of formation of advanced glycation end products in diabetic nephropathy. Am J Nephrol; 24: 32-40
17. Bonke V.T., Lindschau C. et al (2004). Attenuation of extracellular matrix accumulation in diabetic nephropathy by advanced glycation end product cross-link breaker ALT-711 via protein Kinase C dependent pathway. Diabetes;53:2921-30
18. Brosius III F.C. (2008). New insights into the mechanisms of fibrosis and sclerosis in diabetic nephropathy. Rev Endocr Metab Disord 9: 245- 254
19. Cooper M. E., David B. (2008). Diabetic patients and kidney protection: an attainable target. J Hypertension 26 (suppl 2): S3-S7

20. Costacou T., Ellis D. et al (2007). Sequence of progression of albuminuria and decreased GFR in persons with type 1 diabetes: a cohort study. Am J Kidney Dis; 50:721
21. Couchlan M.T., Forbes J.M. et al (2007). Role of the AGE crosslink breaker, alagebrium, as a renoprotective agent in diabetes. Kindey Int; 72: S54-S60
22. De Petris L., Hruska K.A. et al (2007). Bone morphogenetic protein-7 delays podocyte injury due to high glucose, Nephrol Dial Transplant; 22: 3442–3450
23. Dean P.G., Yogish C.K. et al (2008). Long-term benefits of pancreas transplantation. Curr Opin Organ Transplant 13: 85-90
24. Dieterie W., Mann J. et al (2004). Pharmacokinetics and pharmacodynamic of the ETA-selective endothelin receptor antagonist SPP301 in healthy human subjects. J Clin Pharmacol; 44: 59-66
25. Dolan V., Murphy M. et al (2005). Expression of gremlin, a bone morphogenetic protein antagonist, inhuman diabetic nephropathy. Am J Kidney Dis; 45: 1034–1039
26. Donahue R.P., Stranges S. (2007). Elevated cystatin-C concentration and progression to prediabetes: the Western New York Study. Diabetes Care; 30: 300-305
27. Dronavalli S., Duka I. et al (2008). The pathogenesis of diabetic nephropathy. Nature Clin Pract End Metab; 8: 444- 452
28. Epstein M., Williams G.H. et al (2006). Selective aldosterone blockade with eplerenone reduces albuminuria in patients with type 2 diabetes. Clin J Am Soc Nephrol; 1:940
29. Fioretto P., Sutherland D.E. et al (2006). Remodeling of renal interstitial and tubular lesions in pancreas transplant recipients. Kidney Int 2006; 69:907
30. Forbes J., Coughlan M. et al (2008). Oxidative Stress as a Major Culprit in Kidney Disease in Diabetes. Diabetes 57: 1446-1454
31. Gazzerro E., Canalis E. (2006). Bone morphogenetic proteins and their antagonists, Rev Endocr Metab Disord; 7: 51–65
32. Grenfell A., Bewick M. et al (1992). Renal replacement for diabetic patients: Experience at King's College Hospital 1980-1989. Q J Med; 85:861**)**
33. Gruessner R.W., Sutherland D.E. et al (2001). Pancreas transplants from living donors: short- and long-term outcome. *Transplant Proc*; 33:819-820
34. Guasch A., Parham M. et al (1997). Contrasting effects of calcium channel blockade versus converting enzyme inhibition on proteinuria in African Americans with non-insulin-dependent diabetes mellitus and nephropathy. J Am Soc Nephrol; 8:793
35. Ha H., Park J.H. et al (2008). Role of reactive oxygen species in the pathogenesis of diabetic nephropathy. Diab Res Clin Pract; S25: S42-S45
36. Han S.Y., Kim C.H. et al (2006). Spironolactone prevents diabetic nephropathy through an anti-inflammatory mechanism in type 2 diabetic rats. J Am Soc Nephrol; 17:1362
37. Haneda M., Hoya D. et al (2003). Overview of glucose signaling in mesangial cells in diabetic nephropathy. J Am Soc Nephrol;14:1374-82
38. Hansen H.P., Tauber-Lassen E. et al (2002). Effect of dietary protein restriction on prognosis in patients with diabetic nephropathy. Kidney Int; 62:220
39. Hao C.M., Breyer M.D. (2007). Physiologic and pathophysiologic roles of lipid mediators in the kidney. Kindey Int; 71: 1105-1115
40. Hariharan S., Pirsch J.D. et al (2002). Pancreas after kidney transplantation. *J Am Soc Nephrol*; 13:1109-1118
41. Hauser P.V., Collino F. et al (2009). Nephrin and endothelial injury. Curr Opin Nephrol Hypertens 18: 3-9
42. Heaf J.G., Lokkegaard H. et al (2002). Initial survival advantage of peritoneal dialysis relative to haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant*; 17:112-117
43. Hebert L.A., Bain R.P. et al (1994). Remission of nephrotic range proteinuria in type I diabetes. Kidney Int; 46:1688

44. Heerspink H.L., Greene T. et al (2007). Effects of sulodexide in patients with type 2 diabetes and persisten albuminuria. Nephrol Dial Transplant
45. Hillege H.L., Fidler V. et al (2002). Urinary albumin excretion predicts cardiovascular and noncardiovascular mortality in general population. Circulation; 106: 1777–1782
46. Huang Y., Noble N. et al (2007). Renin stimulated TGF-beta1 expression is regulated by a mitogen activated protein kinase in mesangial cells. Kidney Int; 72: 42–52
47. Ichihara A., Sakoda M. e tal (2008). Activated protein as a therapeutic target for diabetic nephropathy. Diab Res Clin Pract 82S: S63-S66
48. Ichihara A., Sakoda M. et al (2008). Involvement of receptor-bound prorenin in development of nephropathy in db/db mice. J Am Soc Hypertens; 2: 332–340
49. Ingelfinger J.R (2008). Aliskiren and dual therapy in type 2 diabetes mellitus. N Engl J Med; 358:2503
50. Isermann B., Vinnikov I.A., et al (2007). Activated protein C protects against diabetic nephropathy by inhibiting endothelial and podocyte apoptosis. Nat Med 2007;13:1349–58
51. Jerums G., Premaratne E. et al (2008). New and old markers of progression of diabetic nephropathy. Diab Res Clin Pract; 82S: S30-S37
52. Kalani M (2008). The importance of endothelin-1 for microvascular dysfunction in diabetes. Vasc Health Risk Man 4(5): 1061- 1068
53. Kanatani Y., Usui I. e tal (2007). Effects of pioglitazone on suppressor of cytokine signaling 3 expression: potencial mechanisms for its effects on insulin sensitivity and adiponectin expression. Diabetes; 56: 795-803
54. Katayama K., Nomura S et al (2006). Comparison between valsartan and valsartan plus cilnidipine in type II diabetics with normo- and microalbuminuria. Kidney Int; 70:151
55. Krolewski M., Eggers P.W. et al (1996). Magnitude of end-stage renal disease in IDDM: a 35 year follow-up study. Kidney Int; 50:2041
56. Langham R.G., Kelly D.J. et al (2008). Increased renal gene transcription of proteinkinase C-b in human diabetic nephropathy: Relationship tolong-term glycaemic control. Diabetologia; (online ahead of print. Accessed February 25)
57. Lewis E.J., Hunsicker L.G. et al (1993). The effect of angiotensin-converting enzyme inhibition on diabetic nephropathy. N Engl J Med; 329:1456
58. Lewis E.J., Hunsicker L.J. et al (2001). Renoprotective effect of the angiotensis-receptor antagonist irbesartan in patients with nephropathy due to type 2 diabetes. N Engl J Med; 345:851
59. Liebau M.C., Lang D. et al (2006). Functional expression of the reninangiotensin system in human podocytes. Am J Physiol Renal Physiol; 290: 710–719
60. Locatelli F., Pozzoni P. et al (2004). Renal replacement therapy in patients with diabetes and end-stage renal disease. J Am Soc Nephrol 2004; 15 Suppl 1:S25
61. Luk A., Chan J.C. (2008) Diabetic nephropathy- What are the unmet needs? Diab Res Clin Pract 82S: S15-S20
62. Maciel T.T., Melo R.S. et al (2008). Gremlin promotes vascular smooth muscle cell proliferation and migration, J Mol Cell Cardiol; 44: 370–379
63. Mifsud S., Kelly D.J. et al (2003). Intervention with tranilast attenuates renal pathology and albuminuria in advanced experimental diabetic nephropathy. Nephron Physiol; 95:83-91
64. Mitu G.M., Wang S. et al (2007). BMP7 is a podocyte survival factor and rescues podocytes from diabetic injury, Am J Physiol Renal Physiol; 293: 1641–1648
65. Mogensen C.E., Neldam S. et al (2000). Randomised controlled trial of dual blockade of renin-angiotensin system in patients with hypertension, microalbuminuria, and non-

insulin dependent diabetes: the candesartan and lisinopril microalbuminuria (CALM) study. BMJ; 321:1440

66. Murussi N., Murussi N. e tal (2008). Detecção precoce da nefropatia diabética. Arw Bras Endocrinol Metab 2008; 52(3): 442-451

67. Najafian B., Mauer M. (2009). Progression of Diabetic Nephropathy in type 1 diabetic patients. Diab Res Clin Pract 83: 1-8

68. Nam S.M., Lee M.Y. et al (2008). Effects of NADPH oxidase inhibitor on diabetic nephropathy in OLETF rats: the role of reducing oxidative stress in its protective property. Diabetes Res Clin Pract; 83:176-82

69. Navarro-González J.F., Mora-Fernández C (2008). The Role of Inflammatory Cytokines in Diabetic Nephropathy. J Am Soc Nephrol 19: 433-442

70. Nelson R.G., Bennett P.H. et al (1996). Development and progression of renal disease in Pima Indians with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*; 335:1636-1642

71. Newman D.J., Mattock M.B. et al (2005). Systematic review on urine albumin testing for early detection of diabetic complications.Health Technol Assess; 9: iii

72. Nguyen T.Q., Goldschmeding R. (2008). Bone Morphogenetic Protein-7 and Connective Tissue Growth Factor: Novel Targets for Treatment of Renal Fibrosis? Pharm Res; 10: 2416-2426

73. Otani H., Otsuka F. et al (2007). Antagonistic effects of bone morphogenetic protein-4 and -7 on renal mesangial cell proliferation induced by aldosterone through MAPK activation, Am J Physiol Renal Physiol; 292: 1513–1525

74. Parving H.H., Persson F. et al (2008). Aliskiren combined with losartan in type 2 diabetes and nephropathy. N Engl J Med; 358:2433

75. Parving H-H (2001). Diabetic nephropathy: Prevention and treatment. *Kidney Int*; 60:2041-2055

76. Parving H-H, Mauer M., Ritz E. Diabetic Nephropathy
In: Brenner, BM (ed) Brenner & Rector's The Kidney, 8th Ed, 2008, Saunders, Chap 36

77. Pavkov M.E., Knowler W.C. et al (2006). Increasing incidence of proteinuria and declining incidence of end-stage renal disease in diabetic Pima Indians. Kidney Int; 70:1840

78. Peng F., Wu D. et al (2008). RhoA/Rho-kinase contribute to the pathogenesis of diabetic renal disease. Diabetes;57:1683-92

79. Pohl M.A., Blumenthal S. et al (2005). Independent and additive impact of blood pressure control and angiotensin II receptor blockade on renal outcomes in the Irbesartan Diabetic Nephropathy Trial: clinical implications and limitations. J Am Soc Nephrol; 16:3027

80. Pucci L., Triscornia S. et al (2007). Cystatin C and estimates of renal function: searching for a better measure of kidney function in diabetic patients. Clin Chem; 53: 480-488

81. Qian Y., Feldman E. et al (2008). Mechanisms of Glomerulosclerosis in Diabetic Nephropathy. Diabetes; 57: 1439-1445

82. Rachmani R., Slavachevsky I. et al (2004). The effect of spironolactone, cilazapril and their combination on albuminuria in patients with hypertension and diabetic nephropathy is independent of blood pressure reduction: a randomized controlled study. Diabet Med; 21:471

83. Radbill B., Murphy B. et al (2008). Rationale and Strategies for Early Detection and Management of Diabetic Kidney Disease. Mayo Clin Proc; 83(12): 1373-1381

84. Ram C.V. (2008). Angiotensin Receptor Blockers: Current Status and Future Prospects. Am J Med; 121: 656-663

85. Ritz E., Orth S.R. (1999). Nephropathy in patients with type 2 diabetes mellitus. N Engl J Med; 341:1127
86. Rosen P., Nawroth P.P. et al (2001). The role of oxidative stress in the onset and progression of diabetes and its complications. Diab/Metav Res Rev; 17: 189-212
87. Rosolowsky E., Niewczas M. et al (2008). Between hyperfiltration and impairment: Demystifying early renal functional changes in diabetic nephropathy. Diab Res Clin Pract; 82S: S46-S53
88. Rossing K., Schjoedt K.J. et al (2005). Beneficial effects of adding spironolactone to recommended antihypertensive treatment in diabetic nephropathy: a randomized, double-masked, cross-over study. Diabetes Care; 28:2106
89. Rossing P. (2006) Prediction, progression and prevention of diabetic nephropathy. The Minkowski Lecture 2005. *Diabetologia*; 49:11-19
90. Sakoda M., Ichihara H. et al (2007). (Pro)renin receptor-mediated activation of mitogen-activated protein kinases in human vascular smooth muscle cells. Hyper Res; 30: 1139–1146
91. Saris J., 'tHoen P. et al (2006). Prorenin induces intracellular signaling in cardiomyocytes independently of angiotensin II. Hypertension; 48: 564–571
92. Sato A., Hayashi K. et al (2003). Naruse, M, Saruta, T. Effectiveness of aldosterone blockade in patients with diabetic nephropathy. Hypertension; 41:64
93. Schjoedt K.J., Rossing K. et al (2005). Beneficial impact of spironolactone in diabetic nephropathy. Kidney Int; 68:2829
94. Shapiro A.M., Lakey J.R. et al (2000). Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen. *N Engl J Med*; 343:230-238
95. Soldatos G., Cooper M.E. (2008). Diabetic Nephropathy: Important pathophysiologic mechanisms. Diab Res Clin Pract; 82S: S75-S79
96. Soma J., Sato K. et al (2006). Effect of tranilast in early-stage diabetic nephropathy. Nephron Dial Transplant;21:2795-9
97. Song J.H., Cha S.H. et al (2006). Effect of low-dose dual blockade of renin-angiotensin system on urinary TGF-beta in type 2 diabetic patients with advanced kidney disease. Nephrol Dial Transplant; 21:683
98. Sugaru E., Nakagawa T. et al (2006). SMP-534 ameliorates progression of glomerular fibrosis and urinary albumin in diabetic db/db mice. Am J Physiol Renal Physiol; 290: F813-20
99. Takahashi H., Ichihara A. et al (2007). Regression of nephropathy developed in diabetes by (pro)renin receptor blockade. J Am Soc Nephrol; 18: 2054–2061
100. Tonelli J., Li W. et al (2004). Mechanisms of early insulin-sensitising effects of thiazolidinediones in type 2 diabetes. Diabetes; 53: 1621-1629
101. Tuttle K.R. (2008). Protein kinase C-β inhibition for diabetic kidney disease. Diab Res Clin Pract 82S: S70-S74
102. Tuttle K.R., McGill J.B. et al, and the PKC-DRS, PKC-DMES, and PKC-DRS 2 study groups (2007). Kidney outcomes in long-term studies of ruboxistaurin for diabetic eye disease. Clin J Am Soc Nephrol; 2: 631–636
103. Twigg S.M., Cao Z. et al (2002). Renal connective tissue growth factor induction in experimental diabetes is prevented by aminoguanidine. Endocrinology;143:4907-15
104. United States Renal Data System: Excerpts from the USRDS 2008 annual data report: Atlas of end-stage renal disease in the United States. Am J Kidney Dis 2009; Suppl 1:S1
105. Van den Meiracker A.H. et al (2006). Spironolactone in type 2 diabetic nephropathy: effects on proteinuria, blood pressure and renal function. J Hypertens; 24:2285

106. Viberti G.C. et al (1996): The Microalbuminuria Captopril Study Group.Captopril reduces the risk of nephropathy in IDDM patients with microalbuminuria. Diabetologia; 39:587
107. Weiss R., Niecestro R. et al (2007). The role of sulodexide in the treatment odf diabetic nephropathy. Drugs; 67:2681-2696
108. Wenzel R.R., Littke T. et al (2009). For the SPP301 (Avosentan) endothelin antagonist evaluation in diabetic nepfhopathy study investigators. Avosentan reduces albumin excretion in diabetics with macroalbuminuria. J AM Soc Nephrol; doi: 10.1681/ASN.2008050482
109. Winkelmayer W.C., Glynn R.J. et al (2002). Comparing mortality of elderly patients on hemodialysis versus peritoneal dialysis: a propensity score approach. *J Am Soc Nephrol*; 13:2353-2362
110. Xu M., Dai D.Z. et al (2009). Normalizing NADPH oxidase contributes to attenuating diabetic nephropathy by the dual endothelin receptor antagonist CPU 0213 in rats. Am J Nephrol; 29:252-6
111. Yang J., Zhang D. et al (2009). Role of PPARγ in renoprotection in Type 2 diabetes: molecular mechanisms and therapeutic potencial. Clin Sci; 116: 17-26
112. Yasuda G., Ando D. et al (2005). Effects of losartan and amlodipine on urinary albumin excretion and ambulatory blood pressure in hypertensive type 2 diabetic patients with overt nephropathy. Diabetes Care; 28:1862
113. Zeisberg M., Kalluri R. (2008) Reversal of experimental renal fibrosis by BMP7 provides insights into novel therapeutic strategies for chronic kidney disease. Pediatr Nephrol; 23: 1395–1398
114. Zhang Y., Zhang Q. (2009). Bone morphogenetic protein-7 and Gremlin: New emerging therapeutic targets for diabetic nephropathy. **Bioch Bioph Res Comm** 383: 1-3
115. Ziyadeh F. (2008) Different roles for TGF-β and VEGF in the pathogenesis of the cardinal features of diabetic nephropathy. Diab Res Clin Pract 82S: S38-S41