

---

Silvia Maria de Oliveira Titan

**Efeito da associação de enalapril e losartan sobre  
proteinúria e marcadores inflamatórios na  
nefropatia diabética: ensaio clínico em DM tipo 2**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da  
Universidade de São Paulo para obtenção do  
Título de Doutor em Ciências

Área de concentração: Nefrologia

Orientador: Prof. Dr. Roberto Zatz

**São Paulo**

**2008**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

---

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

Preparada pela Biblioteca da  
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Titan, Sílvia Maria de Oliveira

Efeito da associação de enalapril e losartan sobre proteinúria e marcadores inflamatórios na nefropatia diabética : ensaio clínico em DM tipo 2 / Sílvia Maria de Oliveira Titan. -- São Paulo, 2008.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.  
Departamento de Clínica Médica.

Área de concentração: Nefrologia.

Orientador: Roberto Zatz.

Descritores: 1.Ensaio clínico 2. Diabetes mellitus 3.Falência renal crônica  
4.Proteinúria 5.Sistema renina-angiotensina 6.Enalapril 7.Losartan

USP/FM/SBD-484/08

## **Dedicatória**

---

---

Aos meus pais queridos, Samuel e Neuza,  
que lutaram tão irrestritamente para dar a seus três filhos  
amor, respeito e interesse pelo conhecimento.

Ao Alexandre, meu amor,  
por seu carinho e apoio incondicional  
a meu desenvolvimento profissional.

À minha filhinha Beatriz,  
que despertou os melhores sentimentos  
com sua chegada, fazendo-me, hoje,  
compreender meus pais.

## **Agradecimientos**

---

---

A tese de doutoramento é um passo importante na formação profissional. Mas esta formação foi iniciada lá atrás, com o esforço de meus pais em estimular em seus filhos a curiosidade, a dúvida, o desejo pelo conhecimento e pela cultura. Mais uma vez, meus agradecimentos por sua luta e seu amor. Aos meus queridos irmãos, Samuel, com quem aprendi a gostar de ler e estudar e Dina, minha protetora e eterna melhor amiga, meu carinho e gratidão. Meus agradecimentos também aos meus cunhados, Roberta e Maurice, por manterem este ambiente familiar, agora ainda mais divertido e diversificado. Às minhas sobrinhas amadas, Ana e Sofia, por nos fazerem tão felizes desde que chegaram.

Aos meus sogros, Cido e Beatriz, e cunhados, Fernanda e Felipe, por me receberem tão carinhosamente em sua família.

Ao Professor Roberto Zatz por me incluir em sua linha de pesquisa e me apoiar incondicionalmente no desenvolvimento deste projeto.

Ao Dr. Rui Toledo Barros e à Dra. Márcia Nery por suas orientações e por viabilizarem a execução do projeto. Ao Dr José Mauro Vieira Jr, co-autor, por sua contribuição intelectual e amizade.

À minha assessora Eulália Pereira da Silva, fundamental neste projeto, por seu empenho e carinho, comigo e com os pacientes. À Márcia Ribalta e Mirela Santinho, sempre tão solícitas em providenciar tudo o que foi necessário, muito obrigada. Ao Wagner Vasques Dominguez, por sua prontidão e rigor nas dosagens das citocinas.



À Prof. Nancy Amaral Rebouças, que me iniciou na arte da ciência.  
Aos professores Paulo Lotufo e Isabela Benseñor, por terem me introduzido no mundo da Epidemiologia. À Prof. Kay-Tee Khaw, minha tutora em Epidemiologia e exemplo fundamental em minha vida. À Dra. Viktória Woronik, com quem aprendo Nefrologia todos os dias.

Aos chefes e amigos, Paulo César Ayroza Galvão e Silvia Helena Vilela Callas, por manterem um ambiente de trabalho tão aberto e intelectualmente estimulante.

À minha querida professora e amiga Heloísa Zani, por manter o meu amor pela música e pelo piano.

Essa tese está de acordo com:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journal Editors*  
(Vancouver)

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação; Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Serviço de Biblioteca e Documentação; 2004.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

## **Sumário**

---

---

**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS****LISTA DE FIGURAS****LISTA DE TABELAS****RESUMO****SUMMARY**

|   |            |
|---|------------|
| <b>1. INTRODUÇÃO.....</b>   | <b>2</b>   |
| 1.1 DEFINIÇÕES E CLASSIFICAÇÕES .....   | 3          |
| 1.2 EPIDEMIOLOGIA DA DRC E DA ND .....  | 6          |
| 1.3 PATOGÊNESE DA ND.....   | 9          |
| 1.4 NOVOS MARCADORES DE PROGRESSÃO NA ND .....  | 15         |
| 1.5 TRATAMENTO DA ND.....   | 21         |
| <b>2. OBJETIVOS.....</b>  | <b>29</b>  |
| <b>3. CASUÍSTICA E MÉTODOS.....</b>   | <b>31</b>  |
| 3.1. CASUÍSTICA, MÉTODOS E PROTOCOLO.....   | 31         |
| 3.2. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....   | 36         |
| 3.3. RECURSOS FINANCEIROS .....   | 37         |
| <b>4. RESULTADOS .....</b>  | <b>39</b>  |
| 4.1. PROTEINÚRIA.....   | 39         |
| 4.1.1. <i>Características clínicas dos pacientes recrutados</i> .....   | 39         |
| 4.1.2. <i>Efeito do tratamento sobre a proteinúria: análise de intenção de tratamento.....</i>                            | 43         |
| 4.1.3. <i>Efeito do tratamento sobre a proteinúria: análise nos pacientes que toleraram e concluíram o protocolo.....</i> | 52         |
| 4.2. EFEITO SOBRE MCP-1 .....   | 57         |
| 4.3. EFEITO SOBRE VEGF .....  | 65         |
| 4.4. EFEITO SOBRE TGF-B.....  | 73         |
| 4.5. EFEITO SOBRE RBP URINÁRIA .....  | 81         |
| 4.5. ANÁLISES ADICIONAIS.....   | 86         |
| 4.5.1 <i>Variáveis preditoras de eventos adversos durante o protocolo</i> .....   | 86         |
| 4.5.2 <i>Variáveis preditoras de evolução da proteinúria</i> .....  | 91         |
| <b>5. DISCUSSÃO .....</b>   | <b>97</b>  |
| 5.1. PROTEINÚRIA.....   | 97         |
| 5.2. MCP-1 .....  | 105        |
| 5.3. VEGF .....   | 108        |
| 5.4. TGF-B.....   | 110        |
| 5.5. RBP URINÁRIA .....   | 111        |
| 5.6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....  | 115        |
| <b>6. CONCLUSÕES.....</b>   | <b>120</b> |
| <b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>  | <b>122</b> |

## **Lista de Abreviatura e Siglas**

---

---

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|            |  |
|------------|--|
| AGE        | <i>Advanced glycosylated end-product</i>           |
| AT-1       | Receptor 1 da angiotensina II                      |
| BRA        | Bloqueador do receptor da angiotensina II          |
| DAFR       | Deterioração aguda da função renal                 |
| DM         | Diabetes mellitus                                  |
| DRC        | Doença renal crônica                               |
| ECA        | Enzima conversora da angiotensina I                |
| FMUSP      | Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo |
| Hb glicada | Hemoglobina glicada                                |
| HIF-1      | <i>Hypoxia-inducible factor 1</i>                  |
| HK         | Hipercalemia                                       |
| IECA       | Inibidor da enzima conversora da angiotensina I    |
| IMC        | Índice de massa corpórea                           |
| ITT        | Intenção de tratamento                             |
| MCP-1      | <i>Monocyte chemoattractant protein 1</i>          |
| ND         | Nefropatia diabética                               |
| NF-κB      | <i>Nuclear factor κB</i>                           |
| PAD        | Pressão arterial diastólica                        |
| PAS        | Pressão arterial sistólica                         |
| PCR        | Proteína C reativa                                 |
| PGC        | Pressão capilar glomerular                         |
| PKC        | Proteína quinase C                                 |
| PMP        | Por milhão de pacientes                            |

|              |  |
|--------------|--|
| PTH          | Paratormônio   |
| RAGE         | <i>Receptor for advanced glycosylated end-product</i>                  |
| RANTES       | <i>Regulated upon activation normal T cells expressed and secreted</i> |
| RBP          | <i>Retinol binding protein</i>   |
| RFG          | Ritmo de filtração glomerular  |
| SRAA         | Sistema renina-angiotensina-aldosterona                                |
| TGF- $\beta$ | <i>Transforming growth factor <math>\beta</math></i>                   |
| TRS          | Terapia renal substitutiva   |
| UNIFESP      | Universidade Federal do Estado de São Paulo                            |
| VEGF         | <i>Vascular endothelial growth factor</i>                              |

## **Lista de Figuras**

---



## LISTA DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| FIGURA 1. MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS PROPOSTOS NA ND.....  | 14 |
| FIGURA 2. REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO PLANO DO ESTUDO. ....  | 34 |
| FIGURA 3. REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DOS EVENTOS CLÍNICOS NO PROTOCOLO. ....   | 43 |
| FIGURA 4. LINHAS DE PROGRESSÃO DA PROTEINÚRIA NOS 51 PACIENTES (ITT). ....  | 44 |
| FIGURA 6. HISTOGRAMAS DE MCP-1 NO SORO E NA URINA DOS 56 PACIENTES AO INÍCIO DO ESTUDO.....                                     | 57 |
| FIGURA 7. GRÁFICOS DE REGRESSÃO LINEAR ENTRE MCP-1 NA URINA, MCP-1 NO SORO, PROTEINÚRIA E <i>CLEARANCE</i> DE CREATININA. ....  | 59 |
| FIGURA 8. HISTOGRAMAS DE VEGF NO SORO E NA URINA DOS 56 PACIENTES AO INÍCIO DO ESTUDO.....                                      | 66 |
| FIGURA 9. GRÁFICOS DE REGRESSÃO LINEAR ENTRE VEGF NA URINA, VEGF NO SORO, PROTEINÚRIA E <i>CLEARANCE</i> DE CREATININA. ....    | 68 |
| FIGURA 10. HISTOGRAMAS DE TGF-B NO SORO E NA URINA DOS 56 PACIENTES AO INÍCIO DO ESTUDO.....                                    | 74 |
| FIGURA 11. GRÁFICOS DE REGRESSÃO LINEAR ENTRE TGF-B NA URINA, TGF-B NO SORO, PROTEINÚRIA E <i>CLEARANCE</i> DE CREATININA. .... | 76 |
| FIGURA 12. HISTOGRAMA DE RBP NA URINA DOS 56 PACIENTES AO INÍCIO DO ESTUDO. ....  | 82 |
| FIGURA 13. GRÁFICOS DE REGRESSÃO LINEAR ENTRE A RBP URINÁRIA E A PROTEINÚRIA E <i>CLEARANCE</i> DE CREATININA. ....             | 83 |

## **Lista de Tabelas**

---

---

**LISTA DE TABELAS**

|   |           |
|---|-----------|
| <b>TABELA 1. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DOS 56 PACIENTES AO INÍCIO DO ESTUDO. ....</b>  | <b>40</b> |
| <b>TABELA 2. CARACTERÍSTICAS LABORATORIAIS DOS 56 PACIENTES AO INÍCIO DO ESTUDO. ....</b>   | <b>41</b> |
| <b>TABELA 3. VALORES MÉDIOS DAS PRINCIPAIS VARIÁVEIS AO LONGO DO ESTUDO NOS DOIS GRUPOS DE TRATAMENTO.....</b>  | <b>46</b> |
| <b>TABELA 4. FREQUÊNCIA DO USO DE DROGAS ANTI-HIPERTENSIVAS NOS DOIS GRUPOS AO LONGO DO ESTUDO. ....</b>  | <b>48</b> |
| <b>TABELA 5. MODELOS DE REGRESSÃO LINEAR DO EFEITO DO TRATAMENTO SOBRE PROTEINÚRIA FINAL NA ANÁLISE DE INTENÇÃO DE TRATAMENTO. ....</b>                                     | <b>50</b> |
| <b>TABELA 6. MODELOS DE REGRESSÃO LOGÍSTICA SOBRE EVOLUÇÃO DA PROTEINÚRIA NA ANÁLISE DE INTENÇÃO DE TRATAMENTO.....</b>   | <b>51</b> |
| <b>TABELA 7. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E LABORATORIAIS AO INÍCIO DA 2° FASE (44 PACIENTES QUE NÃO APRESENTARAM EFEITO COLATERAL OU ABANDONARAM O ESTUDO NA 1° FASE).....</b> | <b>53</b> |
| <b>TABELA 8. MODELOS DE REGRESSÃO LINEAR DO EFEITO DO TRATAMENTO SOBRE A PROTEINÚRIA FINAL NOS 38 PACIENTES QUE COMPLETARAM O ESTUDO. ....</b>                              | <b>55</b> |
| <b>TABELA 9. MODELOS DE REGRESSÃO LOGÍSTICA SOBRE EVOLUÇÃO DA PROTEINÚRIA NOS 38 PACIENTES QUE COMPLETARAM O ESTUDO. ....</b>   | <b>56</b> |
| <b>TABELA 10. COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO DO MCP-1 NA URINA E SORO AO INÍCIO DO ESTUDO (56 PACIENTES).....</b>   | <b>58</b> |
| <b>TABELA 11. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E LABORATORIAIS DOS 56 PACIENTES AO INÍCIO DO ESTUDO DE ACORDO COM OS TERCIS DE MCP-1 NA URINA. ....</b>                             | <b>61</b> |
| <b>TABELA 12. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E LABORATORIAIS DOS 56 PACIENTES AO INÍCIO DO ESTUDO DE ACORDO COM OS TERCIS DE MCP-1 NO SORO.....</b>                               | <b>62</b> |
| <b>TABELA 13. COMPORTAMENTO DO MCP-1 NA URINA E NO SORO DOS PACIENTES DE ACORDO COM OS GRUPOS DE TRATAMENTO. ....</b>   | <b>63</b> |
| <b>TABELA 14. MODELOS DE REGRESSÃO LOGÍSTICA SOBRE A EVOLUÇÃO DO MCP-1 URINÁRIO ENTRE OS 38 PACIENTES QUE COMPLETARAM O ESTUDO.....</b>                                     | <b>64</b> |
| <b>TABELA 15. MODELOS DE REGRESSÃO LOGÍSTICA SOBRE A EVOLUÇÃO DO MCP-1 URINÁRIO DE ACORDO COM OS GRUPOS DE TRATAMENTO.....</b>  | <b>65</b> |
| <b>TABELA 16. COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO DO VEGF NA URINA E SORO AO INÍCIO DO ESTUDO (56 PACIENTES).....</b>  | <b>67</b> |
| <b>TABELA 17. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E LABORATORIAIS DOS 56 PACIENTES AO INÍCIO DO ESTUDO DE ACORDO COM OS TERCIS DE VEGF NA URINA.....</b>                               | <b>70</b> |

|   |    |
|---|----|
| TABELA 18. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E LABORATORIAIS DOS 56 PACIENTES AO INÍCIO DO ESTUDO DE ACORDO COM OS TERCIS DE VEGF NO SORO. ....            | 71 |
| TABELA 19. COMPORTAMENTO DO VEGF NA URINA E NO SORO DOS PACIENTES DE ACORDO COM OS GRUPOS DE TRATAMENTO. ....                                     | 72 |
| TABELA 20. MODELOS DE REGRESSÃO LOGÍSTICA SOBRE A EVOLUÇÃO DO VEGF URINÁRIO ENTRE OS 38 PACIENTES QUE COMPLETARAM O ESTUDO.....                   | 73 |
| TABELA 21. COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO DO TGF-B NA URINA E SORO AO INÍCIO DO ESTUDO (56 PACIENTES).....  | 75 |
| TABELA 22. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E LABORATORIAIS DOS 56 PACIENTES AO INÍCIO DO ESTUDO DE ACORDO COM OS TERCIS DE TGF-B NA URINA. ....          | 78 |
| TABELA 23. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E LABORATORIAIS DOS 56 PACIENTES AO INÍCIO DO ESTUDO DE ACORDO COM OS TERCIS DE TGF-B NO SORO.....            | 79 |
| TABELA 24. COMPORTAMENTO DO TGF-B NA URINA E NO SORO DOS PACIENTES DE ACORDO COM OS GRUPOS DE TRATAMENTO. ....                                    | 80 |
| TABELA 25. MODELOS DE REGRESSÃO LOGÍSTICA SOBRE A EVOLUÇÃO DO TGF-B URINÁRIO ENTRE OS 38 PACIENTES QUE COMPLETARAM O ESTUDO.....                  | 81 |
| TABELA 26. COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO DA RBP URINÁRIA COM PROTEINÚRIA E <i>CLEARANCE</i> DE CREATININA (56 PACIENTES).....                        | 82 |
| TABELA 27. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E LABORATORIAIS DOS 56 PACIENTES AO INÍCIO DO ESTUDO DE ACORDO COM OS TERCIS DE RBP NA URINA.....             | 84 |
| TABELA 28. COMPORTAMENTO DA RBP URINÁRIA DOS 38 PACIENTES QUE COMPLETARAM O ESTUDO DE ACORDO COM OS GRUPOS DE TRATAMENTO.....                     | 85 |
| TABELA 29. MODELOS DE REGRESSÃO LOGÍSTICA SOBRE A EVOLUÇÃO DE RBP URINÁRIA ENTRE OS 38 PACIENTES QUE COMPLETARAM O ESTUDO.....                    | 86 |
| TABELA 30. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E LABORATORIAIS NOS PACIENTES QUE COMPLETARAM O ESTUDO E NAQUELES COM EVENTOS ADVERSOS. ....                  | 88 |
| TABELA 31. MODELOS UNIVARIADOS DE REGRESSÃO LOGÍSTICA SOBRE O RISCO DE APRESENTAR EVENTO ADVERSO DURANTE O PROTOCOLO.....                         | 90 |
| TABELA 32. MODELO DE REGRESSÃO LOGÍSTICA <i>STEPWISE</i> SOBRE EVOLUÇÃO DE PROTEINÚRIA. ....  | 91 |
| TABELA 33. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E LABORATORIAIS DOS PACIENTES DE ACORDO COM A EVOLUÇÃO DA PROTEINÚRIA AO LONGO DOS 8 MESES DO PROTOCOLO. .... | 92 |
| TABELA 34. MODELOS UNIVARIADOS DE REGRESSÃO LOGÍSTICA SOBRE A EVOLUÇÃO DA PROTEINÚRIA.....  | 94 |
| TABELA 35. MODELOS DE REGRESSÃO LOGÍSTICA <i>STEPWISE</i> SOBRE EVOLUÇÃO DA PROTEINÚRIA AO LONGO DOS 8 MESES DO PROTOCOLO. ....                   | 95 |

**Resumo**

---

---

## **Resumo**

### **Efeito da associação de enalapril e losartan sobre proteinúria e marcadores inflamatórios na nefropatia diabética: ensaio clínico em DM tipo 2**

Titan, S.M.; Zatz, R.;

Disciplina de Nefrologia, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

O tratamento combinado com IECA e BRA foi proposto como alternativa para o tratamento da ND. Nosso objetivo foi avaliar se o tratamento IECA+BRA era superior ao tratamento com IECA em termos de proteinúria e excreção urinária de marcadores inflamatórios. Cinquenta e seis pacientes com ND iniciaram o uso de enalapril. Após 4 meses, os pacientes passaram a receber losartan (Grupo E+L) ou placebo (Grupo E). As incidências de hipercalemia (HK) e deterioração aguda da função renal (DAFR) foram avaliadas. A análise de ANOVA de medidas repetidas não revelou diferença entre os grupos, mas, após ajustes, a progressão da proteinúria foi pior no Grupo E+L. A proteinúria final mostrou-se significativamente maior no Grupo E+L (proteinúria final estimada de 1,2 vs 2,6 g/d/1.73m<sup>2</sup>, p= 0.03). Os resultados foram confirmados nos modelos de regressão logística. Ocorreram 7 eventos de HK (12,6%) e 9 de DAFR (16,1%). Nossos dados sugerem que, em ND avançada, o tratamento combinado IECA+BRA não seja superior ao tratamento com IECA isoladamente em relação à proteinúria e marcadores inflamatórios.

Descritores: 1. Ensaio clínico; 2. Diabetes mellitus; 3. Falência renal crônica; 4. Proteinúria; 5. Sistema renina-angiotensina; 6. Enalapril; 7. Losartan.

## Summary

---

---

## Summary

### **The effect of enalapril and losartan association therapy on proteinuria and inflammatory biomarkers in diabetic nephropathy: clinical trial on type 2 DM.**

Titan, S.M.; Zatz, R.;

Nephrology Department, Hospital das Clínicas, Sao Paulo University Medical School.

Combined treatment with an ACE inhibitor (ACEI) and an angiotensin II receptor blocker (ARB) has been proposed for diabetic nephropathy (DN) treatment. In this study we compared the effect of association therapy versus ACEI on proteinuria progression and on urinary inflammatory biomarkers in DN. Fifty-six patients with DN were started on enalapril. After 4 months, losartan (Group E+L) or placebo (Group E) treatment was started. Incidences of hyperkalemia (HK) and acute kidney function deterioration (AKFD) were monitored. Unadjusted repeated measures ANOVA revealed no difference between groups. After adjustment, proteinuria progression was significantly higher in the E+L Group. In addition, final proteinuria was significantly higher in the E+L Group (predicted adjusted final proteinuria 1,2 vs 2,6 g/d/1,73m<sup>2</sup>, p=0,03). Finally, logistic regression models showed the same results. We observed 7 HK events (12,6%) and 9 AKFD events (16,1%). These results suggest that, at least in advanced DN, association therapy is not superior to ACEI monotherapy in terms of proteinuria and inflammatory biomarkers.

Descriptors: 1. Clinical trial; 2. Diabetes mellitus; 3. Chronic kidney failure; 4. Proteinuria; 5. Renin-angiotensin system; 6. Enalapril; 7. Losartan.



## **Introdução**

---

---

## 1. INTRODUÇÃO

A nefropatia diabética (ND) constitui uma das complicações mais graves do diabetes mellitus (DM). Juntamente à retinopatia e à neuropatia é classificada como uma complicação microvascular da doença. Seu curso é lento e insidioso e os primeiros sinais laboratoriais de ND costumam aparecer entre dez e quinze anos após o início do estado hiperglicêmico. A doença renal no diabetes tipo 1 e tipo 2 é semelhante, compartilhando mecanismos patogênicos, evolução e tratamento. Entre os principais fatores de risco de progressão da doença estão o controle glicêmico ruim e a presença de hipertensão arterial. Uma vez instalada e se não tratada, a doença tende a ter um curso progressivo, levando à piora progressiva da função renal e necessidade de terapia renal substitutiva (TRS).

A ND constitui a principal causa de TRS no mundo. Nos Estados Unidos, este número chega a 40% do total de pacientes atualmente em TRS [1]. Na Europa e no Japão, estima-se que este número esteja ao redor de 20% [2]. No Brasil, segundo dados do censo de 2008, o DM é responsável por aproximadamente 25% dos casos de TRS ([www.sbn.org.br](http://www.sbn.org.br)).

Comparada a outras causas de nefropatia crônica, trata-se de um processo mais agressivo, atingindo taxas de declínio do ritmo de filtração glomerular (RFG) da ordem de 10-12 ml/min/ano em sua fase macroalbuminúrica. Mesmo com os avanços obtidos no tratamento desta doença nas últimas três décadas, o número de pacientes que necessita de TRS ainda é muito elevado. Além disso, a progressão da doença renal

associa-se claramente a morbi-mortalidade cardiovascular excessiva [3, 4]. Assim, novas medidas de renoproteção são urgentemente necessárias e têm sido alvo de pesquisa intensa.

### **1.1 Definições e classificações**

A ND, termo genérico que designa apenas lesão do parênquima renal ocasionado por diabetes, é classificada classicamente em 3 diferentes fases: a fase de hiperfiltração, a de microalbuminúria e a de macroalbuminúria (também denominada proteinúria clínica). Estas fases apresentam sinais clínicos, laboratoriais e histológicos distintos, além de terem potencial de reversibilidade diferente.

A primeira fase da ND, conhecida como fase de hiperfiltração, é caracterizada por um incremento na taxa de filtração glomerular, habitualmente da ordem de 25-50% em relação à taxa basal do indivíduo. Este aumento pode ser avaliado através das diferentes formas de medição da taxa de depuração de creatinina. Esta fase costuma durar anos e é totalmente reversível com o controle metabólico rigoroso, isto é, controle da glicemia e da pressão arterial. Histologicamente, pode-se encontrar um aspecto de rim normal ou sinais de proliferação mesangial leve. À microscopia eletrônica, pode-se observar aumento do volume mesangial, espessamento da membrana basal ou até mesmo glomérulos inteiramente normais. Por definição, a microalbuminúria é ausente.

A segunda fase da nefropatia diabética é caracterizada pela presença de microalbuminúria, que varia de 30 a 300 mg/dia. Pode haver algum grau de comprometimento da função renal, mas este não é obrigatório. Apesar de não haver indicação clínica de biópsia renal, estudos que avaliaram a histologia renal em pacientes diabéticos microalbuminúricos mostram grande heterogeneidade nos achados de biópsias, que variavam desde rim normal até sinais já mais evidentes de proliferação mesangial e aumento de matriz mesangial.

Conforme comprovado por inúmeros estudos, a microalbuminúria é um fator preditor importante de evolução para formas mais avançadas de ND [5, 6]. Seu surgimento está associado ao controle glicêmico inadequado, idade, dislipidemia, hipertensão arterial, presença de retinopatia diabética e tabagismo. Entretanto, a microalbuminúria também é uma lesão potencialmente reversível. Entre os principais fatores preditores de regressão de microalbuminúria estão o controle da glicemia, a idade (ser jovem), o controle da dislipidemia (colesterol e triglicérides) e ausência de hipertensão arterial [7]. É possível que o controle da obesidade e a cessação do tabagismo também tenham influência na remissão da lesão. Vale notar que a microalbuminúria emergiu nos últimos anos como um marcador importante de mortalidade geral e cardiovascular [8, 9], estando também associada à hipertensão, tabagismo, síndrome metabólica e outros fatores de risco cardiovasculares, possivelmente por ser um bom marcador de lesão endotelial difusa.

Já a fase de proteinúria clínica ou macroalbuminúria caracteriza-se pela presença de albuminúria superior a 300 mg/d. Conforme a doença progride, a albuminúria torna-se crescente, atingindo freqüentemente valores nefróticos (superior a 3.5 g/1.73m<sup>2</sup>/d de proteinúria). Histologicamente, esta fase corresponde a lesões glomerulares mais graves. Nota-se, progressivamente, aumento na proliferação mesangial e expansão da matriz mesangial, acompanhado de espessamento da membrana capilar e surgimento de fibrose periglomerular, lesão denominada de forma difusa da ND. Esta expansão da matriz pode tornar-se tão intensa a ponto de formar nódulos grosseiros eosinofílicos, de material PAS-positivo. Quando ocorrem, estes nódulos conferem ao glomérulo aspecto lobulado, sendo a lesão então denominada de nefropatia diabética nodular intercapilar ou lesão de Kimmestiel-Wilson. Estudos envolvendo biópsias de pacientes diabéticos com macroalbuminúria sugerem que há aproximadamente 40% de forma nodular, contra 42% de forma difusa [10]. Do ponto de vista clínico, entretanto, ambas as formas correlacionam-se com uma doença avançada e agressiva. A biópsia renal costuma revelar também lesões arteriolares importantes, caracterizada, sobretudo, pela hialinização da parede de arteríolas aferentes e eferentes. A lesão túbulo-intersticial é variável, mas é comum o relato de vacuolização da célula tubular e de graus variados de fibrose intersticial. A imunofluorescência costuma ser negativa, exceto para as colorações de colágeno e fibronectina. Infelizmente, as lesões nessa fase não são mais reversíveis e as medidas terapêuticas visam apenas à desaceleração do processo de progressão.

## 1.2 Epidemiologia da DRC e da ND

Nos últimos 30 anos, a doença renal crônica (DRC) tornou-se um problema de Saúde Pública mundialmente, com um aumento significativo em sua incidência e prevalência, tanto em países desenvolvidos, como naqueles em desenvolvimento. Diversos motivos contribuem para isso, sendo particularmente importante o aumento na prevalência de obesidade, DM, hipertensão arterial, tabagismo e sedentarismo. Além disso, pacientes com aterosclerose avançada, que apresentavam mortalidade cardiovascular precoce nas décadas de 1960-80, têm atualmente sobrevida adicional de 10-20 anos. Esta população, agora mais longeva, apresenta fatores de risco múltiplos para DRC.

As estimativas para o ano de 2010 nos Estados Unidos alcançam um número aproximado de 651.000 pacientes renais crônicos, 520.000 pacientes dialíticos e 178.000 pacientes transplantados, com um aumento na população de renais crônicos projetado em 4.1% ao ano [11]. Em relação à prevalência de DRC não-dialítica, um estudo (NHANES III) sugere que a prevalência nos Estados Unidos seja de 11% da população adulta (19,2 milhões de pessoas), com números de 3.3%, 3.0%, 4.3%, 0.2% e 0.2% para os estádios 1 a 5 de DRC [12].

No Brasil, há atualmente aproximadamente 380 pacientes por milhão de pessoas (pmp) em programa de hemodiálise, o que corresponde a um terço do número de pacientes prevalentes em hemodiálise nos Estados Unidos [13]. É possível que este número não reflita totalmente a dimensão

da DRC no país uma vez que as condições inadequadas da rede de saúde pública no país podem limitar o diagnóstico e acesso dos pacientes à TRS. Segundo dados do censo da Sociedade Brasileira de Nefrologia realizado no ano 2008, a taxa de prevalência de pacientes em TRS é crescente nos últimos 15 anos e a taxa de incidência anual estimada de TRS no Brasil atual é de 141 pmp.

Diferentemente do observado nos Estados Unidos, o DM é a segunda causa de TRS no país, responsável por 25,7% dos casos de pacientes em TRS, atrás da etiologia hipertensiva, mas agora à frente das glomerulonefrites crônicas. Este padrão é semelhante ao observado na Europa e no Japão. Entretanto, vale notar que apesar de não haver dados nacionais sistemáticos e comparativos, é possível que esteja ocorrendo um aumento na prevalência de DRC terminal secundária à ND nas últimas 2 décadas [13].

Os dados referentes à incidência e prevalência das diferentes fases de ND no mundo são escassos e muito variados. De uma forma geral, estima-se que aproximadamente 20-30% dos pacientes com DM tipo 2 e 30-50% dos pacientes com DM tipo 1 apresentem microalbuminúria persistente (definida como três coletas não-consecutivas positivas). Entre 1.5-2.5% dos pacientes com microalbuminúria progridem anualmente para a fase de macroalbuminúria e a partir desta fase nota-se um declínio variável da função renal, entre 1-10 ml/min/ano. Estima-se que cerca de 50% dos pacientes que chegam à fase macroalbuminúrica necessitarão de TRS, mas é possível que este número ainda não reflita o progresso das medidas

renoprotetoras nos últimos anos. Uma releitura do estudo UKPDS, realizado na década de 90, mostra que estas taxas de progressão são elevadas e que tanto a microalbuminúria quanto a macroalbuminúria, além de marcarem o risco de progressão da nefropatia, associam-se importantemente ao risco de óbito [14]. No Brasil, não temos dados sistemáticos sobre a prevalência e incidência das diferentes fases de ND.

O ônus do tratamento conservador de DRC e das terapias substitutivas renais é muito grande. Nos Estados Unidos, dados nacionais revelam que aproximadamente 0,03% da população americana iniciou TRS em 2004. O custo relacionado à TRS elevou-se em 57% entre 1999 e 2004, consumindo atualmente 6,7% do total de gastos do “Medicare” [15]. No Brasil, o custo associado à TRS e transplante renal também é significativo [16].

Alarmante também é o fato de a maioria dos países apresentar aumento na prevalência de obesidade e DM. A *International Diabetes Federation* estima que até 2025 haverá um aumento de 72% na prevalência de DM no mundo, atingindo o número de 224 milhões de pessoas. Também estima-se uma elevação na prevalência de DM de 88% na América do Sul, 59% na América do Norte, 18% na Europa, 98% na África, 97% no Oriente Médio e 91% na Ásia. O aumento nos casos prevalentes de DM no mundo associado ao aumento na expectativa de vida da população em geral pode gerar um número excessivo de pacientes portadores de ND e de DRC terminal [17].



### 1.3 Patogênese da ND

A lesão renal na ND é complexa e multifatorial. A ND sempre foi, tanto em estudos clínicos, como em experimentais, um modelo de DRC e muito do que se conhece hoje sobre mecanismos de progressão e tratamento em DRC vem originalmente de estudos em ND. Entretanto, a ND apresenta como particularidade a associação de lesões de natureza hemodinâmica e metabólica. Apesar de convergirem para vias finais de sinalização comuns, é justamente esta associação que confere à doença sua agressividade.

Acredita-se que na fase inicial da ND ocorra um aumento no RFG em função de alterações no balanço entre fatores vasoconstritores e vasodilatadores, causando elevação da pressão glomerular capilar (PGC) e aumento na filtração por néfron. Os mecanismos através dos quais a hiperglicemia causa esta alteração ainda não são totalmente conhecidos, mas há evidências do possível envolvimento de diversas vias metabólicas e inflamatórias. Acredita-se que uma das principais vias de sinalização seja a do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), sendo a ação parácrina do sistema possivelmente mais importante do que a sua ação sistêmica. A ativação da angiotensina intra-renal cursa com vasoconstrição preferencial da arteríola eferente, ocasionando hipertensão glomerular [18, 19].

Diversos estudos experimentais e clínicos sugerem que outro regulador importante da hemodinâmica glomerular na ND seja o óxido nítrico [20], que tem sua produção aumentada na hiperglicemia, ocasionando o aumento da filtração glomerular, provavelmente por ação vasodilatadora

preferencial sobre a arteríola aferente. Outras moléculas possivelmente envolvidas nessa fase de hiperfiltração são as prostraglandinas, o tromboxane e as espécies reativas de oxigênio (ROS).

Entretanto, a hiperfiltração não é isenta de complicações. Conforme avaliado em inúmeros estudos experimentais da década de 80 [18, 19, 21, 22], a hipertensão e hipertrofia glomerulares são acompanhados por um aumento na função de filtração e excreção do néfron. O que é, a princípio, um mecanismo adaptativo, torna-se, ao longo do tempo, lesivo, culminando em albuminúria, glomeruloesclerose e fibrose túbulo-intersticial. Conforme o processo caminha e há perda progressiva de néfrons, as unidades remanescentes são submetidas à sobrecarga ainda maior, fechando um círculo vicioso que agrava ainda mais a hipertensão glomerular.

Corroborando este mecanismo patogênico, sabemos que intervenções que causam a queda do hiperfluxo glomerular têm uma ação renoprotetora. Assim, a aplicação de dieta hiperproteica sabidamente eleva o fluxo plasmático renal e a filtração glomerular, gerando hipertensão e hiperfiltração glomerulares. Por outro lado, a restrição proteica mostrou-se benéfica na redução da progressão da nefropatia crônica, tanto em trabalhos clínicos [23, 24], como em modelos experimentais [25, 26].

Posteriormente, surgiram estudos experimentais que mostraram um efeito renoprotetor das drogas inibidoras da enzima de conversão da angiotensina (ECA), independente de seu efeito anti-hipertensivo [19, 27, 28]. Este efeito protetor é atribuído à redução da PGC causada pela inibição da ECA, protegendo o néfron da agressão hemodinâmica e inflamatória

imposta pela hipertensão glomerular. Outras drogas anti-hipertensivas, que atuam preferencialmente sobre a arteríola aferente, apesar de reduzirem a pressão arterial sistêmica, não apresentam o mesmo efeito benéfico sobre a hemodinâmica glomerular, conferindo um menor efeito renoprotetor. A redução no ritmo de progressão das nefropatias crônicas já foi demonstrada em ensaios clínicos tanto com drogas inibidoras da ECA (IECA) [29-31], como com drogas bloqueadoras do receptor 1 da angiotensina II (BRA) [32-34].

Anteriormente compreendida como uma agressão puramente mecânica, sabemos atualmente que a lesão hemodinâmica não atua apenas por lesão de estiramento e agressão ao endotélio. A presença de hipertensão glomerular associa-se à ativação de moléculas e citocinas inflamatórias, implicadas na progressão da nefropatia crônica *sensu lato*. A produção e a atuação destas citocinas envolvem os diversos tipos de células residentes no rim: endoteliais, mesangiais, podocitárias, além de macrófagos e linfócitos. Assim, o conceito de que a lesão causada pela hipertensão glomerular era primariamente mecânica e com atuação preferencial sobre a célula endotelial foi ampliado para o de um processo multifatorial, envolvendo estímulos mecânicos e inflamatórios, assim como diversos tipos celulares.

Entre as inúmeras moléculas estudadas até o momento no processo de sinalização e progressão da DRC, surgem como as mais importantes a angiotensina II, o TGF- $\beta$  (*transforming growth factor*  $\beta$ ) e as do complexo NF- $\kappa$ B (*nuclear factor*  $\kappa$ B), mas espécies reativas de oxigênio [35], o MCP-1

(*monocyte chemoattractant protein -1*), o VEGF (*vascular endothelial growth factor*), RANTES (*regulated upon activation normal T cell expressed and secreted*) e a aldosterona, entre outras, também são moléculas possivelmente implicadas.

Além dessa lesão de natureza hemodinâmica, a própria hiperglicemia também agride os diversos tipos celulares renais através de uma ação tóxico-metabólica. Uma das vias mais estudadas é a lesão ocasionada por AGEs [36, 37] (produtos de glicosilação avançada). Tais produtos derivam da glicosilação, a princípio reversível, de grupos amino de proteínas, ácido nucléicos e lípidos, formando bases Schiff. Com o tempo e a persistência da hiperglicemia, tais reações tornam-se mais estáveis e irreversíveis. Esses produtos passam a atuar através de duas formas: ou por reação não-enzimática, denominada *cross-linking*, ou através de uma via enzimática mediada pelos receptores de AGEs, conhecidos como RAGEs. Estas vias resultam em modificações de funções celulares, como alteração na permeabilidade endotelial, em ativação de macrófagos, produção de citocinas inflamatórias e fatores de crescimento (incluindo TGF- $\beta$  e NF- $\kappa$ B), redução na resposta vasodilatadora ao NO e ativação da proteína quinase C (PKC, também envolvida na patogênese da ND). Mais especificamente no rim, diversos estudos experimentais sugerem que os AGEs estejam envolvidos na progressão da nefropatia crônica, através de modificação da matriz extracelular, lesão de podócito (os RAGES são expressos principalmente neste tipo celular), ativação de TGF- $\beta$ , PKC, HIF-1 (*hypoxia-inducible factor 1*), VEGF e estresse oxidativo [37].

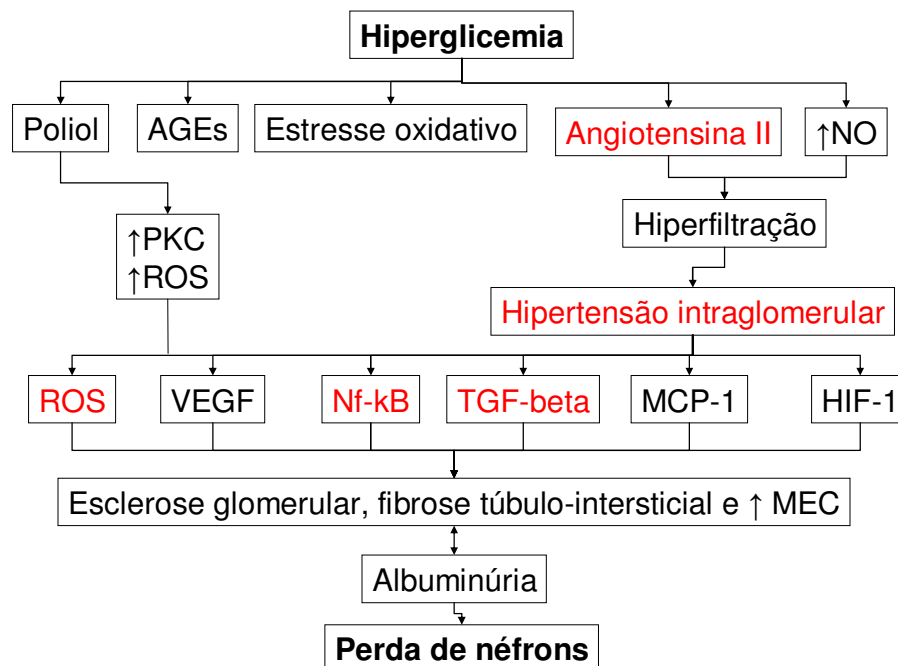
Outra via importante é a via dos polióis. Fisiologicamente, a glicose é reduzida a sorbitol e este, à frutose, através de duas enzimas mitocondriais, a aldose redutase e a sorbitol desidrogenase, gerando NADH e NAD<sup>+</sup> [38]. O estado hiperglicêmico causa um acúmulo de produtos desta via, modificando o estado redox da célula, potencializando a via das pentoses e estimulando a PKC. Novamente, estudos experimentais mostram que a via dos polióis está associada a aumento do estresse oxidativo, ativação de vias inflamatórias (NF-κB, TGF-β, MCP-1) e albuminúria.

Além das vias descritas acima, é possível que a própria proteinúria, crescente na ND, contribua para o processo de agressão renal. Anteriormente compreendida apenas como um marcador de nefropatia crônica, a proteinúria vem sendo implicada também como um agente promotor de progressão em DRC. Diversos estudos sugerem que a presença contínua de proteína em quantidade anormal na luz tubular e, por conseguinte, o aumento na reabsorção tubular da mesma, ative vias inflamatórias peritubulares [39-43]. Essa ativação resultaria em fibrose túbulo-intersticial.

Além disso, nos últimos anos, a proteinúria emergiu não apenas como um bom marcador de gravidade da doença, influenciando decisões terapêuticas, mas também como um parâmetro clínico de resposta a tratamento. A proteinúria consiste atualmente no principal parâmetro clínico capaz de prever a evolução para doença renal terminal [44-47] e sua redução correlaciona-se com uma diminuição no risco de perda de função renal. Assim, em nefropatias crônicas de etiologia variada, uma das

principais metas terapêuticas a serem atingidas é a redução no grau de proteinúria [47, 48].

**Figura 1.** Mecanismos fisiopatológicos propostos na ND.



Assim, como vimos, tanto o insulto hemodinâmico, como o insulto metabólico convergem para a ativação de citocinas e moléculas inflamatórias, sendo a angiotensina II, o TGF- $\beta$ , o sistema NF-kB e as espécies reativas de oxigênio mediadores-chave no processo de progressão. Em última instância, todo esse processo inflamatório culmina em esclerose glomerular, fibrose e atrofia túbulo-intersticial, além de acúmulo de matriz extracelular. A redução no número de néfrons cria uma

sobrecarga aos néfrons remanescentes, agravando a agressão inflamatória e hemodinâmica e gerando um círculo vicioso que pode culminar na falência do órgão.

#### **1.4 Novos marcadores de progressão na ND**

Apesar da importância da ND, dispomos de poucos marcadores capazes de prever a atividade da doença. O seguimento clínico é feito através da dosagem de albuminúria ou proteinúria, creatinina sérica e depuração de creatinina. Não há marcadores precoces de agressão, nem marcadores específicos para os diversos tipos de agressão renal presentes (hemodinâmico, inflamatório, oxidativo). É possível que a dosagem de novos marcadores adicione informações sobre a atividade da doença e a resposta ao tratamento.

O TGF- $\beta$  é uma das principais moléculas estudadas no processo de sinalização da DRC. É um potente estimulador da síntese de proteínas da matriz extracelular, como colágeno, fibronectina e laminina. Possui também ação inibitória sobre proteases envolvidas na degradação da matriz, sendo, assim, ao final, um sinalizador importante no processo de fibrose e cicatrização. É expresso nos diversos tipos celulares do rim, tanto no compartimento glomerular, quanto túbulo-intersticial. Em biópsias humanas de pacientes com DRC, há evidência de hiper-expressão de TGF- $\beta$  e de aumento na expressão de seu receptor [49]. Sua síntese é estimulada por diversas formas de agressão envolvidas na patogênese da ND,

mencionadas anteriormente: hipertensão glomerular com estiramento de glomérulo, hiperglicemia, ativação de PKC, ativação de estresse oxidativo, formação de AGEs, etc. Assim, esta citocina emergiu como um potencial marcador e alguns estudos se propuseram a avaliar o eventual papel do TGF- $\beta$  como biomarcador de gravidade, risco de progressão e resposta terapêutica na ND.

Alguns estudos clínicos pequenos mostraram haver uma correlação positiva entre albuminúria e excreção urinária de TGF- $\beta$ . Gilbert [50] faz uma análise interessante em pacientes diabéticos normo e microalbuminúricos, mostrando que a excreção urinária de TGF- $\beta$  encontrava-se aumentada naqueles com nefropatia, correlacionando este efeito à presença de proteinúria. Rivarola *et al* [51] também mostram o mesmo efeito em 23 pacientes diabéticos, nos quais a concentração urinária de TGF- $\beta$  é crescente de acordo com o valor da albuminúria. Resultados análogos são descritos por Ellis *et al* [52].

Outros estudos avaliaram o efeito do tratamento com drogas bloqueadoras do SRAA sobre a excreção urinária de TGF- $\beta$ . Sharma *et al* [53] estudaram o efeito de seis meses de tratamento com captopril *versus* placebo na concentração sérica de TGF- $\beta$  em pacientes diabéticos. Estes autores observaram uma redução no TGF- $\beta$  sérico no grupo tratado com captopril, enquanto no grupo placebo houve uma elevação na concentração de TGF- $\beta$ . Em pacientes diabéticos hipertensos com microalbuminúria, o uso de BRA em comparação a placebo também reduz a excreção urinária de TGF- $\beta$  [54]. Agarwal *et al* [55] demonstraram que a elevação no grau de



bloqueio da angiotensina II mostrou-se associada a redução adicional na concentração urinária de TGF- $\beta$ . Janickova *et al* [56] não encontraram efeito do tratamento com ramipril sobre TGF- $\beta$ . Woo *et al* [57] avaliaram em 22 pacientes com DM tipo 2 o efeito de losartan sobre a excreção de TGF- $\beta$  urinário, encontrando uma redução significativa de 48% após 6 meses. Os níveis plasmáticos de TGF- $\beta$  não se alteraram no período do estudo.

Song *et al* [58] compararam o efeito de bloqueio com ramipril, candesartan e ramipril + candesartan em pacientes diabéticos com proteinúria nefrótica e perda de função (depuração média de creatinina 40 ml/min/1.73m<sup>2</sup>) e observaram uma redução da proteinúria e da excreção urinária de TGF- $\beta$  nos 3 grupos, sendo mais importante no grupo com bloqueio duplo. Apesar dos autores não fazerem essa análise em pormenor, os dados descritos sugerem haver uma excelente correlação entre o efeito anti-proteinúrico e aquele observado sobre a excreção urinária de TGF- $\beta$ .

Outro marcador que apresenta alguns resultados interessantes na literatura é o MCP-1. O MCP-1 é uma citocina com ação quimiotática potente sobre monócitos e células T. Além de promover a migração destas células na região onde é expresso, o MCP-1 possui também ação estimulatória sobre o monócito, gerando a produção de moléculas de estresse oxidativo, citocinas e fatores de adesão [59, 60]. No rim, é produzido em células mesangiais e tubulares e tem seus receptores expressos primordialmente em células mesangiais. Juntamente com o TGF- $\beta$ , também emergiu como um potencial biomarcador em ND.

Diversos estudos sugerem que o MCP-1 apresenta correlação com a proteinúria, tanto em ND, como em outras doenças glomerulares [61-65]. Chiarelli et al [66] mostraram haver correlação entre a presença de nefropatia microalbuminúrica e a concentração plasmática de MCP-1 em pacientes com DM tipo 1. Wada et al estudaram o MCP-1 urinário e renal em 45 pacientes com ND. A excreção urinária dessa proteína estava aumentada principalmente nos pacientes com proteinúria importante, quando comparada a de controles sadios. Além disso, sua excreção urinária mostrou correlação significativa com lesões túbulo-intersticiais mais avançadas [62]. Takebayashi et al [67] analisaram a relação entre a concentração plasmática de MCP-1 e diversos marcadores de aterosclerose em pacientes obesos com DM tipo 2. Os autores concluíram que a única variável preditora da concentração plasmática de MCP-1 foi a albuminúria. Grandaliano et al [68] estudaram a excreção urinária de MCP-1 em crianças com uropatia obstrutiva congênita. Os autores demonstraram que, além de estar aumentado nessa doença, esse marcador é modulado pela intervenção terapêutica, com redução nítida da excreção urinária do MCP-1 após o procedimento desobstrutivo. Amann et al [69] avaliaram o efeito de 12 meses de tratamento com lisinopril em 22 pacientes com DM tipo 2 e nefropatia diabética estádios 3-5. Os autores observaram uma redução na proteinúria de  $410 \pm 662$  mg/24 h para  $270 \pm 389$  mg/24 h e na excreção urinária de MCP-1 de  $0,456 \pm 0,22$  ng/mg creatinina para  $0,08 \pm 0,096$  ng/mg creatinina. A mudança na excreção urinária de MCP-1 foi correlacionada à mudança na proteinúria ( $r = 0,61$ ,  $P < 0,001$ ).

O VEGF é um fator de crescimento que estimula a angiogênese e aumenta significativamente a permeabilidade do capilar à passagem de proteínas. Entre os fatores que estimulam sua produção, a hipóxia surge como o mais importante, mas já sabemos que outros fatores de crescimento, a angiotensina II, a PKC, a hiperglicemia e os AGES têm ações estimulatórias sobre a produção de VEGF. No rim, o VEGF relaciona-se a diversos processos, como nefrogênese, migração, diferenciação e sobrevivência da célula endotelial renal [70]. É produzido no podócito e, em menor extensão, nas células do túbulo distal. Seus receptores estão presentes em células endoteliais renais, em células mesangiais e tubulares. Em vista de suas ações sobre neovascularização e permeabilidade capilar, este marcador passou a ser estudado em diversos modelos de doença renal e proteinúria. Interessantemente, os resultados encontrados são conflitantes, sugerindo que a molécula possa ter um papel protetor ou prejudicial, a depender da doença e do tipo de agressão renal.

Em modelos experimentais a redução na expressão do VEGF acarreta endoteliose e proteinúria ou, nas formas mais graves, doença renal precoce, com mortalidade perinatal. Por outro lado, a hiperexpressão do gene associa-se à glomerulopatia colapsante [71]. Em modelos de ablação, o fator de crescimento mostrou-se relacionado ao fenômeno de hipertrofia glomerular [72] e a perda do VEGF associa-se à formação de glomeruloesclerose e fibrose túbulo-intersticial .

Em estudos clínicos, a molécula está possivelmente implicada na patogênese da pré-eclampsia e eclampsia [73], bem como na da

microangiopatia trombótica [74]. Na glomerulopatia membranosa seu papel não está bem estabelecido, mas é possível que sua expressão esteja deprimida em períodos de atividade da doença, retornando ao normal com a remissão da proteinúria [75, 76].

Em relação à ND, estudos experimentais iniciais sugeriram que esta molécula pudesse estar implicada na patogênese da ND [77, 78]. Os resultados dos poucos estudos clínicos que avaliaram o papel do VEGF são conflitantes. Hovind *et al* [79] descrevem a associação da concentração plasmática de VEGF com albuminúria apenas em pacientes do sexo masculino. Nessa população de pacientes com DM tipo 1, o VEGF não foi um fator prognóstico de perda de função renal em período de seguimento de 3 anos. Cha *et al* [80] demonstraram uma relação positiva entre as concentrações plasmática e urinária de VEGF em indivíduos com macroalbuminúria em relação a indivíduos com normo ou microalbuminúria. Por outro lado, Chaturvedi *et al* [81] não encontraram associação entre as complicações microvasculares diabéticas e a concentração plasmática de VEGF.

Interessantemente, estudos experimentais sugerem que diversas drogas bloqueadoras de VEGF (anticorpos monoclonais, drogas inibidoras de PKC, da ação de AGES e IECA) tenham uma ação renoprotetora em diversos modelos de nefropatia crônica [78, 82, 83].

Muito interesse existe na atualidade sobre o papel destes novos biomarcadores, tanto em ND como em nefropatia não-diabética. No entanto, estudos clínicos são necessários para caracterizar melhor estas citocinas,

conhecer sua relação com a proteinúria e com o tipo e grau da DRC, estabelecer seu papel como fatores preditivos independentes de perda de função renal e da evolução da proteinúria, avaliar o efeito de diferentes intervenções terapêuticas sobre sua excreção e, sobretudo, analisar sua relação custo-efetividade no atendimento clínico. Vale notar que o interesse maior seria se estes marcadores acrescentassem uma informação clínica nova em relação àquela que o grau de proteinúria e o *clearance* de creatinina já informam.

### **1.5 Tratamento da ND**

O tratamento da nefropatia diabética reside fundamentalmente em três medidas clínicas: controle da glicemia, controle da hipertensão arterial sistêmica e o uso de drogas inibidoras do SRAA.

A consagração do uso de IECA ou BRA na ND ocorreu após estudos clínicos publicados nos anos 90, tanto em DM tipo 1 [30, 34], como em DM tipo 2 [32-34]. A maioria destes estudos envolveu pacientes com ND em fase micro ou macroalbuminúrica, submetidos ao uso de monoterapias com IECA ou BRA em doses plenas. Estes estudos mostraram claramente um benefício em termos de progressão de DRC nos grupos com tratados com monoterapia com IECA ou BRA em relação aos grupos tratados com outras drogas anti-hipertensivas.

Entretanto, passados mais de 20 anos do uso clínico destas drogas na ND sabemos que a variabilidade inter-individual na resposta anti-

proteinúrica e na prevenção de progressão é muito ampla. Assim, a taxa de progressão para DRC terminal, mesmo naqueles tratados, segue alarmante. Com isso, algumas discussões interessantes surgiram:

1) equivalência entre as duas classes de drogas: muita discussão ocorreu em relação à equivalência ou não do efeito renoprotetor de IECA e BRA. As drogas inibidoras da ECA têm a vantagem de serem mais antigas e, portanto, mais testadas na prática clínica. Por outro lado, permitem a ativação de outras vias formadoras de angiotensina II, não-dependentes da ECA [84], além de causarem mais tosse, fenômenos alérgicos e, possivelmente, hipercalcemia. Por outro lado, independentemente da via de ativação da angiotensina II, o BRA bloqueia eficientemente o receptor AT1, responsável pelos principais efeitos prejudiciais atribuídos à angiotensina II até hoje. Em contrapartida, aumenta a disponibilidade de angiotensina II para receptores não AT1. Alguns estudos que compararam o uso destas drogas sugerem que seu efeito é semelhante e que o uso de IECA ou BRA é indiferente [85, 86].

2) dose apropriada para prevenção: doses variadas foram utilizadas nos diversos trabalhos clínicos. Além disso, a dose ideal para obter o bloqueio da ação da angiotensina tecidual não está estabelecida [87]. Recentemente, Zatz *et al* [88] mostraram um efeito superior de doses supra-farmacológicas de BRA em nefropatia progressiva experimental. Estudos clínicos pequenos também avaliaram o papel de “megadose”, com resultados sugestivos de um efeito superior ao uso destas drogas em doses habituais, sem aumento na incidência de efeitos colaterais [89-91].

Entretanto, o uso clínico de “megadoses” ainda permanece restrito, principalmente pelo receio de maior incidência de efeitos colaterais, sobretudo a hipercalemia.

3) potencial papel terapêutico da ação combinada dessas duas classes de drogas: Estudos clínicos pequenos sugerem que o uso combinado de IECA e BRA tenha um efeito anti-proteinúrico superior ao do uso isolado dessas drogas. Estes estudos foram feitos principalmente em nefropatias proteinúricas não-diabéticas [92-94, 95{Luno, 2002 #124, 96}], mas alguns estudos mostraram o mesmo tipo de resultado em ND [95, 97-99]. Vale notar que o receio sobre o uso combinado de IECA e BRA é muito maior em ND do que em nefropatia não-diabética. Sabidamente, é a população de diabéticos que apresenta risco maior de ocorrência de hipercalemia, provavelmente em decorrência do estado de hipoaldosteronismo hiporreninêmico, comum na doença. Além disso, sabemos que com o incremento da dose de IECA ou BRA, alguns pacientes diabéticos apresentam piora da função renal, que pode ser atribuída tanto à presença de doença macrovascular em artérias renais, como simplesmente ao efeito excessivo das drogas sobre a arteríola eferente, com queda significativa no RFG.

Além do receio sobre efeitos colaterais, faltam ainda dados mais sistemáticos que avaliem o benefício do tratamento combinado sobre a perda de função renal, e não apenas sobre a proteinúria, um marcador intermediário de progressão. Até o presente momento, o único estudo que avaliou o efeito da terapia combinada de IECA e BRA sobre progressão de

nefropatia crônica foi o ensaio clínico COOPERATE [100]. Este estudo envolveu 336 pacientes portadores de nefropatia crônica não-diabética e evidenciou melhor sobrevida renal no grupo tratado com as duas drogas do que nos grupos tratados com uma classe de droga apenas. Vale notar que a análise estatística deste estudo foi recentemente contestada na literatura [101]. Assim, este dado precisa ser replicado, particularmente na população de pacientes diabéticos.

Os argumentos em favor do uso combinado de IECA e BRA são interessantes, embora um maior nível de evidência ainda seja necessário. Nos últimos anos, o SRAA revelou-se muito mais complexo do que se pensava anteriormente. Primeiramente, foi notado que pacientes em uso crônico de IECA apresentavam após certo tempo elevação da concentração de angiotensina II, caracterizando um fenômeno de escape. Posteriormente, descobriu-se que este escape estava associado à geração de angiotensina II por vias alternativas, não ECA-dependentes. A primeira via caracterizada foi a das quimases, com particular importância na formação parácrina da angiotensina II cardíaca. Além disso, sabe-se hoje que outros metabólitos gerados no processo de produção e degradação da angiotensina II, anteriormente considerados moléculas irrelevantes, exercem na verdade efeitos fisiológicos e fisiopatológicos importantes [102-104]. Para tornar o sistema ainda mais complexo, há ao menos três receptores de angiotensina II [102]. No rim, o principal receptor expresso em condições de nefropatia crônica experimental é o AT1, localizado principalmente em células



tubulares, mas presente também em regiões de atividade inflamatória, especialmente na região intersticial [105].

Assim, em teoria, o uso combinado de IECA e BRA permitiria um bloqueio mais eficiente do sistema. Entretanto, vale notar que não há ainda estudos farmacológicos que comprovem esta teoria, restando muitas dúvidas em relação ao sinergismo e bioequivalência destas classes de drogas.

## **2 . Objetivos**

---

## 2. OBJETIVOS

O objetivo do presente estudo foi avaliar se a adição de BRA acrescentava benefício terapêutico ao tratamento da ND em pacientes já em uso de IECA. O desfecho principal do estudo foi o efeito do tratamento combinado IECA + BRA em comparação ao grupo IECA + placebo sobre:

(1) a proteinúria de 24h.

Além disso, o estudo visou a monitorização da incidência de dois efeitos colaterais:

(1) a hipercalemia (HK), definida como o aparecimento de taxas séricas de potássio superiores a 5.5 mEq/L;

(2) a deterioração aguda da função renal (DAFR), definida aqui como um aumento na taxa de creatinina plasmática superior a 30% entre duas consultas consecutivas, sem causa aparente.

Foram objetivos secundários no estudo avaliar o efeito do tratamento sobre:

(1) a excreção urinária de MCP-1;

(2) a excreção urinária de TGF- $\beta$ ;

(3) a excreção urinária de VEGF.

### **3 . Casuística e Métodos**

---

---

### 3. CASUÍSTICA E MÉTODOS

#### 3.1. Casuística, métodos e protocolo

O estudo consistiu num ensaio clínico “randomizado”, duplo-cego, placebo-controlado, envolvendo pacientes com DM tipo 2 portadores de nefropatia diabética macroalbuminúrica, recrutados a partir de consultas de triagem do ambulatório de Nefrologia do Hospital das Clínicas-FMUSP ou através de busca ativa de pacientes com esse diagnóstico em outros serviços do complexo hospitalar.

Os critérios de inclusão foram: ter DM tipo 2; presença de nefropatia diabética macroalbuminúrica definida por (1) proteinúria superior a 500 mg/24h, (2) história de DM há mais de 5 anos (3) ausência de hematúria persistente e (4) ausência de sinais ou sintomas sugestivos de outra causa de nefropatia.

Foram critérios de exclusão: gestação, DM tipo 1, alergia à IECA ou BRA, creatinina sérica superior a 2,5 mg/dL, hipercalemia superior a 5.5 mEq/L por ocasião do recrutamento, ICC ou angina CF III ou IV, IAM nos últimos 3 meses, hospitalização nos últimos 3 meses, estenose bilateral de artérias renais ou uso de BRA nos últimos 3 meses.

Todos os pacientes candidatos ao estudo receberam explicações e orientações sobre o protocolo e seus riscos por parte do médico atendente e assinaram um termo de consentimento informado. O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq) do

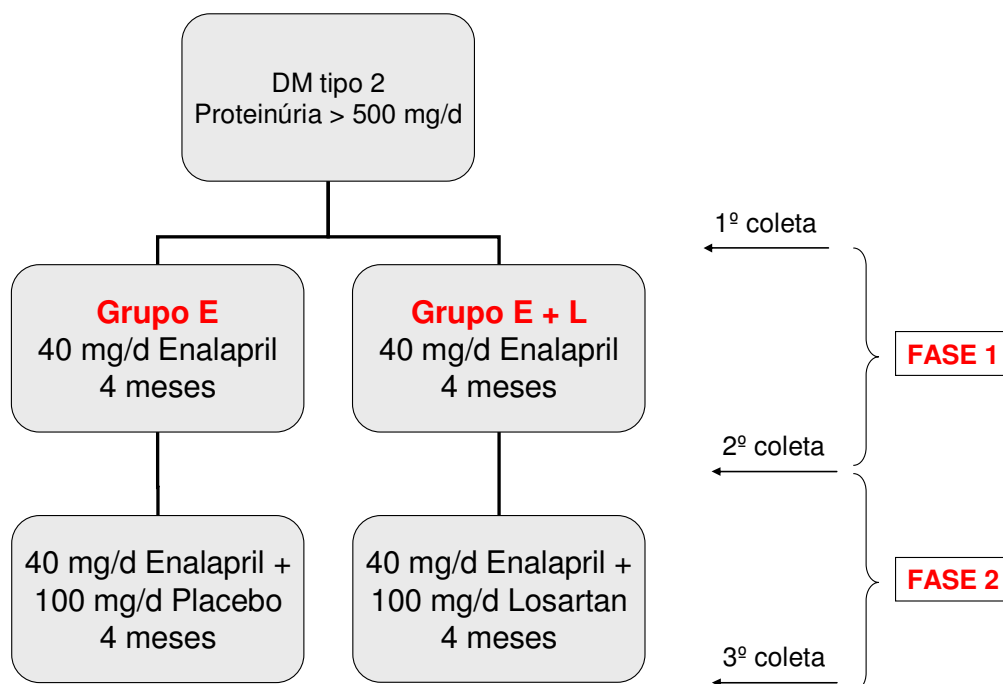
Hospital das Clínicas / Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. O projeto também foi registrado no Clinical Trials.gov (*National Institute of Health* – Estados Unidos) sob o número NCT00419835.

Sumariamente, o protocolo era aplicado da seguinte forma: no primeiro dia de ingresso no estudo, os pacientes respondiam a um questionário padronizado, realizavam coleta (1<sup>o</sup> coleta) de sangue e urina e eram aleatorizados para os braços do estudo, a saber, **Grupo E** (enalapril + placebo) e **Grupo E+L** (enalapril + losartan). A aleatorização foi pareada para o grau de Hb glicada (menor ou maior a 8%) e para o grau de proteinúria (menor ou maior a 3,5g/d). Nos primeiros 4 meses de protocolo, todos os pacientes iniciavam ou mantinham uso de enalapril, titulado gradualmente até a dose de 40 mg/dia. A velocidade no incremento da dose ficava a critério do médico atendente, visando sempre alcançar a dose máxima tolerada pelo paciente. Além de objetivar a estabilização do efeito anti-proteinúrico do enalapril (evitando cruzamento entre o efeito do enalapril e o efeito da fase de intervenção), os primeiros 4 meses do protocolo também eram importantes para a estabilização do tratamento clínico habitual, isto é, controle da pressão arterial, do DM, emprego de estatinas, emprego de anti-agregantes plaquetários, avaliação de risco cardiovascular e outras complicações microvasculares. O uso de outras drogas anti-hipertensivas ficou a critério clínico, dando-se preferência ao uso de diuréticos, bloqueadores de canal de cálcio dihidropiridínicos, beta-bloqueadores e bloqueadores centrais, nesta ordem. As metas de atendimento seguiam as padronizações já consagradas na atenção ao

paciente diabético com DRC [1]: (1) níveis pressóricos inferiores a 130 x 85 mmHg; (2) Hb glicada inferior a 7%; (3) tratamento de dislipidemias associadas; (4) investigação de comorbidades quando houvesse suspeita clínica de insuficiência coronária, insuficiência cardíaca e insuficiência vascular periférica; (5) avaliação oftalmológica e (6) orientações clínicas habituais referentes à dieta (principalmente restrição de potássio), obesidade e dislipidemia.

Ao final do 4<sup>o</sup> mês, os pacientes realizavam outra coleta de fluidos biológicos (2<sup>o</sup> coleta) e passavam a receber a segunda droga (placebo ou losartan), titulada até a dose de 100 mg/dia, seguindo os mesmo critérios de dose máxima tolerada. A intervenção foi mantida por mais 4 meses e ao final do 8<sup>o</sup> mês o paciente realizava a terceira e última coleta (3<sup>o</sup> coleta).

A Figura 2 mostra o esquema de coletas realizado. As coletas foram realizadas sempre pela manhã, após jejum de 12h. Além de sangue, eram obtidas a urina de 24 horas trazida pelo paciente (dia anterior) e uma amostra isolada de urina (jato médio), colhida no local após orientações de higiene.

**Figura 2.** Representação esquemática do plano do estudo.

Os exames de rotina do paciente foram realizados no Laboratório Central do Hospital das Clínicas da FMUSP, incluindo a dosagem de glicemia, Hb glicada, sódio, potássio, uréia, hemograma, eletroforese de proteínas, urina 1, colesterol total e frações, cálcio, fósforo, PTH e PCR. A todos os pacientes foram solicitados exames de fundo de olho, eletrocardiograma, ecodopplercardiograma transtorácico e ultrassonografia de vias urinárias.

As dosagens de creatinina, *clearance* de creatinina, proteinúria de 24 horas e proteinúria/creatinina em amostra isolada de urina foram realizadas pelo laboratório da Nefrologia, com os fluidos biológicos coletados conforme



o protocolo (Figura 2). A creatinina foi dosada com *kit* colorimétrico da Labtest e a proteinúria através de precipitação com ácido sulfossalicílico a 3%.

As dosagens urinárias do MCP-1, do TGF- $\beta$  e VEGF foram realizadas no Laboratório de Investigação Médica 16 da FMUSP. A urina de amostra isolada foi centrifugada (600 X *g*, por 5 minutos), identificada, aliquoteada e congelada em freezer a  $-20^{\circ}$  C. Acrescentamos à dosagem das citocinas urinárias, a dosagem das mesmas citocinas no soro apenas da 1<sup>o</sup> coleta. As dosagens foram feitas com método de ELISA (*enzyme-linked immunoassay*), empregando um *kit* disponível comercialmente (Quantikine®, Human MCP-1, TGF-beta, VEGF Immunoassay, R & D systems, USA). A reação enzimática foi detectada em um fotômetro automatizado para microplacas (Microplate Reader Model 550, BioRad). Todas as amostras de urina foram dosadas em duplicata. As dosagens de soro foram feitas sem duplicata. A concentração das amostras foi determinada através da construção de curva-padrão com concentrações conhecidas. As concentrações urinárias das citocinas foram normalizadas para a excreção urinária de creatinina e expressas como ng/g de creatinina urinária. A concentração no soro é expressa em pg/mL.

A dosagem de RBP urinária foi realizada pelo Laboratório de Análises Clínicas do Hospital do Rim e Hipertensão – UNIFESP, em colaboração com a Dra. Silvia Regina da Silva Moreira. O método utilizado foi o ensaio imunoenzimático com anticorpos monoclonais. A RBP urinária é expressa em mg/L, com valor de referência de até 4 mg/L [106].

O cálculo do tamanho de amostra foi projetado considerando um erro alfa de 0,05, um poder de 80% e uma estimativa de 30% de diferença entre os efeitos ao início e final do estudo, totalizando 100 pacientes.

### **3.2. Análise estatística**

Para a análise de efeito do tratamento sobre proteinúria, dois tipos de análises foram feitas. Inicialmente, seguindo o método de intenção de tratamento (ITT), no qual todos os pacientes com seguimento completo são incluídos nas análises (mesmo aqueles que não completaram o protocolo por surgimento de efeitos colaterais). A segunda análise leva em consideração apenas aqueles pacientes que toleraram e terminaram o protocolo proposto no estudo. Para a análise do efeito do tratamento sobre as citocinas urinárias também foram incluídos apenas aqueles pacientes que toleraram o protocolo.

As análises univariadas foram realizadas utilizando-se teste t para variáveis contínuas paramétricas, teste não-paramétrico de Mann-Whitney para variáveis contínuas não-gaussianas e teste de Qui-quadrado para as variáveis categóricas. Para as análises de tercis foi utilizado a técnica de ANOVA de um caminho. Os métodos de ANOVA e ANCOVA de medidas repetidas foram utilizados para avaliar diferenças entre os grupos de tratamento e o efeito do tempo. Modelos de regressão linear foram construídos utilizando-se a proteinúria final como variável dependente. Regressão logística foi realizada com a utilização de uma variável categórica

de piora ou melhora da proteinúria a partir da diferença entre os valores de proteinúria da terceira e a segunda coleta (pós e pré-intervenção do estudo). Similarmente, para as análises de efeito sobre as citocinas urinárias, os modelos de regressão logística foram criados utilizando-se como variável dicotômica dependente a piora ou melhora das concentrações de citocinas entre as segunda e terceira coletas.

Para todos os testes utilizamos o modelo bicaudal, estabelecendo o nível de significância em 5%. Utilizamos o software SPSS® for Windows versão 13.0. As análises estatísticas foram realizadas pelo investigador principal com manutenção do segredo do estudo (cego). O segredo foi revelado apenas após o término completo do estudo e análises.

### **3.3. Recursos financeiros**

As drogas em questão, enalapril, losartan e o placebo, foram adquiridas do Laboratório Biosintética através de doação e compra, tendo sido o custo coberto pela Nefrologia-HC.

O custo associado ao banco de fluidos biológicos, dosagem de citocinas urinárias e compra de equipamentos foi proveniente da FAPESP, através de projeto de Auxílio Pesquisa Individual (processo 04/15726-8), vigente entre 2005 a 2008.

## **4 . Resultados**

---

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Proteinúria

#### **4.1.1. Características clínicas dos pacientes recrutados**

Ao longo de 2 anos e 5 meses de recrutamento (maio-2005 a outubro-2007), 56 pacientes foram incluídos no estudo, sendo 28 em cada braço. As Tabelas 1 e 2 mostram as características clínicas e laboratoriais destes pacientes ao ingresso no estudo. Não há diferença estatisticamente significativa entre os grupos em relação às características clínicas dos pacientes recrutados. É interessante notar que o perfil do paciente incluído é o de um paciente portador de ND já em fase avançada (DRC classe III), com *clearance* médio ao redor de 40 ml/min/1,73m<sup>2</sup>, com proteinúria mediana ao redor de 2,0g/d/1,73m<sup>2</sup>. Nota-se também uma predominância de indivíduos da raça negra ou mulatos, com nível educacional baixo, taxa elevada de complicações micro e macrovasculares associadas, já dependentes de insulino-terapia e com obesidade (IMC médio de 29).

**Tabela 1.** Características clínicas dos 56 pacientes ao início do estudo.

|  | E (n=28)    | E + L (n=28) | p*   |
|--|-------------|--------------|------|
| <b>Idade (anos, média / dp)</b>                        | 58 (9,8)    | 58,1 (10,8)  | 0,96 |
| <b>Sexo (n / % de homens)</b>                          | 15 (53,6)   | 20 (71,4)    | 0,27 |
| <b>Nível educacional (n / % 1g incomp ou analfab.)</b> | 19 (70,4)   | 15 (55,6)    | 0,40 |
| <b>Raça (n / %)</b>                                    |             |              | 1,00 |
| caucasiana   | 12 (42,9)   | 11 (39,3)    |      |
| parda + negra  | 16 (57,1)   | 17 (60,7)    |      |
| <b>Etilismo (n / % de história prévia)</b>             | 6 (21,4)    | 6 (21,4)     | 1,00 |
| <b>Tabagismo atual ou prévio (n / %)</b>               | 15 (53,6)   | 13 (46,4)    | 0,82 |
| <b>Tempo de DM (anos, média / dp)</b>                  | 18,5 (7,1)  | 15,4 (8,7)   | 0,07 |
| <b>Tempo de HAS (anos, média / dp)</b>                 | 15,5 (12,5) | 11,4 (8,2)   | 0,33 |
| <b>Insulinoterapia atual (n / %)</b>                   | 20 (71,4)   | 16 (57,1)    | 0,40 |
| <b>Doença coronária prévia (n / %)</b>                 | 6 (21,4)    | 11 (39,3)    | 0,25 |
| <b>Insuficiência cardíaca (n / %)</b>                  | 9 (32,1)    | 8 (28,6)     | 1,00 |
| <b>AVC ou AIT (n / %)</b>                              | 3 (10,7)    | 4 (14,3)     | 1,00 |
| <b>Doença vascular periférica (n / %)</b>              | 7 (25)      | 11 (39,3)    | 0,39 |
| <b>Retinopatia diabética (n / %)</b>                   | 22 (78,6)   | 24 (85,7)    | 0,73 |
| <b>Neuropatia periférica (n / %)</b>                   | 16(57,1)    | 20 (71,4)    | 0,40 |

\*chi-quadrado ou Fisher para variáveis categóricas; Mann-Whitney para variáveis contínuas

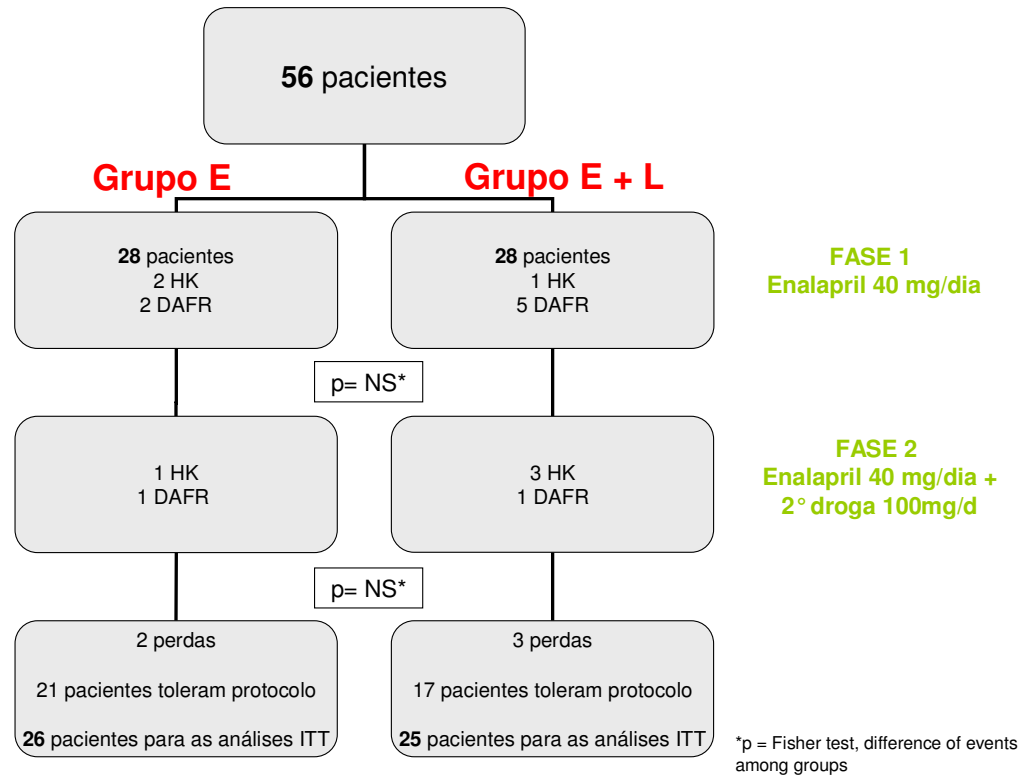
**Tabela 2.** Características laboratoriais dos 56 pacientes ao início do estudo.

|   | Grupo E (n=28)      | Grupo E+L (n=28)   | p*   |
|---|---------------------|--------------------|------|
| Creatinina (mg/dL; média / dp)  | 1,66 (0,61)         | 1,76 (0,64)        | 0,52 |
| Clearance de creatinina (Cockcroft, ml/min/1.73m <sup>2</sup> ; média / dp) | 36,1 (16,6)         | 36,6 (20,1)        | 0,87 |
| Clearance de creatinina 24h (ml/min/1.73m <sup>2</sup> ; média / dp)        | 42,8 (18,4)         | 42,2 (19,5)        | 0,73 |
| Proteinúria / creatinina (amostra isolada; mediana /IQ)                     | 2,78 (1,23 - 3,78)  | 3,04 (1,17 - 4,99) | 0,64 |
| Proteinúria de 24h (g/dia; mediana / IQ)                                    | 2,07 (1,07 - 3,89)  | 2,56 (1,40 - 4,42) | 0,26 |
| Proteinúria nefrótica (n / %)   | 7 (25)              | 11 (39)            | 0,39 |
| Albumina (mg/dL; média / dp)  | 3,44 (0,32)         | 3,24 (0,56)        | 0,30 |
| Hemoglobina glicada (%; média / dp)   | 8,5 (2,0)           | 8,2 (1,9)          | 0,70 |
| PAS (mmHg; média / dp)  | 149,2 (24,2)        | 148,1 (22,1)       | 0,88 |
| PAD (mmHg; média / dp)  | 78,6 (14,5)         | 82,3 (12,7)        | 0,39 |
| Número de drogas anti-hipertensivas (média / dp)                            | 2,7 (1,1)           | 2,4 (1,1)          | 0,22 |
| Dose de enalapril (mean / std)  | 38,6 (4,8)          | 38,0 (6,2)         | 0,74 |
| Dose da segunda droga (placebo ou losartan; mean / std)                     | 88,6 (21,4)         | 92,5 (18,3)        | 0,53 |
| IMC (média / dp)  | 29,3 (4,3)          | 29,3 (3,0)         | 0,77 |
| RCQ (média / dp)  | 0,97 (0,08)         | 0,99 (0,05)        | 0,77 |
| Colesterol total (mg/dL; média / dp)  | 187 (58)            | 192 (59)           | 0,92 |
| LDL-Colesterol (mg/dL; média / dp)  | 106 (51)            | 106 (54)           | 0,95 |
| HDL-Colesterol (mg/dL; média / dp)  | 49 (12)             | 51 (16)            | 0,93 |
| Triglicérides (mg/dL; mediana / IQ)   | 161 (99 - 257)      | 158 (103 - 283)    | 0,74 |
| Ácido úrico (mg/dL; média / dp)   | 7,2 (1,8)           | 6,6 (1,6)          | 0,34 |
| Potássio (mEq/L; média / dp)  | 4,5 (0,5)           | 4,7 (0,5)          | 0,38 |
| Cálcio total (mg/dL; média / dp)  | 9,4 (0,5)           | 9,3 (1,0)          | 0,95 |
| Fósforo (mg/dL; média / dp)   | 4,1 (0,7)           | 4,0 (0,8)          | 0,59 |
| Paratormônio (pg/mL; mediana / IQ)  | 53,5 (33,7 - 107,7) | 50,5 (26,2 - 68,2) | 0,41 |
| Hemoglobina (g/dL; média / dp)  | 12,6 (1,5)          | 13 (2,1)           | 0,47 |
| Hematócrito (%; média / dp)   | 38 (4,6)            | 39,5 (6,0)         | 0,49 |
| Ferro (µg/dL; média / dp)   | 76,9 (26,4)         | 82 (25,3)          | 0,27 |
| Ferritina (ng/mL; mediana / IQ)   | 142 (94 - 295)      | 163 (62 - 226)     | 0,43 |
| Proteína C reativa (m/dL; mediana / IQ)                                     | 2,6 (0,8 - 3,6)     | 2,8 (1,7 - 10,3)   | 0,44 |
| pH (média / dp)   | 7,34 (0,03)         | 7,33 (0,03)        | 0,18 |
| Bicarbonato (mmol/L; média / dp)  | 25,3 (2,9)          | 24,5 (3,2)         | 0,38 |

\*chi-quadrado ou Fisher para variáveis categóricas; Mann-Whitney para variáveis contínuas

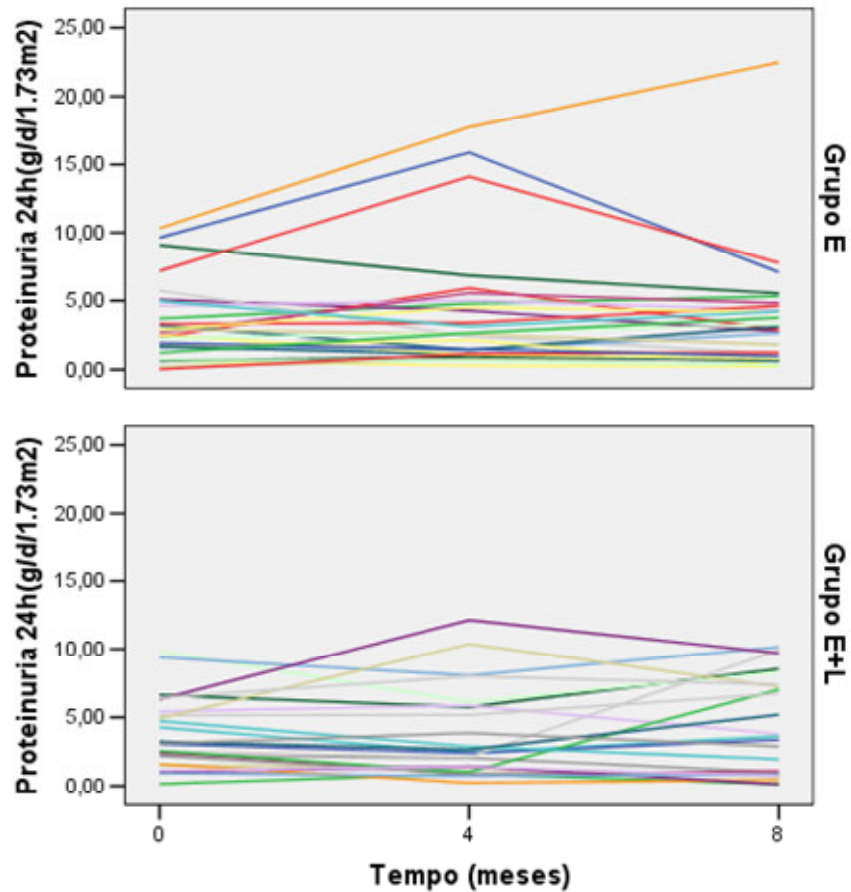
Ao longo dos oito meses do estudo, ocorreram 5 perdas, sendo 2 no Grupo E e 3 no Grupo E+L. Entre estes 5 pacientes, 3 haviam apresentado eventos de DAFR antes do abandono do estudo, 1 interrompeu o estudo por internação relacionada a complicação de vasculopatia periférica e o outro paciente abandonou o estudo sem causa aparente. Considerando todos os 56 pacientes que ingressaram no estudo, foram observados 7 eventos de HK e 9 eventos de DAFR, com tendência a uma incidência maior na primeira fase do estudo (enalapril apenas). Não houve diferença estatisticamente significativa entre o percentual de eventos nos grupo E e E+L, tanto na primeira, quanto na segunda fase do estudo, conforme demonstrado na Figura 4. Assim, para as análises de intenção de tratamento, 51 pacientes foram incluídos. Para as análises apenas dos pacientes que toleraram o tratamento, 38 pacientes foram incluídos.



**Figura 3.** Representação esquemática dos eventos clínicos no protocolo.

#### 4.1.2. Efeito do tratamento sobre a proteinúria: análise de intenção de tratamento

A análise de intenção de tratamento incluiu assim os dados de 51 pacientes (todos exceto as 5 perdas). A Figura 4 mostra as linhas de progressão da proteinúria destes 51 indivíduos.

**Figura 4.** Linhas de progressão da proteinúria nos 51 pacientes (ITT).

Este gráfico sugere não haver diferença aparente na evolução da proteinúria entre os dois grupos. O gráfico também revela que alguns pacientes com proteinúria nefrótica apresentam valores extremos, que poderiam influenciar as análises.

A Tabela 3 mostra os valores de proteinúria, *clearance* de creatinina, PAS, PAD, Hb glicada e IMC durante o protocolo (1º, 2º e 3º coletas) nos dois grupos de tratamento. Não há diferença significativa entre os grupos.

Nota-se também que a proteinúria ao longo do estudo não parece se modificar muito, com os pacientes encerrando o estudo com valor semelhante ao de ingresso. Este dado sugere que o grupo de pacientes recrutados neste estudo seja uma população com taxa importante de progressão de DRC, na qual o efeito de redução na proteinúria das drogas inibidoras do SRAA é menos evidente.

**Tabela 3.** Valores médios das principais variáveis ao longo do estudo nos dois grupos de tratamento.

|   |           | 1° coleta |           | 2° coleta |           | 3° coleta |           | p*   |
|---|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|------|
| <b>Creatinina (mg/dL; média / dp)</b>                                       | Grupo E   | 1,66      | 0,61      | 1,71      | 0,66      | 2,23      | 2,40      | 0,76 |
|   | Grupo E+L | 1,76      | 0,64      | 1,80      | 0,63      | 1,96      | 0,83      |      |
| <b>Clearance de creat. (Cockroft, ml/min/1.73m<sup>2</sup>; média / dp)</b> | Grupo E   | 53,2      | 22,8      | 51,4      | 17,9      | 51,3      | 24,7      | 0,77 |
|   | Grupo E+L | 52,6      | 24,3      | 51,8      | 24,6      | 49,5      | 25,6      |      |
| <b>Proteinúria de 24h (g/dia; mediana / IIQ)</b>                            | Grupo E   | 2,6       | 1,3 - 4,9 | 2,6       | 1,1 - 5,0 | 2,9       | 0,8 - 4,6 | 0,23 |
|   | Grupo E+L | 3,2       | 1,7 - 5,5 | 2,4       | 1,1 - 5,8 | 3,5       | 0,9 - 7,4 |      |
| <b>PAS (mmHg; média / dp)</b>   | Grupo E   | 149,2     | 24,2      | 147,5     | 24,2      | 151,4     | 21,5      | 0,98 |
|   | Grupo E+L | 148,1     | 22,1      | 144,2     | 24,1      | 146,7     | 20,5      |      |
| <b>PAD (mmHg; média / dp)</b>   | Grupo E   | 78,6      | 14,5      | 81,7      | 14,5      | 81,8      | 10,8      | 0,47 |
|   | Grupo E+L | 82,8      | 12,7      | 81,3      | 11,8      | 81,7      | 15,3      |      |
| <b>Hemoglobina glicada (%; média / dp)</b>                                  | Grupo E   | 8,5       | 2,0       | 8,2       | 1,6       | 8,5       | 1,9       | 0,50 |
|   | Grupo E+L | 8,2       | 1,9       | 8,6       | 1,8       | 8,5       | 2,0       |      |
| <b>IMC (média / dp)</b>   | Grupo E   | 23,8      | 3,7       | 24,1      | 4,1       | 24,3      | 4,3       | 0,50 |
|   | Grupo E+L | 24,4      | 3,0       | 24,7      | 2,8       | 24,9      | 2,9       |      |

p\* = ANOVA de medidas repetidas; termo de interação tratamento\*tempo

Como a pressão arterial é a principal variável de confusão em relação ao efeito do tratamento sobre proteinúria, a Tabela 4 mostra a freqüência do uso de diversas classes de drogas anti-hipertensivas nos dois grupos. Observa-se que ao início do estudo não há diferença significativa na prescrição entre os grupos. Ao longo do estudo, surge uma tendência a uma freqüência maior de uso de diurético tiazídico no Grupo E e freqüência maior de uso de diurético de alça no Grupo E+L. Vale notar que o médico-atendente realizou o atendimento de forma cega, usando livre-arbítrio na decisão sobre escolha de diuréticos e anti-hipertensivos. Assim, esta variação reflete possivelmente a necessidade de diuréticos mais potentes no Grupo E+L, que apresenta uma tendência não-significativa a valores mais elevados de proteinúria.

**Tabela 4.** Frequência do uso de drogas anti-hipertensivas nos dois grupos ao longo do estudo.

|                               | Group E |      | Group E+L |      | p*    |
|-------------------------------|---------|------|-----------|------|-------|
|                               | n       | %    | n         | %    |       |
| <i>Início</i>                 |         |      |           |      |       |
| Beta-bloqueador               | 18      | 64,3 | 20        | 71,4 | 0,78  |
| Bloqueador de canal de cálcio | 18      | 64,3 | 17        | 60,7 | 1,00  |
| Atensina                      | 3       | 10,7 | 3         | 10,7 | 1,00  |
| Alfa-metildopa                | 1       | 3,6  | 0         | 0    | 1,00  |
| Diurético tiazídico           | 18      | 64,3 | 14        | 50,0 | 0,41  |
| Diurético de alça             | 14      | 50,0 | 10        | 35,7 | 0,41  |
| Hidralazina                   | 4       | 14,3 | 1         | 3,6  | 0,35  |
| <i>Final fase 1</i>           |         |      |           |      |       |
| Beta-bloqueador               | 16      | 59,3 | 17        | 70,8 | 0,56  |
| Bloqueador de canal de cálcio | 15      | 55,6 | 14        | 58,3 | 1,00  |
| Atensina                      | 5       | 18,5 | 5         | 20,8 | 1,00  |
| Alfa-metildopa                | 3       | 11,1 | 0         | 0    | 0,24  |
| Diurético tiazídico           | 17      | 63,0 | 7         | 29,2 | 0,03  |
| Diurético de alça             | 10      | 37,0 | 13        | 54,2 | 0,26  |
| Hidralazina                   | 5       | 18,5 | 3         | 12,5 | 0,71  |
| <i>Final fase 2</i>           |         |      |           |      |       |
| Beta-bloqueador               | 17      | 63,0 | 15        | 62,5 | 1,0   |
| Bloqueador de canal de cálcio | 15      | 55,6 | 13        | 54,2 | 1,0   |
| Atensina                      | 9       | 33,3 | 4         | 16,7 | 0,21  |
| Alfa-metildopa                | 3       | 11,1 | 1         | 4,2  | 0,61  |
| Diurético tiazídico           | 17      | 63,0 | 5         | 20,8 | 0,004 |
| Diurético de alça             | 11      | 40,7 | 14        | 58,3 | 0,27  |
| Hidralazina                   | 5       | 18,5 | 2         | 8,3  | 0,43  |

\*p = qui-quadrado

A análise de ANCOVA de medidas repetidas incluindo os 3 tempos do estudo ajustada para idade, *clearance* de creatinina, frequência de proteinúria em valor nefrótico, PAS, PAD ao início do estudo revelou um termo de interação tratamento\*tempo com p valor de 0,06.

A seguir, usamos modelos de regressão linear, avaliando o efeito do tratamento sobre a proteinúria final do estudo. A Tabela 5 mostra primeiramente o modelo não-ajustado considerando efeito do tratamento sobre a proteinúria final. Não há diferença significativa entre os grupos, apesar de haver uma tendência a um valor de proteinúria final maior no Grupo E+L. Nos modelos multivariados, procuramos ajustar para possíveis variáveis de confusão na relação entre proteinúria e tratamento. Surpreendentemente, o modelo multivariado revelou que o Grupo E+L apresentava proteinúria final estimada significativamente maior do que o Grupo E (proteinúria final estimada de 1,2 g/d/1,73m<sup>2</sup> no Grupo E e de 2,61 g/d/1,73m<sup>2</sup> no Grupo E+L, p=0,03).

**Tabela 5.** Modelos de regressão linear do efeito do tratamento sobre proteinúria final na análise de intenção de tratamento.

|  | beta  | se   | 95% IC |       | p       |
|--|-------|------|--------|-------|---------|
| <b>Constante</b>                               | 3,00  | 1,74 | -0,49  | 6,49  | 0,09    |
| <b>Grupo (E=0; E+L=1)</b>                      | 0,62  | 1,12 | -1,62  | 2,87  | 0,58    |
| <b>Constante</b>                               | 0,30  | 4,23 | -8,22  | 8,81  | 0,94    |
| <b>Grupo (E=0; E+L=1)</b>                      | 1,25  | 0,61 | 0,02   | 2,49  | 0,05    |
| <b>Idade</b>                                   | -0,10 | 0,04 | -0,17  | -0,03 | 0,01    |
| <b>Proteinúria (2° coleta)</b>                 | 0,71  | 0,08 | 0,55   | 0,87  | <0,0001 |
| <b>Clear. creatinina (Cockroft, 2° coleta)</b> | -0,02 | 0,02 | -0,06  | 0,01  | 0,19    |
| <b>PAS (3° coleta)</b>                         | 0,04  | 0,02 | 0,01   | 0,07  | 0,02    |
| <b>Hb glicada (2° coleta)</b>                  | 0,03  | 0,20 | -0,38  | 0,43  | 0,89    |
| <b>Constante</b>                               | 4,07  | 5,23 | -6,49  | 14,63 | 0,44    |
| <b>Grupo (E=0; E+L=1)</b>                      | 1,41  | 0,62 | 0,15   | 2,66  | 0,03    |
| <b>Idade</b>                                   | -0,11 | 0,04 | -0,18  | -0,03 | 0,01    |
| <b>Proteinúria (2° coleta)</b>                 | 0,71  | 0,08 | 0,55   | 0,88  | <0,0001 |
| <b>Clear. creatinina (Cockroft, 2° coleta)</b> | -0,03 | 0,02 | -0,07  | 0,01  | 0,10    |
| <b>PAS (3° coleta)</b>                         | 0,03  | 0,02 | 0,00   | 0,07  | 0,04    |
| <b>Hb glicada (2° coleta)</b>                  | 0,09  | 0,21 | -0,33  | 0,52  | 0,66    |
| <b>K (2° coleta)</b>                           | -0,63 | 0,55 | -1,74  | 0,47  | 0,25    |

51 pacientes nos modelos 1 e 2; 50 no modelo 3 devido a dado faltante

Repetimos as análises utilizando agora os modelos de regressão logística. Relembrando, a variável dependente foi tratada aqui como redução ou elevação da proteinúria no período da intervenção do ensaio (entre as 2° e 3° coletas). A Tabela 6 mostra os modelos: o modelo não-ajustado mostra não haver diferença estatisticamente significativa entre os grupos de tratamento, apesar de haver uma tendência a uma razão de risco maior no Grupo E+L. Similarmente ao observado no modelo de regressão linear, o modelo ajustado revelou que o Grupo E+L estava associado a um risco



significativamente maior de elevação da proteinúria em comparação ao Grupo E (OR 4,46; IC 1,09 – 18,3,  $p = 0,04$ ).

**Tabela 6.** Modelos de regressão logística sobre evolução da proteinúria na análise de intenção de tratamento.

|  | OR   | 95% IC |       | p    |
|--|------|--------|-------|------|
| <b>Grupo (E+L vs. L)</b>                       | 2,36 | 0,76   | 7,34  | 0,14 |
| <b>Grupo (E+L vs. L)</b>                       | 3,24 | 0,89   | 11,80 | 0,08 |
| <b>Idade</b>                                   | 0,90 | 0,83   | 0,98  | 0,01 |
| <b>Proteinúria (2° coleta)</b>                 | 0,89 | 0,74   | 1,08  | 0,25 |
| <b>Clear. creatinina (Cockroft, 2° coleta)</b> | 0,98 | 0,94   | 1,01  | 0,24 |
| <b>PAS (3° coleta)</b>                         | 1,02 | 0,98   | 1,05  | 0,36 |
| <b>Hb glicada (2° coleta)</b>                  | 0,75 | 0,48   | 1,15  | 0,19 |
| <b>Grupo (E+L vs. L)</b>                       | 4,46 | 1,09   | 18,33 | 0,04 |
| <b>Idade</b>                                   | 0,88 | 0,80   | 0,97  | 0,01 |
| <b>Proteinúria (2° coleta)</b>                 | 0,90 | 0,75   | 1,09  | 0,29 |
| <b>Clear. creatinina (Cockroft, 2° coleta)</b> | 0,97 | 0,93   | 1,01  | 0,11 |
| <b>PAS (3° coleta)</b>                         | 1,01 | 0,98   | 1,04  | 0,56 |
| <b>Hb glicada (2° coleta)</b>                  | 0,82 | 0,52   | 1,30  | 0,40 |
| <b>K (2° coleta)</b>                           | 0,55 | 0,16   | 1,84  | 0,33 |

51 pacientes nos modelos 1 e 2, 50 pacientes no modelo 3 devido a dado faltante

Vale notar que estas análises foram repetidas utilizando-se como ajuste a medida média de PAS da 2° coleta, com o mesmo perfil de resultados. Também repetimos as análises excluindo os pacientes com

valores muito extremos de proteinúria, que poderiam estar distorcendo o modelo. Novamente, o mesmo perfil de resultados foi obtido.

#### ***4.1.3. Efeito do tratamento sobre a proteinúria: análise nos pacientes que toleraram e concluíram o protocolo***

A seguir, repetimos as análises utilizando os dados somente daqueles 38 pacientes que toleraram o protocolo proposto (não apresentaram efeito colateral) e completaram o estudo. Ao início da segunda fase do estudo, o grupo E era constituído por 23 pacientes, enquanto o grupo E+L compreendia 21 pacientes. A Tabela 7 mostra as principais características dos 44 pacientes nesta fase. Novamente, não há diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Nota-se, entretanto, uma tendência a um valor de proteinúria média um pouco mais elevado no grupo E, possivelmente em função de ter ocorrido um número maior de eventos na primeira fase do estudo no grupo E+L (saída de pacientes com proteinúria mediana mais elevada).

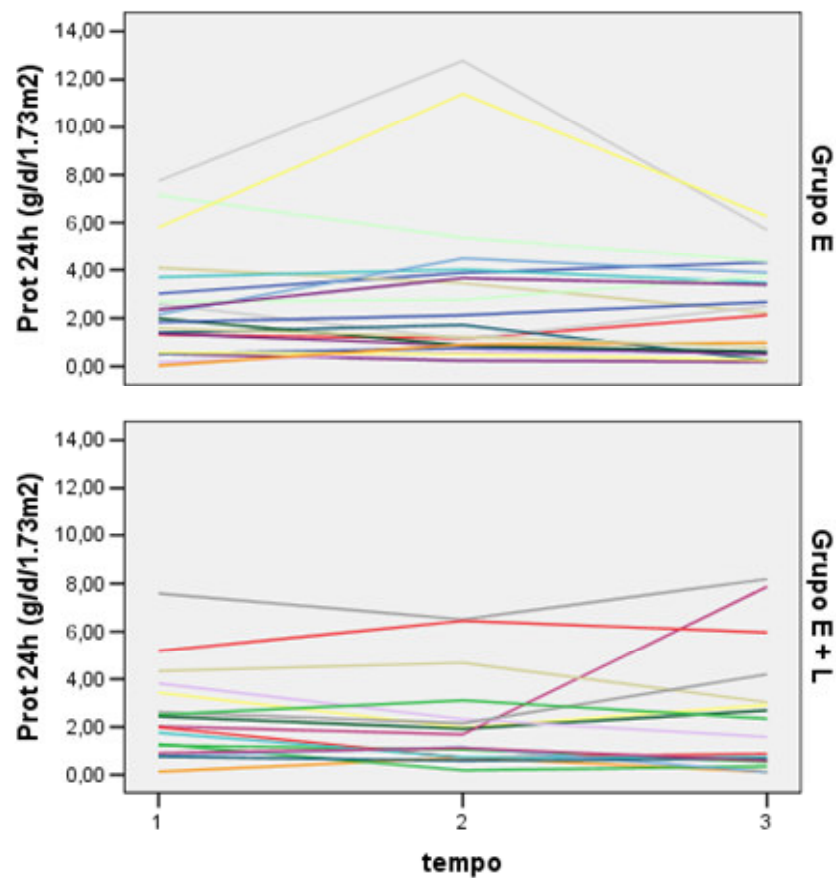
**Tabela 7.** Características clínicas e laboratoriais ao início da 2.º fase (44 pacientes que não apresentaram efeito colateral ou abandonaram o estudo na 1.º fase).

|   | Grupo E (n=23)  | Grupo E+L (n=21) | p*   |
|---|-----------------|------------------|------|
| Creatinina (mg/dL; média / dp)  | 1,59 (0,60)     | 1,71 (0,63)      | 0,43 |
| Clearance de creatinina (Cockcroft-Gault, ml/min/1.73m <sup>2</sup> ; média / dp) | 43,6 (13,7)     | 43,7 (20,2)      | 0,49 |
| Clearance de creatinina 24h (ml/min/1.73m <sup>2</sup> ; média / dp)              | 40,4 (15,5)     | 37,7 (19,3)      | 0,40 |
| Proteinúria de 24h (g/dia; mediana / IIQ)   | 2,1 (0,9 - 4,0) | 1,7 (0,8 - 3,8)  | 0,56 |
| Albumina (mg/dL; média / dp)  | 3,32 (0,32)     | 3,39 (0,4)       | 0,27 |
| Hemoglobina glicada (%; média / dp)   | 8,3 (1,7)       | 8,3 (1,7)        | 0,99 |
| PAS (mmHg; média / dp)  | 145,4 (22,9)    | 140,6 (22,6)     | 0,82 |
| PAD (mmHg; média / dp)  | 82,5 (14,1)     | 79,8 (11,1)      | 0,49 |
| Potássio (mEq/L; média / dp)  | 4,65 (0,72)     | 4,77 (0,41)      | 0,49 |

\*chi-quadrado ou Fisher para variáveis categóricas; Mann-Whitney para variáveis contínuas

Na segunda fase do estudo, ocorreram 6 eventos de HK e AC em 5 pacientes (um dos pacientes apresentou simultaneamente HK e AC), novamente sem diferença estatística entre os dois braços do estudo. Desta forma, completaram o estudo 21 pacientes no grupo E e 17 pacientes no grupo E+L. A Figura 5 mostra as linhas de progressão individual dos valores de proteinúria dos 38 pacientes ao longo do estudo.

Figura 5. Linhas de progressão de proteinúria entre os 38 pacientes que completaram o estudo.



Graficamente, não há diferença aparente na evolução da proteinúria nos dois grupos de tratamento. A Tabela 8 mostra os modelos de regressão linear de efeito do tratamento sobre a proteinúria final. De forma análoga aos resultados das análises de intenção de tratamento, o modelo não-ajustado não mostra diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos, mas o modelo ajustado mostra que a proteinúria final estimada do Grupo E+L é significativamente maior do que a proteinúria final estimada do Grupo E ( $p = 0,04$ ).

**Tabela 8.** Modelos de regressão linear do efeito do tratamento sobre a proteinúria final nos 38 pacientes que completaram o estudo.

|   | beta  | se   | 95% IC |       | p       |
|---|-------|------|--------|-------|---------|
| Constante                               | 2,35  | 0,49 | 1,36   | 3,35  | <0,0001 |
| Grupo (E=0; E+L=1)                      | 0,16  | 0,73 | -1,32  | 1,65  | 0,83    |
| Constante                               | 0,20  | 3,43 | -6,80  | 7,20  | 0,95    |
| Grupo (E=0; E+L=1)                      | 0,84  | 0,48 | -0,13  | 1,82  | 0,09    |
| Idade                                   | -0,06 | 0,03 | -0,12  | 0,00  | 0,06    |
| Proteinúria 24h (2° coleta)             | 0,54  | 0,09 | 0,36   | 0,72  | 0,00    |
| Clear. creatinina (Cockroft, 2° coleta) | -0,01 | 0,02 | -0,05  | 0,02  | 0,44    |
| PAS (3° coleta)                         | 0,02  | 0,01 | -0,01  | 0,05  | 0,24    |
| Hb glicada (2° coleta)                  | 0,12  | 0,16 | -0,20  | 0,44  | 0,45    |
| Constante                               | 7,91  | 5,01 | -2,37  | 18,19 | 0,13    |
| Grupo (E=0; E+L=1)                      | 1,05  | 0,49 | 0,05   | 2,05  | 0,04    |
| Idade                                   | -0,04 | 0,03 | -0,11  | 0,03  | 0,23    |
| Proteinúria 24h (2° coleta)             | 0,46  | 0,09 | 0,27   | 0,65  | <0,0001 |
| Clear. creatinina (Cockroft, 2° coleta) | -0,02 | 0,02 | -0,06  | 0,02  | 0,41    |
| PAS (3° coleta)                         | 0,02  | 0,01 | -0,01  | 0,05  | 0,30    |
| Hb glicada (2° coleta)                  | 0,17  | 0,17 | -0,17  | 0,51  | 0,32    |
| Albumina (2° coleta)                    | -1,91 | 0,97 | -3,90  | 0,08  | 0,06    |
| K (2° coleta)                           | -0,50 | 0,45 | -1,44  | 0,43  | 0,28    |

38 pacientes nos modelos 1 e 2; 36 no modelo 3 devido a dados faltantes

Os modelos de regressão logística confirmam a mesma tendência: o modelo univariado de efeito de tratamento sobre evolução de proteinúria não revela diferença estatisticamente significativa entre os grupos, mas o modelo multivariado mostra que o Grupo E+L está associado a um risco significativamente maior de piora da proteinúria no período de intervenção.

**Tabela 9.** Modelos de regressão logística sobre evolução da proteinúria nos 38 pacientes que completaram o estudo.

|  | OR   | 95% IC       | p    |
|--|------|--------------|------|
| <b>Grupo (E+L vs. L)</b>                       | 2,81 | 0,73 - 10,77 | 0,13 |
| <b>Grupo (E+L vs. L)</b>                       | 3,80 | 0,79 - 18,36 | 0,10 |
| <b>Idade</b>                                   | 0,90 | 0,81 - 1,00  | 0,05 |
| <b>Proteinúria 24h (2° coleta)</b>             | 0,70 | 0,43 - 1,14  | 0,16 |
| <b>Clear. creatinina (Cockroft, 2° coleta)</b> | 0,97 | 0,92 - 1,03  | 0,37 |
| <b>PAS (3° coleta)</b>                         | 1,01 | 0,96 - 1,06  | 0,70 |
| <b>Hb glicada (2° coleta)</b>                  | 0,78 | 0,46 - 1,34  | 0,37 |
| <b>Grupo (E+L vs. L)</b>                       | 9,00 | 1,25 - 64,96 | 0,03 |
| <b>Idade</b>                                   | 0,87 | 0,75 - 1,00  | 0,05 |
| <b>Proteinúria 24h (2° coleta)</b>             | 0,58 | 0,27 - 1,23  | 0,16 |
| <b>Clear. creatinina (Cockroft, 2° coleta)</b> | 0,95 | 0,89 - 1,03  | 0,20 |
| <b>PAS (3° coleta)</b>                         | 1,02 | 0,97 - 1,07  | 0,52 |
| <b>Hb glicada (2° coleta)</b>                  | 0,88 | 0,45 - 1,70  | 0,70 |
| <b>Albumina (2° coleta)</b>                    | 0,30 | 0,01 - 13,17 | 0,53 |
| <b>K (2° coleta)</b>                           | 1,23 | 0,22 - 6,77  | 0,81 |

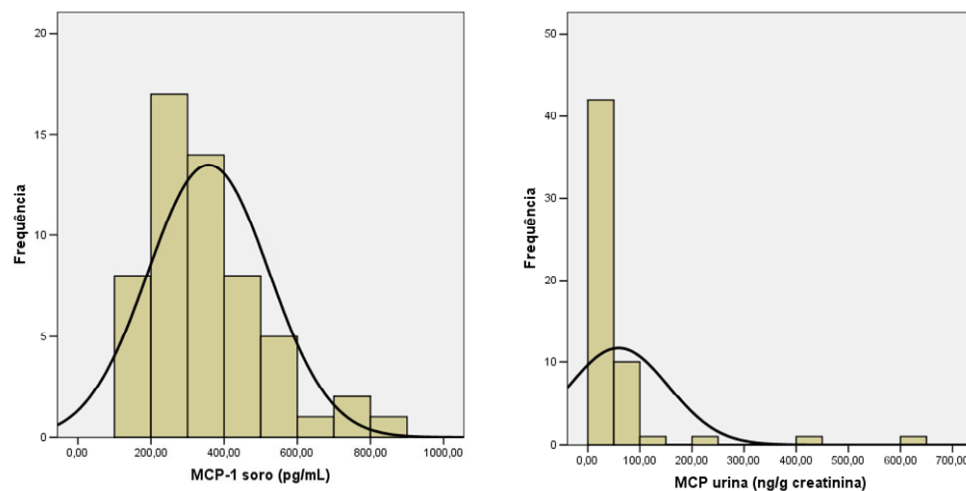
38 pacientes nos modelos 1 e 2; 36 no modelo 3 devido a dados faltantes

## 4.2. Efeito sobre MCP-1

As dosagens de MCP-1 foram realizadas no tempo zero nos 56 pacientes (soro e urina) e na urina das 2<sup>o</sup> e 3<sup>o</sup> coletas daqueles 38 pacientes que completaram o estudo.

A Figura 6 mostra que a concentração sérica de MCP-1 apresenta comportamento normal, enquanto a citocina urinária apresenta uma distribuição não-simétrica (não-gaussiana).

**Figura 6.** Histogramas de MCP-1 no soro e na urina dos 56 pacientes ao início do estudo.



Para as análises seguintes, ambas variáveis foram tratadas através de transformação logarítmica. As concentrações sérica e urinária do  $\log_{10}$  de MCP-1 correlacionam-se de forma significativa, com um coeficiente de 0,38 (Tabela 10). Interessantemente, ambas estão positivamente relacionadas ao grau de proteinúria inicial do paciente, mas nenhuma das duas apresenta correlação estatisticamente significativa com o *clearance* de creatinina inicial. A Figura 7 mostra os gráficos de pontos destas correlações, bem como a reta de regressão linear.

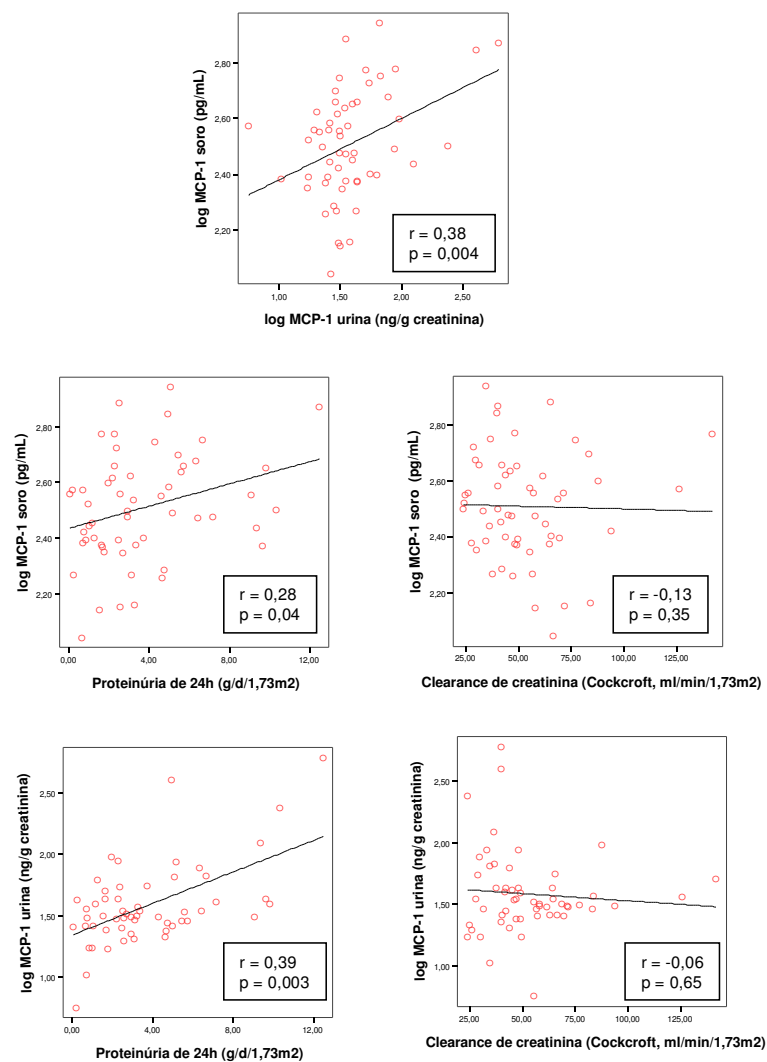
**Tabela 10.** Coeficientes de correlação do MCP-1 na urina e soro ao início do estudo (56 pacientes).

|                      | Log MCP urina |       | Proteinúria 24h |       | Clearance creat (Cockcroft) |      |
|----------------------|---------------|-------|-----------------|-------|-----------------------------|------|
|                      | Coeficiente   | p*    | Coeficiente     | p*    | Coeficiente                 | p*   |
| <b>Log MCP urina</b> | -             |       | 0,39            | 0,003 | -0,06                       | 0,65 |
| <b>Log MCP soro</b>  | 0,38          | 0,004 | 0,28            | 0,04  | -0,13                       | 0,35 |

p = correlação de Spearman



**Figura 7.** Gráficos de regressão linear entre MCP-1 na urina, MCP-1 no soro, proteinúria e *clearance* de creatinina.



Para avaliar a relação entre a dosagem de MCP-1 na urina e no soro e as diversas variáveis clínicas e laboratoriais, estratificamos os valores destas variáveis de acordo com os tercís de MCP-1 na urina e no soro. A Tabela 11

mostra estes resultados em relação à dosagem urinária e a Tabela 12 em relação à dosagem no soro. Nota-se que o MCP-1 urinário associa-se à idade, creatinina, albumina (inversamente) e proteinúria. O MCP-1 no soro relaciona-se mais fracamente a estas variáveis, mantendo alguma relação com a creatinina sérica e com a pressão arterial. Interessantemente, relaciona-se de forma significativa com a proteinúria de 24h.

**Tabela 11.** Características clínicas e laboratoriais dos 56 pacientes ao início do estudo de acordo com os tercís de MCP-1 na urina.

|   | 1° tercíl log MCP-1 urina |              | 2° tercíl log MCP-1 urina |              | 3° tercíl log MCP-1 urina |              | p*    |
|---|---------------------------|--------------|---------------------------|--------------|---------------------------|--------------|-------|
|   | Média/Mediana             | DP / P25-P75 | Média/Mediana             | DP / P25-P75 | Média/Mediana             | DP / P25-P75 |       |
| Idade (anos)  | 62,5                      | 9,0          | 54,7                      | 9,8          | 56,8                      | 10,7         | 0,05  |
| Sódio (mEq/L)   | 140,5                     | 2,4          | 139,4                     | 2,5          | 139,5                     | 2,7          | 0,37  |
| Potássio (mEq/L)  | 4,6                       | 0,5          | 4,5                       | 0,5          | 4,7                       | 0,5          | 0,24  |
| Uréia (mg/dL)   | 71,2                      | 20,6         | 44,1                      | 13,1         | 67,7                      | 28,6         | 0,001 |
| Creatinina (mg/dL)                                      | 1,7                       | 0,5          | 1,3                       | 0,4          | 1,7                       | 0,6          | 0,09  |
| Hemoglobina glicada (%)                                 | 8,5                       | 1,8          | 8,5                       | 1,9          | 8,1                       | 2,2          | 0,77  |
| Albumina (EFP, mg/dL)                                   | 3,6                       | 0,2          | 3,3                       | 0,5          | 3,1                       | 0,5          | 0,002 |
| PCR   | 2,2                       | 0,7 - 4,8    | 3,2                       | 2,8 - 10,4   | 1,6                       | 0,9 - 3,8    | 0,55  |
| Hemoglobina   | 12,6                      | 1,5          | 13,3                      | 2,3          | 12,6                      | 1,8          | 0,42  |
| Hematócrito (%)   | 38,0                      | 4,2          | 40,4                      | 6,1          | 38,1                      | 5,6          | 0,33  |
| PAS (mmHg)  | 147,8                     | 22,7         | 146,1                     | 21,1         | 151,8                     | 25,7         | 0,75  |
| PAD (mmHg)  | 76,7                      | 13,8         | 81,3                      | 12,6         | 84,0                      | 14,2         | 0,26  |
| Proteinúria 24h (g/d)                                   | 2,5                       | 0,8 - 4,6    | 3,0                       | 2,0 - 4,6    | 4,9                       | 1,9 - 7,2    | 0,04  |
| Clearance creat (Cockcroft, ml/min/1,73m <sup>2</sup> ) | 43,8                      | 31 - 57      | 59,8                      | 49 - 73      | 40,0                      | 34 - 48      | 0,04  |

EFP, eletroforese de proteínas; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; DP, desvio-padrão; P25, percentil 25; P75, percentil 75

\* p = one-way ANOVA

**Tabela 12.** Características clínicas e laboratoriais dos 56 pacientes ao início do estudo de acordo com os tercís de MCP-1 no soro.

|   | 1° tercíl log MCP-1 soro |              | 2° tercíl log MCP-1 soro |              | 3° tercíl log MCP-1 soro |              | p*   |
|---|--------------------------|--------------|--------------------------|--------------|--------------------------|--------------|------|
|   | Média/Mediana            | DP / P25-P75 | Média/Mediana            | DP / P25-P75 | Média/Mediana            | DP / P25-P75 |      |
| Idade (anos)  | 60,4                     | 10,5         | 56,7                     | 9,6          | 57,2                     | 10,7         | 0,51 |
| Sódio (mEq/L)   | 140,2                    | 2,5          | 139,6                    | 3,2          | 139,6                    | 2,0          | 0,70 |
| Potássio (mEq/L)  | 4,5                      | 0,5          | 4,5                      | 0,6          | 4,7                      | 0,4          | 0,40 |
| Uréia (mg/dL)   | 55,6                     | 20,6         | 59,5                     | 21,9         | 68,5                     | 29,7         | 0,26 |
| Creatinina (mg/dL)                                      | 1,3                      | 0,4          | 1,7                      | 0,5          | 1,7                      | 0,6          | 0,06 |
| Hemoglobina glicada (%)                                 | 8,5                      | 2,0          | 8,6                      | 2,1          | 7,9                      | 1,8          | 0,55 |
| Albumina (EFP, mg/dL)                                   | 3,5                      | 0,3          | 3,3                      | 0,5          | 3,2                      | 0,5          | 0,16 |
| PCR   | 3,6                      | 1,01 - 12,2  | 2,5                      | 1,48 - 3,44  | 3,6                      | 4,0          | 0,31 |
| Hemoglobina   | 12,3                     | 1,2          | 13,0                     | 1,6          | 13,1                     | 2,5          | 0,35 |
| Hematócrito (%)   | 37,2                     | 3,2          | 39,8                     | 4,5          | 39,2                     | 7,3          | 0,33 |
| PAS (mmHg)  | 140,8                    | 19,4         | 147,2                    | 24,8         | 157,5                    | 22,2         | 0,08 |
| PAD (mmHg)  | 75,2                     | 11,6         | 81,5                     | 13,3         | 84,9                     | 14,7         | 0,09 |
| Proteinúria 24h (g/d)                                   | 2,1                      | 1,1 - 3,3    | 2,9                      | 0,9 - 6,4    | 4,9                      | 2,3 - 5,7    | 0,08 |
| Clearance creat (Cockcroft, ml/min/1,73m <sup>2</sup> ) | 49,4                     | 41 - 65      | 46,9                     | 33 - 65      | 43,8                     | 37 - 65      | 0,96 |

EFP, eletroforese de proteínas; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; DP, desvio-padrão; P25, percentil 25; P75, percentil 75

\* p = one-way ANOVA

Em relação ao comportamento do MCP-1 na urina e soro dos pacientes de acordo com os grupos de tratamento do protocolo, a Tabela 13 mostra os valores médios em cada tempo, sugerindo não haver diferença entre os grupos ao longo do estudo.

**Tabela 13.** Comportamento do MCP-1 na urina e no soro dos pacientes de acordo com os grupos de tratamento.

|                             | Grupo E |               |    | Grupo E+L |               |    | p    |
|-----------------------------|---------|---------------|----|-----------|---------------|----|------|
|                             | Média   | Desvio-padrão | N  | Média     | Desvio-padrão | N  |      |
| log MCP-1 urina - 1° coleta | 1,58    | 0,26          | 28 | 1,59      | 0,40          | 28 | 0,84 |
| log MCP-1 urina - 2° coleta | 1,62    | 0,32          | 23 | 1,48      | 0,23          | 21 | 0,12 |
| log MCP-1 urina - 3° coleta | 1,51    | 0,26          | 21 | 1,51      | 0,38          | 17 | 0,99 |
| log MCP-1 soro - 1° coleta  | 2,49    | 0,19          | 28 | 2,53      | 0,20          | 28 | 0,44 |

A seguir, realizamos análises de regressão logística, usando como variável dependente a evolução do MCP-1 na urina entre os 38 pacientes que completaram o estudo. A Tabela 14 mostra os resultados destes modelos: no modelo univariado, não há diferença entre os grupos referente à evolução do MCP-1 na urina. Nos modelos multivariados, confirma-se uma tendência (modelo 2) ou até uma diferença estatisticamente significativa (modelo 3) de um risco maior para o Grupo E+L de piora de MCP-1 no período de intervenção.

**Tabela 14.** Modelos de regressão logística sobre a evolução do MCP-1 urinário entre os 38 pacientes que completaram o estudo.

|  | OR    | 95% IC |        | p     |
|--|-------|--------|--------|-------|
| <b>Grupo (E+L vs. L)</b>                       | 2,22  | 0,58   | 8,51   | 0,24  |
| <b>Grupo (E+L vs. L)</b>                       | 2,34  | 0,57   | 9,56   | 0,24  |
| <b>Idade</b>                                   | 1,03  | 0,95   | 1,12   | 0,41  |
| <b>Proteinúria (2° coleta)</b>                 | 1,03  | 0,82   | 1,28   | 0,82  |
| <b>Clear. creatinina (Cockroft, 2° coleta)</b> | 0,99  | 0,95   | 1,03   | 0,56  |
| <b>Grupo (E+L vs. L)</b>                       | 11,04 | 1,03   | 118,86 | 0,05  |
| <b>Idade</b>                                   | 0,96  | 0,85   | 1,09   | 0,54  |
| <b>Proteinúria (2° coleta)</b>                 | 0,91  | 0,65   | 1,26   | 0,56  |
| <b>Clear. creatinina (Cockroft, 2° coleta)</b> | 0,89  | 0,80   | 0,98   | 0,02  |
| <b>PAS (3° coleta)</b>                         | 0,93  | 0,86   | 1,00   | 0,05  |
| <b>Hb glicada (2° coleta)</b>                  | 1,38  | 0,69   | 2,76   | 0,36  |
| <b>K (2° coleta)</b>                           | 0,01  | 0,00   | 0,27   | 0,005 |

38 pacientes nos modelos 1 e 2; 37 pacientes no modelo 3 por dado faltante

A seguir, consideramos interessante explorar a relação entre a variação na excreção urinária de MCP-1 e a variação na proteinúria no período de intervenção do protocolo (fase 2), no sentido de compreender se as variações na excreção urinária de MCP-1 estão refletindo apenas as variações sobre a própria proteinúria, ou se refletem mudanças independentemente da oscilação da proteinúria. A Tabela 15 mostra os modelos de regressão sobre a evolução do MCP-1 urinário de acordo com o grupo de tratamento, sem e com ajuste para a evolução da própria

proteinúria. Interessantemente, notamos que a relação entre efeito do tratamento e evolução de MCP-1 permanece, mesmo após o ajuste.

**Tabela 15.** Modelos de regressão logística sobre a evolução do MCP-1 urinário de acordo com os grupos de tratamento.

|   | OR    | 95% IC      | p     |
|---|-------|-------------|-------|
| <b>Grupo (E+L vs. L)</b>                          | 11,17 | 1,08 115,82 | 0,04  |
| <b>Idade</b>                                      | 0,97  | 0,86 1,10   | 0,66  |
| <b>Clear. creatinina (Cockroft, 2° coleta)</b>    | 0,90  | 0,82 0,98   | 0,02  |
| <b>PAS (3° coleta)</b>                            | 0,93  | 0,87 1,00   | 0,05  |
| <b>Hb glicada (2° coleta)</b>                     | 1,38  | 0,68 2,78   | 0,37  |
| <b>K (2° coleta)</b>                              | 0,02  | 0,00 0,27   | 0,004 |
| <b>Grupo (E+L vs. L)</b>                          | 10,47 | 0,91 120,19 | 0,06  |
| <b>Idade</b>                                      | 0,98  | 0,86 1,11   | 0,73  |
| <b>Clear. creatinina (Cockroft, 2° coleta)</b>    | 0,90  | 0,82 0,98   | 0,02  |
| <b>PAS (3° coleta)</b>                            | 0,93  | 0,87 1,00   | 0,04  |
| <b>Hb glicada (2° coleta)</b>                     | 1,39  | 0,69 2,81   | 0,36  |
| <b>K (2° coleta)</b>                              | 0,02  | 0,00 0,28   | 0,004 |
| <b>Evolução proteinúria (aumento vs. redução)</b> | 1,24  | 0,12 12,79  | 0,86  |

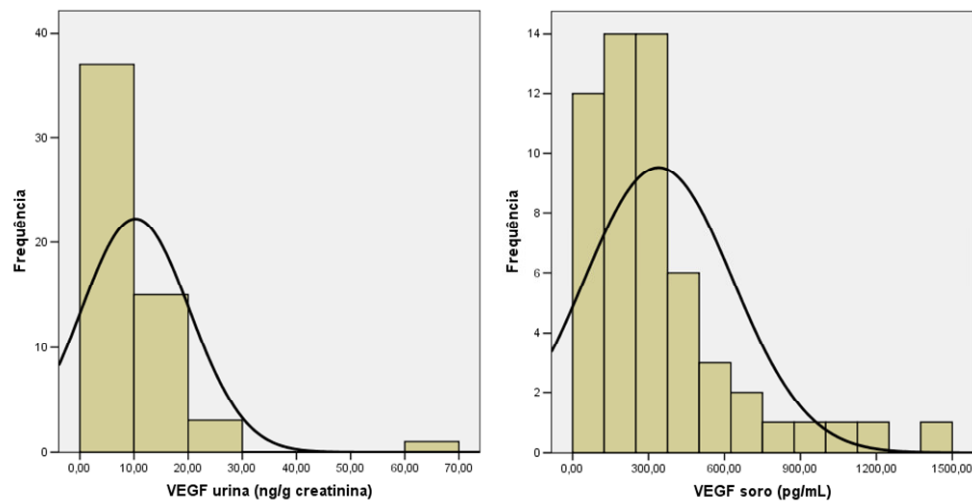
37 pacientes nos modelos por dado faltante

### 4.3. Efeito sobre VEGF

As dosagens de VEGF foram realizadas no tempo zero nos 56 pacientes (soro e urina) e na urina das 2° e 3° coletas daqueles 38 pacientes que completaram o estudo.

A Figura 8 mostra que tanto a concentração urinária de VEGF, quanto a sérica, apresentam comportamento não-simétrico.

**Figura 8.** Histogramas de VEGF no soro e na urina dos 56 pacientes ao início do estudo.



Para as análises seguintes, ambas variáveis foram tratadas através de transformação logarítmica. Apesar da concentração sérica de VEGF estar inversamente relacionada à excreção urinária desta citocina (Tabela 16), a dosagem no soro não mostrou relação significativa com a proteinúria ou *clearance* de creatinina iniciais. Vale notar que apesar de não atingir significância estatística, o VEGF no soro mantém uma tendência à relação inversa com a proteinúria. Por outro lado, a citocina urinária está significativamente associada à proteinúria e inversamente relacionada ao



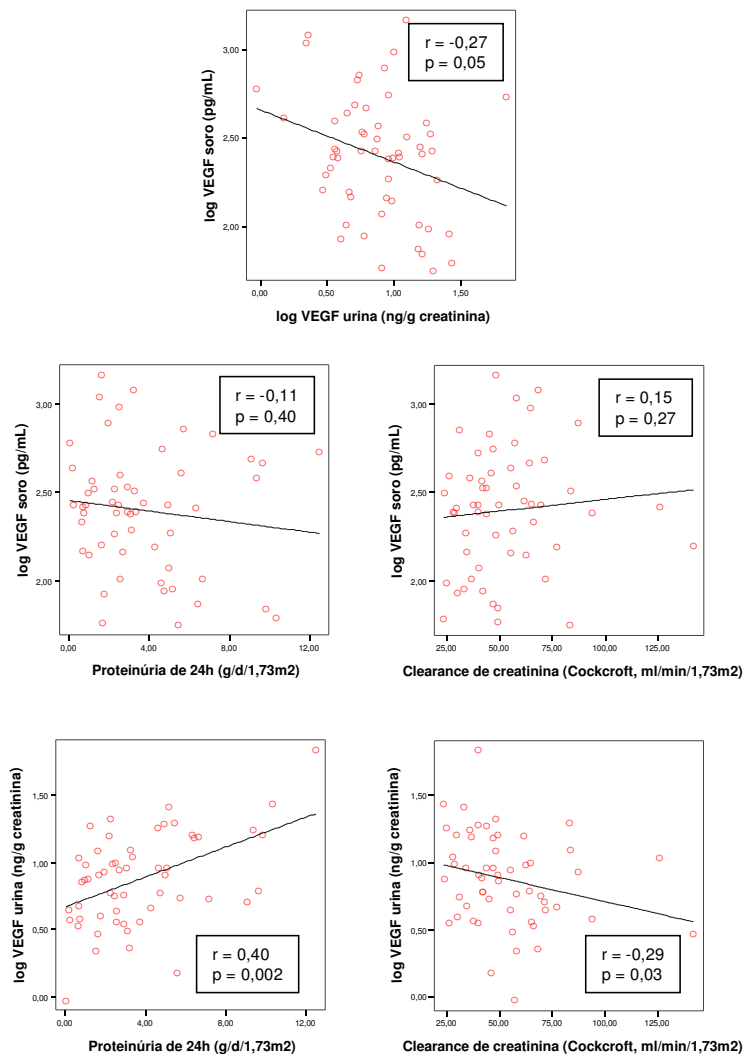
*clearance* de creatinina. A Figura 9 mostra os gráficos de pontos destas correlações e as retas de regressão linear.

**Tabela 16.** Coeficientes de correlação do VEGF na urina e soro ao início do estudo (56 pacientes).

|                       | Log VEGF urina |      | Proteinúria 24h |       | Clearance creat (Cockcroft) |      |
|-----------------------|----------------|------|-----------------|-------|-----------------------------|------|
|                       | Coeficiente    | p*   | Coeficiente     | p*    | Coeficiente                 | p*   |
| <b>Log VEGF urina</b> | -              | -    | 0,40            | 0,002 | -0,29                       | 0,03 |
| <b>Log VEGF soro</b>  | -0,27          | 0,05 | -0,11           | 0,40  | 0,15                        | 0,27 |

p = correlação de Spearman

**Figura 9.** Gráficos de regressão linear entre VEGF na urina, VEGF no soro, proteinúria e *clearance* de creatinina.



Novamente, para avaliar a relação entre a dosagem de VEGF na urina e no soro e as diversas variáveis clínicas e laboratoriais, estratificamos os valores destas variáveis de acordo com os tercís de VEGF na urina e no

soro. A Tabela 17 mostra estes resultados em relação à dosagem urinária e a Tabela 18 em relação à dosagem no soro. Nota-se que o VEGF urinário associa-se significativamente apenas à albumina (inversamente) e proteinúria. Já o VEGF no soro relaciona-se de forma significativa somente à idade e, mais fracamente, à proteinúria, mantendo relação inversa.

**Tabela 17.** Características clínicas e laboratoriais dos 56 pacientes ao início do estudo de acordo com os tercís de VEGF na urina.

|   | 1° tercíl log VEGF urina (n=18) |              | 2° tercíl log VEGF urina (n=19) |              | 3° tercíl log VEGF urina (n=19) |              | p*    |
|---|---------------------------------|--------------|---------------------------------|--------------|---------------------------------|--------------|-------|
|   | Média/Mediana                   | DP / P25-P75 | Média/Mediana                   | DP / P25-P75 | Média/Mediana                   | DP / P25-P75 |       |
| Idade (anos)  | 57,9                            | 11,1         | 61,4                            | 8,7          | 54,9                            | 10,2         | 0,15  |
| Sódio (mEq/L)   | 139,6                           | 2,7          | 139,7                           | 3,0          | 140,1                           | 1,9          | 0,82  |
| Potássio (mEq/L)  | 4,6                             | 0,4          | 4,7                             | 0,6          | 4,6                             | 0,5          | 0,79  |
| Uréia (mg/dL)   | 55,4                            | 21,8         | 69,2                            | 27,0         | 58,9                            | 23,8         | 0,21  |
| Creatinina (mg/dL)                                      | 1,4                             | 0,5          | 1,5                             | 0,5          | 1,7                             | 0,6          | 0,15  |
| Hemoglobina glicada (%)                                 | 8,1                             | 2,1          | 8,4                             | 1,8          | 8,5                             | 2,0          | 0,86  |
| Albumina (EFP, mg/dL)                                   | 3,6                             | 0,3          | 3,5                             | 0,3          | 3,1                             | 0,5          | 0,003 |
| Hemoglobina   | 12,8                            | 1,3          | 13,1                            | 1,6          | 12,7                            | 2,5          | 0,82  |
| Hematócrito (%)   | 38,6                            | 3,9          | 39,1                            | 4,7          | 38,6                            | 7,0          | 0,95  |
| PCR   | 2,4                             | 1,64 - 17,4  | 2,6                             | 1,14 - 4,15  | 3,0                             | 0,94 - 8,35  | 0,81  |
| Clearance creat (Cockcroft, ml/min/1,73m <sup>2</sup> ) | 45,9                            | 32 - 56      | 36,6                            | 32 - 47      | 35,0                            | 27 - 49      | 0,22  |
| Proteinúria 24h (g/d)                                   | 1,7                             | 0,5 - 2,7    | 2,2                             | 1,4 - 3,9    | 4,0                             | 1,8 - 5,3    | 0,01  |
| PAS (mmHg)  | 145,1                           | 24,4         | 147,3                           | 19,4         | 153,3                           | 25,2         | 0,53  |
| PAD (mmHg)  | 79,1                            | 14,4         | 77,2                            | 12,0         | 85,5                            | 13,8         | 0,15  |

EFP, eletroforese de proteínas; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; DP, desvio-padrão; P25, percentil 25; P75, percentil 75

\* p = one-way ANOVA

**Tabela 18.** Características clínicas e laboratoriais dos 56 pacientes ao início do estudo de acordo com os tercís de VEGF no soro.

|   | 1° tercíl log VEGF soro (n=18) |              | 2° tercíl log VEGF soro (n=19) |              | 3° tercíl log VEGF soro (n=19) |              | p*   |
|---|--------------------------------|--------------|--------------------------------|--------------|--------------------------------|--------------|------|
|   | Média/Mediana                  | DP / P25-P75 | Média/Mediana                  | DP / P25-P75 | Média/Mediana                  | DP / P25-P75 |      |
| Idade (anos)  | 56,5                           | 10,6         | 63,7                           | 10,1         | 53,9                           | 7,6          | 0,01 |
| Sódio (mEq/L)   | 140,3                          | 2,1          | 139,4                          | 2,5          | 139,7                          | 3,0          | 0,58 |
| Potássio (mEq/L)  | 4,5                            | 0,6          | 4,7                            | 0,4          | 4,6                            | 0,5          | 0,47 |
| Uréia (mg/dL)   | 63,4                           | 26,8         | 61,7                           | 29,0         | 58,8                           | 17,9         | 0,85 |
| Creatinina (mg/dL)                                      | 1,7                            | 0,6          | 1,4                            | 0,5          | 1,5                            | 0,4          | 0,40 |
| Hemoglobina glicada (%)                                 | 8,2                            | 1,7          | 8,5                            | 1,7          | 8,3                            | 2,5          | 0,94 |
| Albumina (EFP, mg/dL)                                   | 3,3                            | 0,6          | 3,3                            | 0,3          | 3,3                            | 0,5          | 1,00 |
| Hemoglobina   | 12,8                           | 1,8          | 13,1                           | 1,8          | 12,6                           | 2,0          | 0,67 |
| Hematócrito (%)   | 38,2                           | 4,3          | 39,8                           | 5,8          | 38,2                           | 5,9          | 0,58 |
| PCR   | 2,2                            | 0,61 - 3,35  | 2,7                            | 1,7 - 6,6    | 3,4                            | 1,2 - 9,6    | 0,92 |
| Clearance creat (Cockcroft, ml/min/1,73m <sup>2</sup> ) | 38,3                           | 27 - 52      | 35,0                           | 28 - 53      | 39,1                           | 33 - 52      | 0,96 |
| Proteinúria 24h (g/d)                                   | 3,6                            | 1,4 - 4,6    | 2,0                            | 0,6 - 2,7    | 2,4                            | 1,3 - 5,8    | 0,09 |
| PAS (mmHg)  | 152,4                          | 26,7         | 144,8                          | 20,6         | 148,9                          | 22,0         | 0,62 |
| PAD (mmHg)  | 83,5                           | 16,4         | 77,9                           | 11,7         | 80,7                           | 12,7         | 0,46 |

EFP, eletroforese de proteínas; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; DP, desvio-padrão; P25, percentil 25; P75, percentil 75

\* p = one-way ANOVA

Em relação ao comportamento do VEGF na urina e soro dos pacientes de acordo com os grupos de tratamento do protocolo, a Tabela 19 mostra os valores médios em cada tempo, sugerindo não haver diferença entre os grupos ao longo do estudo.

**Tabela 19.** Comportamento do VEGF na urina e no soro dos pacientes de acordo com os grupos de tratamento.

|                            | Grupo E |               |    | Grupo E+L |               |    | p    |
|----------------------------|---------|---------------|----|-----------|---------------|----|------|
|                            | Média   | Desvio-padrão | N  | Média     | Desvio-padrão | N  |      |
| log VEGF urina - 1° coleta | 0,82    | 0,30          | 28 | 0,94      | 0,37          | 28 | 0,19 |
| log VEGF urina - 2° coleta | 0,91    | 0,26          | 23 | 0,88      | 0,39          | 21 | 0,71 |
| log VEGF urina - 3° coleta | 0,81    | 0,26          | 21 | 0,91      | 0,38          | 17 | 0,36 |
| log VEGF soro - 1° coleta  | 2,48    | 0,36          | 28 | 2,32      | 0,31          | 28 | 0,09 |

A seguir, realizamos análises de regressão logística, usando como variável dependente a evolução do VEGF na urina entre os 38 pacientes que completaram o estudo. A Tabela 20 mostra os resultados destes modelos: tanto no modelo univariado quanto no multivariado, não há diferença entre os grupos em relação à evolução do VEGF na urina.

**Tabela 20.** Modelos de regressão logística sobre a evolução do VEGF urinário entre os 38 pacientes que completaram o estudo.

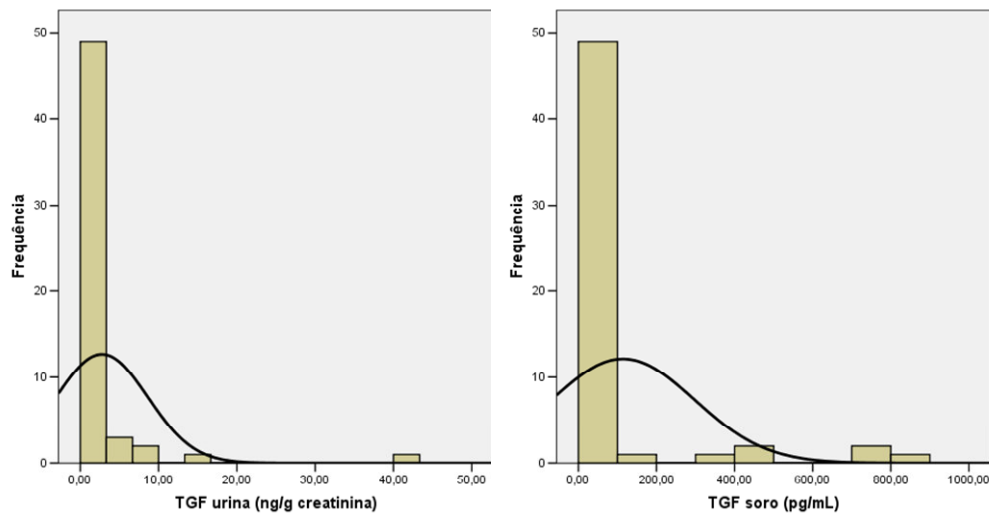
|   | OR   | 95% IC |      | p    |
|---|------|--------|------|------|
| Grupo (E+L vs. L)                       | 1,14 | 0,31   | 4,20 | 0,85 |
| Grupo (E+L vs. L)                       | 1,98 | 0,41   | 9,58 | 0,39 |
| Idade                                   | 0,96 | 0,88   | 1,05 | 0,38 |
| Proteinúria (2° coleta)                 | 1,08 | 0,83   | 1,41 | 0,57 |
| Clear. creatinina (Cockroft, 2° coleta) | 0,98 | 0,92   | 1,05 | 0,62 |
| PAS (3° coleta)                         | 1,04 | 0,99   | 1,10 | 0,09 |
| Hb glicada (2° coleta)                  | 0,78 | 0,46   | 1,33 | 0,37 |
| K (2° coleta)                           | 0,71 | 0,16   | 3,23 | 0,66 |

#### 4.4. Efeito sobre TGF- $\beta$

As dosagens de TGF- $\beta$  foram realizadas no tempo zero nos 56 pacientes (soro e urina) e na urina das 2° e 3° coletas daqueles 38 pacientes que completaram o estudo.

A Figura 10 mostra que a concentração de TGF- $\beta$  no soro e na urina apresenta comportamento não-simétrico. Outra informação importante é que os valores das dosagens de TGF- $\beta$  na urina foram baixos, com alguns pacientes tendo até valores indetectáveis.

**Figura 10.** Histogramas de TGF- $\beta$  no soro e na urina dos 56 pacientes ao início do estudo.



As concentrações sérica e urinária de TGF- $\beta$  não se correlacionam de forma significativa (Tabela 21). Apenas a dosagem urinária de TGF- $\beta$  relaciona-se positivamente à proteinúria e, curiosamente, apesar de não apresentar relação significativa com a proteinúria, a dosagem de TGF- $\beta$  no soro mostrou-se positiva e significativamente associada ao *clearance* de creatinina. A Figura 11 mostra os gráficos de pontos destas correlações, bem como a reta de regressão linear.

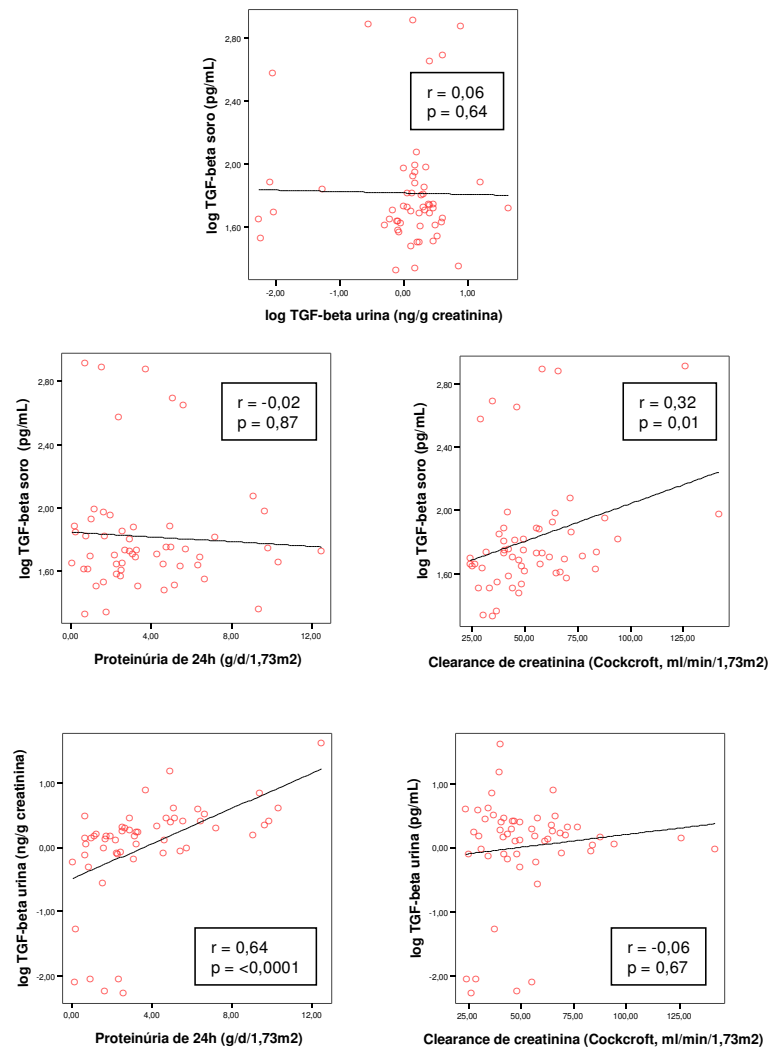


**Tabela 21.** Coeficientes de correlação do TGF- $\beta$  na urina e soro ao início do estudo (56 pacientes).

|   | Log TGF- $\beta$ urina |          | Proteinúria 24h |          | Clearance creat (Cockcroft) |          |
|---|------------------------|----------|-----------------|----------|-----------------------------|----------|
|   | Coeficiente            | $\rho^*$ | Coeficiente     | $\rho^*$ | Coeficiente                 | $\rho^*$ |
| <b>Log TGF-<math>\beta</math> urina</b> | -                      | -        | 0,64            | <0,0001  | -0,06                       | 0,67     |
| <b>Log TGF-<math>\beta</math> soro</b>  | 0,06                   | 0,64     | -0,02           | 0,87     | 0,32                        | 0,01     |

$\rho$  = correlação de Spearman

**Figura 11.** Gráficos de regressão linear entre TGF- $\beta$  na urina, TGF- $\beta$  no soro, proteinúria e *clearance* de creatinina.



Para avaliar a relação entre a dosagem de TGF- $\beta$  na urina e no soro e as diversas variáveis clínicas e laboratoriais, estratificamos os valores destas variáveis de acordo com os tercis de TGF- $\beta$  na urina e no soro. A Tabela 22

mostra estes resultados em relação à dosagem urinária e a Tabela 23 em relação à dosagem no soro. Nota-se que o TGF- $\beta$  urinário associa-se à creatinina (mas não ao *clearance*), à albumina (inversamente) e à proteinúria. Já o TGF- $\beta$  no soro relaciona-se exclusivamente com a creatinina sérica e com o *clearance* de creatinina.

**Tabela 22.** Características clínicas e laboratoriais dos 56 pacientes ao início do estudo de acordo com os tercís de TGF- $\beta$  na urina.

|   | 1° tercíl log TGF $\beta$ urina (n=18) |              | 2° tercíl log TGF- $\beta$ urina (n=19) |              | 3° tercíl log TGF- $\beta$ urina (n=19) |              | p*      |
|---|--|--------------|---|--------------|---|--------------|---------|
|   | Média/Mediana                          | DP / P25-P75 | Média/Mediana                           | DP / P25-P75 | Média/Mediana                           | DP / P25-P75 |         |
| Idade (anos)  | 59,7                                   | 12,3         | 60,2                                    | 8,9          | 54,4                                    | 8,7          | 0,15    |
| Sódio (mEq/L)   | 139,9                                  | 2,0          | 140,3                                   | 2,5          | 139,3                                   | 3,0          | 0,48    |
| Potássio (mEq/L)  | 4,7                                    | 0,5          | 4,5                                     | 0,4          | 4,6                                     | 0,5          | 0,44    |
| Uréia (mg/dL)   | 70,5                                   | 24,1         | 50,6                                    | 19,3         | 63,2                                    | 26,8         | 0,04    |
| Creatinina (mg/dL)                                      | 1,6                                    | 0,5          | 1,3                                     | 0,4          | 1,7                                     | 0,5          | 0,02    |
| Hemoglobina glicada (%)                                 | 8,2                                    | 2,1          | 8,6                                     | 1,8          | 8,2                                     | 2,0          | 0,73    |
| Albumina (EFP, mg/dL)                                   | 3,5                                    | 0,3          | 3,5                                     | 0,3          | 3,1                                     | 0,6          | 0,01    |
| PCR   | 2,6                                    | 1,31 - 3,80  | 3,1                                     | 1,54 - 5,16  | 2,9                                     | 0,77 - 10,88 | 0,57    |
| Hemoglobina   | 12,6                                   | 1,9          | 13,3                                    | 1,9          | 12,7                                    | 1,7          | 0,47    |
| Hematócrito (%)   | 37,5                                   | 5,2          | 40,5                                    | 5,8          | 38,3                                    | 4,8          | 0,21    |
| Clearance creat (Cockcroft, ml/min/1,73m <sup>2</sup> ) | 46,0                                   | 31 - 57      | 56,5                                    | 44 - 71      | 42,0                                    | 36 - 64      | 0,17    |
| Proteinúria 24h (g/d)                                   | 1,9                                    | 0,8 - 2,7    | 2,5                                     | 1,2 - 3,2    | 5,2                                     | 4,3 - 9,4    | <0,0001 |
| PAS (mmHg)  | 154,1                                  | 22,9         | 147,4                                   | 18,3         | 144,7                                   | 27,0         | 0,45    |
| PAD (mmHg)  | 81,2                                   | 13,8         | 77,5                                    | 11,2         | 83,3                                    | 15,6         | 0,43    |

EFP, eletroforese de proteínas; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; DP, desvio-padrão; P25, percentil 25; P75, percentil 75

\* p = one-way ANOVA

**Tabela 23.** Características clínicas e laboratoriais dos 56 pacientes ao início do estudo de acordo com os tercís de TGF- $\beta$  no soro.

|   | 1° tercíl log TGF $\beta$ soro (n=18) |              | 2° tercíl log TGF- $\beta$ soro (n=19) |              | 3° tercíl log TGF- $\beta$ soro (n=19) |              | p*   |
|---|---------------------------------------|--------------|--|--------------|--|--------------|------|
|   | Média/Mediana                         | DP / P25-P75 | Média/Mediana                          | DP / P25-P75 | Média/Mediana                          | DP / P25-P75 |      |
| Idade (anos)  | 59,4                                  | 10,4         | 56,2                                   | 10,1         | 58,7                                   | 10,5         | 0,6  |
| Sódio (mEq/L)   | 139,8                                 | 2,3          | 140,4                                  | 2,5          | 139,3                                  | 2,8          | 0,4  |
| Potássio (mEq/L)  | 4,7                                   | 0,4          | 4,4                                    | 0,6          | 4,8                                    | 0,4          | 0,03 |
| Uréia (mg/dL)   | 68,5                                  | 20,0         | 63,2                                   | 24,4         | 52,5                                   | 27,2         | 0,1  |
| Creatinina (mg/dL)                                      | 1,7                                   | 0,5          | 1,7                                    | 0,6          | 1,3                                    | 0,4          | 0,03 |
| Hemoglobina glicada (%)                                 | 8,2                                   | 1,9          | 8,1                                    | 1,8          | 8,8                                    | 2,2          | 0,5  |
| Albumina (EFP, mg/dL)                                   | 3,4                                   | 0,3          | 3,2                                    | 0,6          | 3,4                                    | 0,4          | 0,5  |
| PCR   | 2,8                                   | 0,99 - 4,79  | 2,9                                    | 1,53 - 9,94  | 2,4                                    | 1,28 - 6,18  | 0,5  |
| Hemoglobina   | 12,3                                  | 1,8          | 13,4                                   | 2,4          | 12,8                                   | 1,0          | 0,2  |
| Hematócrito (%)   | 37,0                                  | 5,3          | 40,6                                   | 6,9          | 38,7                                   | 2,8          | 0,1  |
| Clearance creat (Cockcroft, ml/min/1,73m <sup>2</sup> ) | 42,9                                  | 32 - 53      | 45,3                                   | 40 - 58      | 57,9                                   | 42 - 72      | 0,02 |
| Proteinúria 24h (g/d)                                   | 2,5                                   | 1,5 - 5,2    | 3,2                                    | 2,7 - 6,4    | 1,9                                    | 1,0 - 4,9    | 0,2  |
| PAS (mmHg)  | 149,7                                 | 22,6         | 148,5                                  | 24,9         | 147,8                                  | 22,4         | 1,0  |
| PAD (mmHg)  | 79,6                                  | 13,7         | 84,2                                   | 14,2         | 78,2                                   | 13,0         | 0,4  |

EFP, eletroforese de proteínas; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; DP, desvio-padrão; P25, percentil 25; P75, percentil 75

\* p = one-way ANOVA

Em relação ao comportamento do TGF- $\beta$  na urina e soro dos pacientes de acordo com os grupos de tratamento do protocolo, a Tabela 24 mostra os valores médios em cada tempo, sugerindo não haver diferença entre os grupos ao longo do estudo.

**Tabela 24.** Comportamento do TGF- $\beta$  na urina e no soro dos pacientes de acordo com os grupos de tratamento.

|  | Grupo E |       |      |    | Grupo E+L |       |      |    | p    |
|--|---------|-------|------|----|-----------|-------|------|----|------|
|  | Mediana | P25   | P75  | N  | Mediana   | P25   | P75  | N  |      |
| log TGF- $\beta$ urina - 1 <sup>o</sup> coleta | 0,21    | 0,01  | 0,34 | 28 | 0,15      | -0,10 | 0,45 | 28 | 0,90 |
| log TGF- $\beta$ urina - 2 <sup>o</sup> coleta | 0,16    | -0,15 | 0,57 | 23 | 0,14      | -0,39 | 0,41 | 21 | 0,42 |
| log TGF- $\beta$ urina - 3 <sup>o</sup> coleta | 0,03    | -0,24 | 0,25 | 21 | 0,11      | -0,13 | 0,34 | 17 | 0,49 |
| log TGF- $\beta$ soro - 1 <sup>o</sup> coleta  | 1,73    | 1,61  | 1,93 | 28 | 1,71      | 1,63  | 1,89 | 28 | 0,92 |

A seguir, realizamos análises de regressão logística, usando como variável dependente a evolução do TGF- $\beta$  na urina entre os 38 pacientes que completaram o estudo. A Tabela 25 mostra os resultados destes modelos: no modelo univariado e no multivariado, não há diferença entre os grupos de tratamento em relação à evolução do TGF- $\beta$  na urina no período da intervenção.

**Tabela 25.** Modelos de regressão logística sobre a evolução do TGF- $\beta$  urinário entre os 38 pacientes que completaram o estudo.

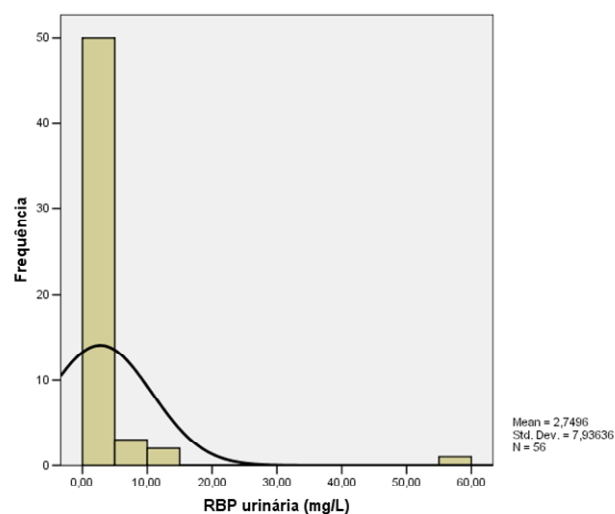
|   | OR   | 95% IC |       | p    |
|---|------|--------|-------|------|
| Grupo (E+L vs. L)                       | 2,04 | 0,30   | 13,85 | 0,47 |
| Grupo (E+L vs. L)                       | 0,90 | 0,22   | 3,68  | 0,89 |
| Idade                                   | 1,00 | 0,92   | 1,08  | 0,93 |
| Proteinúria (2° coleta)                 | 1,01 | 0,82   | 1,25  | 0,91 |
| Clear. creatinina (Cockroft, 2° coleta) | 0,98 | 0,94   | 1,03  | 0,48 |
| PAS (3° coleta)                         | 0,98 | 0,94   | 1,02  | 0,30 |
| Hb glicada (2° coleta)                  | 0,78 | 0,49   | 1,23  | 0,29 |
| K (2° coleta)                           | 0,79 | 0,23   | 2,69  | 0,71 |

#### 4.5. Efeito sobre RBP urinária

Adicionamos às nossas análises a quantificação da excreção urinária de RBP, marcador de lesão tubular proximal. Estas dosagens foram realizadas nos 56 pacientes ao início do estudo e na urina das 2° e 3° coletas daqueles 38 pacientes que completaram o estudo.

A Figura 12 mostra que a concentração urinária de RBP tem distribuição não-simétrica.

**Figura 12.** Histograma de RBP na urina dos 56 pacientes ao início do estudo.



Para as análises seguintes, a RBP urinária foi tratada com transformação logarítmica. A RBP urinária está intensamente relacionada tanto à proteinúria quanto ao *clearance* de creatinina, conforme mostram a Tabela 26 e a Figura 13.

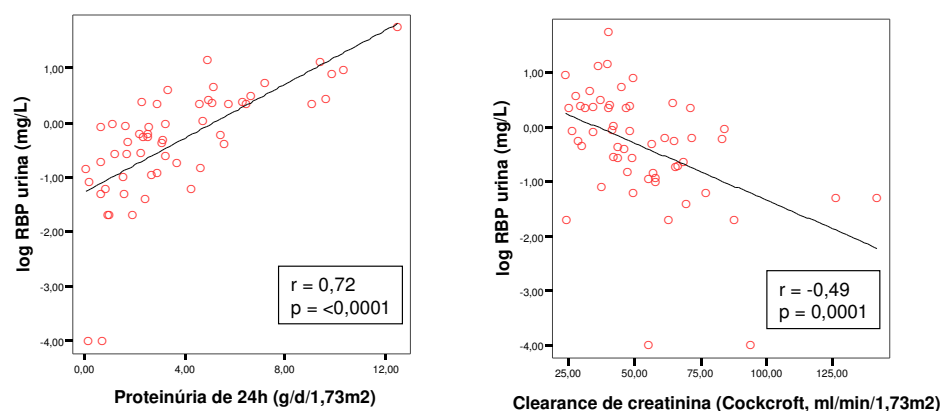
**Tabela 26.** Coeficientes de correlação da RBP urinária com proteinúria e *clearance* de creatinina (56 pacientes).



|                      | Proteinúria 24h |         | Clearance creat (Cockcroft) |        |
|----------------------|-----------------|---------|-----------------------------|--------|
|                      | Coefficiente    | p*      | Coefficiente                | p*     |
| <b>Log RBP urina</b> | 0,72            | <0,0001 | -0,49                       | 0,0001 |

p = correlação de Spearman

**Figura 13.** Gráficos de regressão linear entre a RBP urinária e a proteinúria e *clearance* de creatinina.



Para avaliar a relação entre a dosagem de RBP na urina e as diversas variáveis clínicas e laboratoriais, estratificamos os valores destas variáveis de acordo com os tercís de RBP urinária. A concentração urinária de RBP correlaciona-se intensamente com a proteinúria, *clearance* de creatinina, creatinina e com a albuminemia (relação inversa) (Tabela 27).

**Tabela 27.** Características clínicas e laboratoriais dos 56 pacientes ao início do estudo de acordo com os tercís de RBP na urina.

|   | 1° tercíl log RBP urina (n=18) |              | 2° tercíl log RBP urina (n=19) |              | 3° tercíl log RBP urina (n=19) |              | p*      |
|---|--------------------------------|--------------|--------------------------------|--------------|--------------------------------|--------------|---------|
|   | Média/Mediana                  | DP / P25-P75 | Média/Mediana                  | DP / P25-P75 | Média/Mediana                  | DP / P25-P75 |         |
| Idade (anos)  | 58,4                           | 10,8         | 60,2                           | 11,0         | 55,6                           | 8,8          | 0,39    |
| Sódio (mEq/L)   | 140,3                          | 3,2          | 139,2                          | 2,0          | 139,9                          | 2,4          | 0,43    |
| Potássio (mEq/L)  | 4,6                            | 0,6          | 4,7                            | 0,4          | 4,6                            | 0,5          | 0,83    |
| Uréia (mg/dL)   | 50,4                           | 18,0         | 59,8                           | 22,6         | 73,0                           | 27,7         | 0,02    |
| Creatinina (mg/dL)                                      | 1,2                            | 0,4          | 1,5                            | 0,4          | 1,9                            | 0,5          | <0,0001 |
| Hemoglobina glicada (%)                                 | 8,4                            | 1,9          | 8,2                            | 1,9          | 8,4                            | 2,2          | 0,93    |
| Albumina (EFP, mg/dL)                                   | 3,6                            | 0,3          | 3,5                            | 0,3          | 3,1                            | 0,5          | 0,001   |
| PCR   | 2,6                            | 1,8 - 4,15   | 2,8                            | 0,99 - 12,2  | 2,8                            | 1,02 - 3,78  | 0,39    |
| Hemoglobina   | 13,1                           | 1,1          | 13,0                           | 2,3          | 12,5                           | 2,0          | 0,54    |
| Hematócrito (%)   | 39,5                           | 3,1          | 39,0                           | 6,7          | 37,8                           | 5,7          | 0,62    |
| PAS (mmHg)  | 146,4                          | 21,8         | 149,2                          | 22,1         | 150,2                          | 25,7         | 0,87    |
| PAD (mmHg)  | 78,1                           | 13,1         | 78,0                           | 10,9         | 85,7                           | 15,7         | 0,14    |
| Proteinúria 24h (g/d)                                   | 1,3                            | 0,6 - 2,7    | 2,5                            | 1,7 - 3,2    | 6,3                            | 4,9 - 9,4    | <0,0001 |
| Clearance creat (Cockcroft, ml/min/1,73m <sup>2</sup> ) | 60,3                           | 54 - 80      | 45,9                           | 42 - 65      | 39,8                           | 31 - 47      | 0,0005  |

EFP, eletroforese de proteínas; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; DP, desvio-padrão; P25, percentil 25; P75, percentil 75

\* p = one-way ANOVA

Em relação ao comportamento da RBP na urina dos pacientes de acordo com os grupos de tratamento do protocolo, a Tabela 28 mostra os valores médios em cada tempo, sugerindo não haver diferença entre os grupos ao longo do estudo.

**Tabela 28.** Comportamento da RBP urinária dos 38 pacientes que completaram o estudo de acordo com os grupos de tratamento.

|                           | Grupo E |       |      |       | Grupo E+L |       |       |    | p    |
|---------------------------|---------|-------|------|-------|-----------|-------|-------|----|------|
|                           | Mediana | P25   | P75  | N     | Mediana   | P25   | P75   | N  |      |
| log RBP urina - 1ª coleta | -0,31   | -0,85 | 0,35 | 28,00 | -0,20     | -1,17 | 0,37  | 28 | 0,69 |
| log RBP urina - 2ª coleta | -0,36   | -0,95 | 0,44 | 23,00 | -0,62     | -1,08 | -0,16 | 21 | 0,21 |
| log RBP urina - 3ª coleta | -0,28   | -0,94 | 0,23 | 21,00 | -0,46     | -0,98 | 0,01  | 17 | 0,66 |

A seguir, realizamos análises de regressão logística, usando como variável dependente a evolução da RBP urinária nos 38 pacientes que completaram o estudo. A Tabela 29 mostra os resultados destes modelos: no modelo univariado e no multivariado, não há diferença entre os grupos de tratamento em relação à evolução de RBP.

**Tabela 29.** Modelos de regressão logística sobre a evolução de RBP urinária entre os 38 pacientes que completaram o estudo.

|   | OR   | 95% IC |       | p    |
|---|------|--------|-------|------|
| Grupo (E+L vs. L)                       | 2,02 | 0,54   | 7,49  | 0,29 |
| Grupo (E+L vs. L)                       | 2,28 | 0,50   | 10,39 | 0,29 |
| Idade                                   | 0,97 | 0,89   | 1,06  | 0,54 |
| Proteinúria (2° coleta)                 | 0,83 | 0,63   | 1,08  | 0,16 |
| Clear. creatinina (Cockroft, 2° coleta) | 1,01 | 0,96   | 1,06  | 0,71 |
| PAS (3° coleta)                         | 1,00 | 0,96   | 1,05  | 0,93 |
| Hb glicada (2° coleta)                  | 0,85 | 0,49   | 1,46  | 0,55 |
| K (2° coleta)                           | 0,46 | 0,11   | 2,05  | 0,31 |

#### 4.5. Análises adicionais

Frente aos resultados obtidos, algumas análises adicionais foram feitas no sentido de explorar melhor a relação entre variáveis preditoras tanto da evolução da proteinúria ao longo do protocolo, quanto em relação à tolerabilidade às drogas inibidoras de angiotensina II, considerando a taxa elevada de eventos adversos por nós observada.

##### ***4.5.1 Variáveis preditoras de eventos adversos durante o protocolo***

As análises seguintes foram feitas comparando dois grupos de pacientes: aqueles 38 pacientes que toleraram o esquema terapêutico proposto no protocolo e completaram o estudo e aqueles 18 pacientes que

interromperam o estudo, sendo 9 com DAFR, 7 HK (1 paciente apresentou simultaneamente DAFR e HK), 2 interrupções por eventos clínicos outros (hospitalização por angina e por complicação de vasculopatia periférica) e 1 abandono sem evento adverso prévio. A Tabela 30 mostra as variáveis ao início do estudo de acordo com esta classificação.

**Tabela 30.** Características clínicas e laboratoriais nos pacientes que completaram o estudo e naqueles com eventos adversos.

|   | não completaram (n=18) |              | completaram (n=38) |              | p*      |
|---|------------------------|--------------|--------------------|--------------|---------|
|   | Média/Mediana          | DP / P25-P75 | Média/Mediana      | DP / P25-P75 |         |
| Idade (anos)  | 57,9                   | 9,3          | 58,2               | 10,7         | 0,93    |
| PAS (mmHg)  | 150,5                  | 26,4         | 147,7              | 21,4         | 0,67    |
| PAD (mmHg)  | 80,9                   | 14,4         | 80,6               | 13,5         | 0,94    |
| Hb glicada (%)  | 8,0                    | 1,8          | 8,5                | 2,0          | 0,39    |
| Albumina (EFP, mg/dL)   | 3,2                    | 0,5          | 3,4                | 0,4          | 0,27    |
| K (mEq/L)   | 4,8                    | 0,3          | 4,5                | 0,5          | 0,04    |
| Creatinina (mg/dL)  | 2,2                    | 0,6          | 1,5                | 0,5          | <0,0001 |
| Clear. creatinina (Cockcroft-Gault, ml/min/1,73m <sup>2</sup> ) | 38,3                   | 29 - 44      | 56,8               | 43 - 70      | <0,0001 |
| Proteinúria 24h (g/d/1,73m <sup>2</sup> )                       | 4,9                    | 2,3 - 6,4    | 2,5                | 1,4 - 4,3    | 0,03    |
| log MCP-1 urinário (ng/g creatinina)                            | 1,7                    | 0,5          | 1,5                | 0,2          | 0,10    |
| log MCP-1 soro (pg/mL)  | 2,6                    | 0,1          | 2,5                | 0,2          | 0,02    |
| log VEGF urinário (ng/g creatinina)                             | 1,0                    | 0,4          | 0,8                | 0,3          | 0,02    |
| log VEGF soro (pg/mL)   | 2,3                    | 0,3          | 2,4                | 0,4          | 0,27    |
| log TGF-β urinário (ng/g creatinina)                            | 0,1                    | 0,9          | 0,0                | 0,7          | 0,57    |
| log TGF-β soro (pg/mL)  | 1,7                    | 0,3          | 1,9                | 0,4          | 0,34    |
| log RBP urinária (mg/L)   | 0,2                    | 0,8          | -0,6               | 1,1          | 0,01    |

EFP, eletroforese de proteínas; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; DP, desvio-padrão; P25, percentil 25; P75, percentil 75

\*p = teste t

Esta tabela mostra que a proteinúria, o *clearance* de creatinina, o potássio sérico, o MCP-1 sérico, o VEGF urinário e a RBP urinária ao início do estudo são estatisticamente diferentes nos dois grupos em questão. A Tabela 31 mostra agora as mesmas variáveis analisadas em modelo de regressão logística univariada. Estas análises confirmam os valores anteriores, com a proteinúria, o *clearance* de creatinina, o potássio sérico, o MCP-1 (agora urina e soro), o VEGF urinário e a RBP urinária ao início do estudo associando-se positivamente a um risco significativamente maior de eventos adversos.

**Tabela 31.** Modelos univariados de regressão logística sobre o risco de apresentar evento adverso durante o protocolo.

|   | OR*   | 95% IC |         | p     |
|---|-------|--------|---------|-------|
| K (mEq/L)   | 4,46  | 1,04   | 19,07   | 0,04  |
| Creatinina (mg/dL)  | 29,39 | 4,24   | 203,65  | 0,001 |
| Clear. creatinina (Cockcroft-Gault, ml/min/1,73m <sup>2</sup> ) | 0,91  | 0,86   | 0,96    | 0,001 |
| Proteinúria 24h (g/d/1,73m <sup>2</sup> )                       | 1,25  | 1,02   | 1,53    | 0,03  |
| log MCP-1 urinário (ng/g creatinina)                            | 6,65  | 0,98   | 45,11   | 0,05  |
| log MCP-1 soro (pg/mL)  | 50,47 | 1,73   | 1469,71 | 0,02  |
| log VEGF urinário (ng/g creatinina)                             | 9,12  | 1,28   | 65,13   | 0,03  |
| log VEGF soro (pg/mL)   | 0,38  | 0,07   | 2,09    | 0,27  |
| log TGF- $\beta$ urinário (ng/g creatinina)                     | 1,25  | 0,58   | 2,69    | 0,57  |
| log TGF- $\beta$ soro (pg/mL)                                   | 0,42  | 0,07   | 2,51    | 0,34  |
| log RBP urinária (mg/L)   | 3,08  | 1,30   | 7,32    | 0,01  |

\*OR = não completar vs. completar o estudo

Por último, a Tabela 32 mostra o modelo de regressão logística multivariada. Utilizando a técnica de *stepwise* do tipo *backward* com a inclusão de todas as variáveis contempladas na Tabela 31, o melhor modelo preditor para a ocorrência de eventos adversos é o modelo que inclui o *clearance* de creatinina e o MCP-1 no soro. Interessante notar que a proteinúria de 24h não entrou como variável preditora significativa neste modelo.



**Tabela 32.** Modelo de regressão logística *stepwise* sobre evolução de proteinúria.

|   | OR*  | 95% IC |        | p     |
|---|------|--------|--------|-------|
| Clear. creatinina (Cockcroft-Gault, ml/min/1,73m <sup>2</sup> ) | 0,91 | 0,86   | 0,97   | 0,002 |
| log MCP-1 soro (pg/mL)  | 86,9 | 1,2    | 6299,9 | 0,04  |

#### **4.5.2. Variáveis preditoras de evolução da proteinúria**

Para estas análises utilizamos novamente o método de intenção de tratamento, incluindo os dados de 51 dos 56 pacientes (5 perdas). Os pacientes são classificados de acordo com a evolução da proteinúria (aumento ou redução) ao longo dos 8 meses de protocolo (diferença entre as 1<sup>o</sup> e 3<sup>o</sup> coletas). A Tabela 33 mostra as características clínicas dos pacientes de acordo com esta classificação de evolução da proteinúria.

**Tabela 33.** Características clínicas e laboratoriais dos pacientes de acordo com a evolução da proteinúria ao longo dos 8 meses do protocolo.

|  | redução da proteinúria |              | elevação da proteinúria |              | p*    |
|--|------------------------|--------------|-------------------------|--------------|-------|
|  | Média/Mediana          | DP / P25-P75 | Média/Mediana           | DP / P25-P75 |       |
| Idade (anos)   | 57,7                   | 10,1         | 58,4                    | 10,8         | 0,81  |
| PAS (mmHg)   | 148,2                  | 18,4         | 145,3                   | 26,0         | 0,65  |
| PAD (mmHg)   | 79,3                   | 13,6         | 82,4                    | 13,1         | 0,42  |
| Hb glicada (%)   | 8,8                    | 1,9          | 8,1                     | 1,9          | 0,22  |
| Albumina (EFP, mg/dL)  | 3,5                    | 0,3          | 3,1                     | 0,5          | 0,002 |
| K (mEq/L)  | 4,7                    | 0,4          | 4,5                     | 0,6          | 0,34  |
| Creatinina (mg/dL)   | 1,5                    | 0,6          | 1,9                     | 0,6          | 0,03  |
| Clear. creatinina (Cockroft-Gault, ml/min/1,73m <sup>2</sup> ) | 57,9                   | 42 - 71      | 43,7                    | 33 - 55      | 0,01  |
| Proteinúria 24h (g/d/1,73m <sup>2</sup> )                      | 2,5                    | 1,5 - 4,9    | 3,1                     | 2,3 - 6,3    | 0,55  |
| log MCP-1 urinário (ng/g creatinina)                           | 1,5                    | 0,2          | 1,7                     | 0,3          | 0,01  |
| log MCP-1 soro (pg/mL)   | 2,5                    | 0,2          | 2,5                     | 0,2          | 0,33  |
| log VEGF urinário (ng/g creatinina)                            | 0,8                    | 0,2          | 0,9                     | 0,4          | 0,13  |
| log VEGF soro (pg/mL)  | 2,4                    | 0,4          | 2,4                     | 0,3          | 0,64  |
| log TGF-β urinário (ng/g creatinina)                           | 0,01                   | 0,6          | -0,03                   | 1,0          | 0,89  |
| log TGF-β soro (pg/mL)   | 1,9                    | 0,4          | 1,8                     | 0,3          | 0,23  |
| log RBP urinária (mg/L)  | -0,8                   | 1,2          | 0,1                     | 0,7          | 0,005 |

EFP, eletroforese de proteínas; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; DP, desvio-padrão; P25, percentil 25; P75, percentil 75

\*p = teste t

Esta tabela mostra que além da albumina sérica e do *clearance* de creatinina, variáveis já sabidamente associadas à evolução da proteinúria, o MCP-1 urinário e a RBP urinária dosadas no tempo inicial do estudo correlacionam-se significativamente à evolução da proteinúria. Interessantemente, a proteinúria basal não se correlaciona bem com a progressão da mesma. A Tabela 34 mostra agora as mesmas variáveis analisadas em modelo de regressão logística univariada. Estas análises confirmam os achados anteriores, com a albumina, o *clearance* de creatinina, o MCP-1 urinário e a RBP urinária ao início do estudo associando-se positivamente a um risco significativamente maior de piora da proteinúria. O VEGF urinário relaciona-se mais fracamente a este risco.

**Tabela 34.** Modelos univariados de regressão logística sobre a evolução da proteinúria.

|  | OR*   | 95% IC |        | p    |
|--|-------|--------|--------|------|
| K (mEq/L)  | 0,56  | 0,18   | 1,72   | 0,31 |
| Hb glicada (%)   | 0,83  | 0,61   | 1,12   | 0,22 |
| Albumina (EFP, mg/dL)  | 0,03  | 0,002  | 0,42   | 0,01 |
| Creatinina (mg/dL)   | 2,99  | 1,06   | 8,48   | 0,04 |
| Clear. creatinina (Cockroft-Gault, ml/min/1,73m <sup>2</sup> ) | 0,96  | 0,93   | 0,99   | 0,02 |
| Proteinúria 24h (g/d/1,73m <sup>2</sup> )                      | 1,07  | 0,87   | 1,31   | 0,54 |
| log MCP-1 urinário (ng/g creatinina)                           | 43,18 | 2,06   | 907,42 | 0,02 |
| log MCP-1 soro (pg/mL)   | 0,23  | 0,01   | 4,28   | 0,33 |
| log VEGF urinário (ng/g creatinina)                            | 4,78  | 0,68   | 33,45  | 0,12 |
| log VEGF soro (pg/mL)  | 0,68  | 0,14   | 3,36   | 0,64 |
| log TGF-β urinário (ng/g creatinina)                           | 0,95  | 0,47   | 1,91   | 0,88 |
| log TGF-β soro (pg/mL)   | 0,35  | 0,06   | 2,04   | 0,24 |
| log RBP urinária (mg/L)  | 3,11  | 1,32   | 7,34   | 0,01 |

\*OR = aumentar vs. reduzir a proteinúria

Por último, voltamos a utilizar o modelo de regressão logística *stepwise* do tipo *backward* (Tabela 35). No primeiro modelo, os dados de proteinúria, *clearance* de creatinina e MCP-1 urinário foram colocados, enquanto no segundo foram incluídos os dados de proteinúria, *clearance* de creatinina e RBP urinária. Mesmo com os ajustes, ambas citocinas urinárias mostraram-se positiva, significativa e independentemente relacionadas ao risco de

piorar a proteinúria ao longo dos 8 meses de protocolo. Estes modelos foram repetidos, incluindo-se o tratamento recebido como outra covariável de ajuste, sem modificação dos resultados.

**Tabela 35.** Modelos de regressão logística *stepwise* sobre evolução da proteinúria ao longo dos 8 meses do protocolo.

|   | OR*   | 95% IC |       | p     |
|---|-------|--------|-------|-------|
| Clear. creatinina (Cockcroft-Gault, ml/min/1,73m <sup>2</sup> ) | 0,96  | 0,93   | 1,00  | 0,04  |
| MCP-1 urinário (ng/g creatinina)                                | 1,04  | 1,00   | 1,07  | 0,04  |
| Proteinúria 24h (g/d/1,73m <sup>2</sup> )                       | 0,63  | 0,43   | 0,93  | 0,02  |
| log RBP urinária (mg/L)   | 12,09 | 2,38   | 61,43 | 0,003 |

## **5 . Discussão**

---

## 5. DISCUSSÃO

### 5.1. Proteinúria

Nossos dados sugerem que o tratamento combinado com enalapril e losartan não foi superior em termos de evolução da proteinúria em relação ao tratamento com enalapril apenas. Em todas as análises univariadas, o desempenho dos dois grupos foi semelhante, sem nenhuma diferença estatisticamente significativa detectável. Surpreendentemente, nos modelos multivariados, realizados no sentido de avaliar se ao menos uma tendência de benefício poderia ser detectada, o Grupo E+L mostrou ter uma evolução da proteinúria (regressão logística) ou proteinúria final (regressão linear) significativamente pior do que o Grupo E. Estes resultados foram os mesmos nos dois tipos de análise apresentadas: com o método de intenção de tratamento ou analisando apenas aquele grupo de pacientes que tolerou as drogas em questão e concluiu o protocolo. Vale aqui uma digressão sobre as vantagens e desvantagens de cada método.

Na análise de intenção de tratamento, amplamente utilizada em ensaios clínicos na atualidade, a grande vantagem é que não ocorrem modificações nas características da população recrutada ao longo do estudo em função das perdas e interrupções de protocolo. Um número grande de saídas de pacientes do protocolo pode modificar as características dos grupos, criando eventualmente situações de desbalanços e podendo influenciar profundamente os resultados finais. Além disso, a análise de

intenção de tratamento oferece a vantagem de incluir em sua avaliação tanto efeitos adversos previstos, como não-previstos. Um exemplo clássico, seria o de um paciente que falece por atropelamento um dia após ter sido incluído num estudo clínico no qual iniciou o uso de um medicamento. Poderíamos alegar que o grupo deste medicamento passaria a contar com um óbito que em absoluto possui qualquer relação com o uso do medicamento. Entretanto, poderíamos também propor que a droga em questão tenha um efeito adverso não-previsto de lentificação e atraso em reflexos neurológicos, aumentando assim a chance do óbito ter ocorrido e passando agora a estabelecer uma relação causal com o mesmo. Quem resolve este problema é o próprio método estatístico: se o óbito for não-relacionado ao tratamento, ao final, não haverá diferença significativa entre os grupos. Se o remédio, entretanto, causar um efeito colateral não-previsto significativo, isso poderá ser detectado através da análise de eventos (a depender, é claro, do tamanho da amostra) [107].

A intenção de tratamento cria, entretanto, um problema anunciado pelo próprio nome. A análise é feita de acordo com a proposta de tratamento para cada paciente, que não necessariamente implica na execução deste. Assim, pacientes que apresentaram efeitos colaterais e interromperam o tratamento ou até mesmo nem chegaram a realizá-lo são incluídos na análise. Em nosso estudo, por exemplo, muitos pacientes apresentaram efeito adverso e tiveram seu tratamento interrompido. Ainda assim, entraram nas análises, mesmo não estando mais sob a intervenção (ou nem tendo iniciado a segunda droga do protocolo). Novamente quem resolve o problema é o



método estatístico: se não há relação causal entre o tratamento e o evento adverso, estes eventos tendem a se distribuir igualmente entre os grupos. Em nosso estudo, procuramos realizar os dois tipos de análise e os resultados foram semelhantes.

Retornando ao resultado principal do estudo, no qual não houve diferença estatisticamente significativa entre os Grupo E e E+L em relação à evolução da proteinúria, algumas perguntas surgem e devem ser discutidas.

A primeira delas seria se o resultado observado não decorre simplesmente de um problema de tamanho de amostra, com falta de poder (erro tipo beta). Em nosso cálculo de tamanho de amostra o número estimado de pacientes necessários para a detecção de diferença estatisticamente significativa era de 100 pacientes. Ao longo dos quase 3 anos de recrutamento, conseguimos recrutar 56 participantes. Entretanto, dois argumentos nos fazem acreditar que nossos resultados não estão inadequados em função do tamanho da amostra. Primeiramente, o fato de a diferença na evolução da proteinúria entre os grupos ter sido maior do que a estimada (30%), o que eleva o poder final do estudo. Segundo, o fato de todas as análises multivariadas realizadas terem apontado a mesma direção, sugerindo que o Grupo E+L apresentava desempenho pior em termos de evolução da proteinúria em relação ao Grupo E. Se o tratamento combinado fosse superior ao Grupo E, conforme previa nossa hipótese inicial, deveríamos detectar tanto nos modelos univariados, quanto nos multivariados, uma tendência nesse sentido, o que não ocorreu.

A segunda pergunta seria se os grupos estavam adequadamente equilibrados. Em relação ao pareamento dos grupos, nossos objetivos foram atingidos, com os dois grupos começando o estudo de forma bem equilibrada e comparável. Ao início da segunda fase, novamente não podemos detectar diferença estatisticamente significativa entre os grupos (tanto na análise por intenção de tratamento, quanto na análise apenas nos 38 pacientes que completaram o ensaio). Ao longo do estudo, as três principais variáveis de confusão na relação entre efeito do tratamento e evolução da proteinúria, a saber, a pressão arterial, o *clearance* de creatinina e o controle glicêmico, mantiveram valores médios semelhantes entre os grupos, sem diferença estatisticamente significativa.

A terceira pergunta seria por que o tratamento combinado com enalapril e losartan cursaria com uma piora da proteinúria, se ambas as drogas são amplamente utilizadas por seu efeito renoprotetor e anti-proteinúrico. Em verdade, não temos uma boa explicação para isso. Seria possível que uma diferença em relação ao *clearance* justificasse a diferença em relação à proteinúria. Uma análise recente de um ensaio clínico de tratamento combinado IECA+BRA em insuficiência cardíaca mostrou uma pior evolução dos pacientes sob tratamento combinado em termos de função renal [108]. Interessantemente, os autores mostraram que o tratamento combinado associava-se a uma redução da proteinúria, mas acompanhada por redução significativa do *clearance* de creatinina [109]. Nossos modelos multivariados não sugerem que variações de *clearance* justifiquem as diferenças observadas. Entretanto, mais do que concluir que o tratamento

combinado esteja associado a uma evolução pior de proteinúria, acreditamos que nossos resultados sugiram que em verdade a evolução da proteinúria é semelhante nos dois grupos. Diversos modelos por nós elaborados apresentam uma natureza pouco robusta, com intervalos de confiança bastante amplos. Os modelos têm muitas covariáveis, sem as quais a diferença estatística não é atingida. Assim, o efeito principal que pode ser notado é de uma evolução da proteinúria semelhante entre os dois grupos.

Outro ponto relevante diz respeito às características da população recrutada. Os pacientes incluídos apresentavam ao início do estudo *clearance* de creatinina ao redor de 40 ml/min/1,73m<sup>2</sup> e proteinúria ao redor de 2 g/d/1,73m<sup>2</sup>. Aproximadamente 30% dos pacientes incluídos apresentavam proteinúria em valor nefrótico. A taxa de comorbidades micro e macrovasculares observada foi elevada. Os pacientes eram obesos, com um controle glicêmico e pressórico médio já inadequado ao início. Ao longo do estudo, notamos que uma parcela significativa dos pacientes persistia fora das diretrizes de tratamento de DRC, DM e HAS [1, 110], a despeito de nossas orientações médicas e intervenções terapêuticas. Isto provavelmente reflete tanto o perfil dos pacientes (doença crônica de longa data, aderência às medidas médicas aplicadas, padrão dietético, nível sócio-econômico e educacional), quanto a agressividade da doença de pacientes encaminhados para um hospital terciário. Ainda assim, optamos por manter estes pacientes no protocolo por entendermos que sua exclusão criaria um viés de seleção e por entendermos que essa é a população para a qual desejamos conhecer o

resultado do tratamento proposto. Por outro lado, é possível que a natureza agressiva e progressora da doença renal dos pacientes incluídos tenha tido um impacto fundamental nos resultados observados.

Nos outros estudos realizados com tratamento combinado em ND, este tratamento mostrou-se associado a efeito anti-proteinúrico superior ao do tratamento com IECA apenas. Vale notar que as características dos pacientes incluídos nestes estudos são bastante distintas das características da nossa população, com pacientes com função renal mais preservada e com valores de proteinúria menores. Mogensen *et al* [111] descrevem um efeito de redução de microalbuminúria em pacientes diabéticos, que não foi independente do controle da pressão arterial. Rossing *et al* [99] mostraram que o tratamento combinado foi benéfico em pacientes com *clearance* médio de 70 ml/min/1,73m<sup>2</sup> e albuminúria ao redor de 800 mg/d. Em população mais semelhante à de nosso estudo, composta primordialmente por pacientes com ND, com proteinúria média de 3,6 g/d e creatinina sérica média de 2,0 mg/dL, Agarwal[112] também não encontrou evidência de benefício com tratamento combinado. Assim, estas diferenças nas características das populações recrutadas nos diferentes estudos podem justificar as diferenças observadas em termos de resposta anti-proteinúrica, sugerindo que o tratamento combinado pode ser útil em fases mais precoces da ND, mas não em estágios mais avançados.

Outro dado que foi relevante no estudo foi a taxa final de efeitos colaterais observada, atingindo praticamente o valor de 30%. Diversas considerações cabem aqui. A HK foi observada em aproximadamente 13%

do total de pacientes incluídos. Não houve diferença entre os grupos e, em verdade, muitos pacientes apresentaram este efeito ainda na primeira fase do estudo, na qual apenas o enalapril estava sendo administrado. Todos os pacientes do estudo foram instruídos a seguir uma dieta pobre em potássio, mas não foi realizada nenhuma medida de controle no sentido de checar se estas modificações estavam sendo realmente incorporadas no padrão alimentar do paciente. A taxa por nós observada está acima daquela habitualmente encontrada nos estudos clínicos com monoterapia com IECA ou BRA. Acreditamos que esta diferença seja atribuível às características de nossa população: pacientes com *clearance* de creatinina baixo, possivelmente com uma taxa elevada de hipoadosteronismo hiporreninêmico, além de inadequações no cumprimento da dieta orientada. Por outro lado, este número enfatiza que a hipercalemia é sim um problema na administração destas drogas a pacientes com perda de função mais avançada, principalmente se diabéticos. Vale lembrar que após a publicação do estudo RALES [113], que sugeria um efeito benéfico da administração de espironolactona sobre insuficiência cardíaca, houve um aumento no número de hospitalizações e óbitos por hipercalemia [114]. Um ensaio clínico sempre é uma situação artificial, na qual os pacientes são monitorizados mais rigorosamente do que na prática clínica habitual. Assim, o achado de uma taxa de efeito colateral elevada deve ser valorizado.

Em relação à DAFR, nosso estudo revelou quase 16% de eventos desta modalidade. Apesar de termos determinado *a priori* que esta elevação seria considerada um efeito adverso, indicando a interrupção do protocolo,

não podemos verdadeiramente diferenciar a situação na qual a DAFR é atribuível a um efeito colateral do tratamento, daquela na qual a DAFR é atribuível simplesmente à história natural da doença. Como nosso estudo incluiu pacientes com risco elevado de progressão, a DAFR poderia refletir simplesmente aqueles pacientes com progressão muito rápida. Para responder adequadamente a esta questão, seria necessário um terceiro braço no estudo, apenas com placebo, o que não foi realizado.

Outra consideração diz respeito à transitoriedade da elevação de creatinina. Muitos autores defendem que a introdução ou elevação da dose de drogas inibidoras de angiotensina é comumente acompanhada por elevação inferior a 30% da creatinina sérica, sugerindo que este aumento reflita apenas uma fase aguda e transitória de ajuste da auto-regulação renal. Posteriormente, esse aumento regride, a creatinina sérica retorna a seu valor original e, ao longo do tempo, prepondera o efeito renoprotetor da droga, com desaceleração do processo de perda de RFG. Este foi o motivo pelo qual definimos a DAFR como um critério de suspensão de protocolo apenas quando a elevação da creatinina fosse superior a 30%. Os pacientes que atingissem este critério poderiam estar efetivamente apresentando uma intolerância ao tratamento, sendo correto e ético interromper o uso sistemático e progressivo das drogas e doses previstas no protocolo.

Nos pacientes que apresentaram a DAFR, a elevação da creatinina não foi transitória. Os pacientes que apresentaram este evento não apresentaram redução da creatinina após a suspensão ou redução das drogas e vários iniciaram TRS em período relativamente curto (entre os 9

pacientes com DAFR, 5 iniciaram diálise aproximadamente 1 ano após o término do protocolo, 2 estão atualmente em preparação para iniciar TRS e 2 não têm dados disponíveis por abandono do estudo). O exame de doppler foi solicitado a todos os pacientes com este evento e, naqueles 6 que o realizaram, nenhuma estenose hemodinamicamente significativa foi detectada.

Assim, é bastante plausível supor que entre os 9 pacientes que apresentaram DAFR tenhamos os dois tipos de agressão: tanto aqueles que elevaram sua creatinina rapidamente por serem portadores de uma doença renal já muito avançada, como aqueles que efetivamente pioraram a creatinina após a introdução dos medicamentos.

Outro ponto relevante seria discutir se os incrementos das doses das drogas do protocolo foram feitos muito rapidamente. As mudanças de doses foram feitas, em média, em intervalos de 2 meses. Acreditamos que este tempo seja suficiente para o ajuste da auto-regulação, apesar de não haver estudos que avaliem essa questão em pormenor.

## **5.2. MCP-1**

As análises sobre as concentrações urinária e sérica de MCP-1 revelaram aspectos interessantes. Primeiramente, tanto a taxa de excreção de MCP-1 na urina, quanto sua concentração no soro, mostraram-se significativamente associados à proteinúria. A maioria dos estudos anteriores já revelava que o MCP-1 na urina apresentava uma correlação positiva com

a proteinúria [62, 67, 115]. Mais variável é a relação anteriormente descrita entre MCP-1 no soro e proteinúria, com estudos tanto com resultados positivos [66, 67], quanto negativos [115]. O que gera essa associação? Primeiramente, poderíamos especular que o MCP-1 tenha sua produção aumentada em situações de DRC, uma vez que é uma molécula ativa no processo de sinalização inflamatória da DRC, elevando-se no soro e na urina. Poderíamos também justificar esta associação em decorrência do MCP-1 ser uma proteína de excreção renal, elevando-se em condições de queda na filtração glomerular. Por último, a excreção renal aumentada de MCP-1 na urina poderia decorrer simplesmente do fato do MCP-1 ser uma proteína, elevando sua excreção urinária com as alterações na permeabilidade capilar glomerular.

Alguns autores propõem que a dosagem da citocina na urina seja superior à sua dosagem no soro como variável de associação com a proteinúria. Este efeito supostamente decorreria do fato da excreção urinária refletir melhor a produção parácrina desta citocina no rim do que sua concentração sérica. Entretanto, acreditamos que esta afirmação seja ainda bastante especulativa, sendo mais razoável propor no momento que a excreção urinária possivelmente correlaciona-se à proteinúria mais intensamente do que a dosagem no soro (até porque qualquer proteína de excreção urinária deve ter sua concentração urinária correlacionada à intensidade da proteinúria).

Nosso estudo não foi planejado para responder a estas questões e estabelecer relações de causa e efeito. Entretanto, permite avaliar se a



citocina pode ser utilizada como marcador de risco e de eventos clínicos. Assim, seguimos com as análises no sentido de avaliar se as dosagens de MCP-1 na urina e no soro poderiam ter um papel preditor em relação à evolução clínica dos nossos pacientes.

Na análise sobre o efeito do tratamento, nossos dados revelaram que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Novamente, nos modelos ajustados o Grupo E+L teve uma evolução de MCP-1 urinário estatisticamente pior do que Grupo E. Interessantemente, este efeito mostrou-se mantido, mesmo frente ao ajuste para as variações na proteinúria no mesmo período. Mais do que mostrar que o MCP-1 na urina efetivamente piore com o tratamento combinado E+L, estas análises sugerem que a concentração de MCP-1 reflita um fenômeno biológico que é independente das variações da proteinúria. Se a dosagem de MCP-1 na urina nos informasse apenas o que o aumento ou redução na proteinúria já nos informa, o valor clínico desta mensuração perderia seu significado. Por outro lado, se a dosagem de MCP-1 na urina acrescentar informações na prática clínica, no sentido de predizer riscos, este marcador torna-se mais interessante.

Corroborando estes dados em relação ao efeito do tratamento, nossas análises sobre efeitos adversos e sobre evolução da proteinúria sugerem o mesmo comportamento. Nas análises sobre efeitos adversos, tanto o MCP-1 na urina quanto no soro, dosados ao início do estudo, foram capazes de predizer a ocorrência de efeitos adversos, a saber, hipercalcemia e DAFR. É possível que este efeito esteja associado ao fato de MCP-1

funcionar como marcador de doentes mais graves, nos quais os riscos de progressão e de efeitos adversos com as drogas inibidoras de angiotensina sejam maiores (ou, dito de outra forma, dizer que o MCP-1 é capaz de prever tolerabilidade aos medicamentos em questão). Interessantemente, o modelo *stepwise* sugere que o MCP-1 no soro apresente desempenho superior à sua dosagem na urina como variável preditora destes eventos.

Já na análise sobre evolução da proteinúria ao longo dos 8 meses do estudo, o MCP-1 urinário emergiu como variável preditora independentemente do *clearance* de creatinina e da própria proteinúria basal. Novamente, este dado sugere que MCP-1 na urina correlacione-se com gravidade da doença, identificando aqueles pacientes com maior risco de progressão.

### **5.3. VEGF**

As análises sobre o VEGF dosado na urina e no soro dos pacientes também revelaram dados interessantes. Primeiramente, o VEGF sérico e urinário diferiram claramente quanto à relação com as diversas variáveis renais, como proteinúria, *clearance* de creatinina, evolução da proteinúria e risco de eventos adversos, com a dosagem da urina mostrando-se mais específica do que a do soro. Novamente, poderíamos especular se o VEGF urinário age como marcador destes eventos apenas por ser uma proteína de excreção urinária, informando aquilo que a própria proteinúria já informa, ou

se sua elevação na urina correlaciona-se mais especificamente com o processo de DRC.

Poucos estudos clínicos que avaliaram a relação entre VEGF e nefropatia diabética. Hovind *et al* [79] mostraram que o VEGF no plasma encontra-se elevado precocemente em pacientes com ND, mas sem ser capaz de prever aqueles pacientes com progressão. Nenhuma associação entre VEGF plasmático e albuminúria foi notada no estudo de Shimada [116]. Por sua vez, Chiarelli *et al* [66] mostraram que em população pediátrica com DM tipo 1 o VEGF no plasma correlaciona-se com complicações microvasculares da doença.

Em nosso estudo, em relação ao ensaio clínico propriamente dito, não houve diferença entre os grupos de tratamento na evolução do VEGF. Entretanto, curiosamente, na análise sobre predição de tolerabilidade ao protocolo, o VEGF urinário mostrou-se significativamente relacionado ao risco de eventos adversos. No modelo multivariado, este efeito é perdido, sugerindo que possivelmente o VEGF urinário correlacione-se sim à gravidade da doença, sendo que este efeito é muito provavelmente mediado por sua correlação com proteinúria e *clearance* de creatinina. Em relação à evolução da proteinúria nos 8 meses do estudo, nossos dados sugerem que o VEGF não tenha um papel preditor importante.

#### 5.4. TGF- $\beta$

Apesar de ser uma citocina exaustivamente estudada em estudos experimentais, por ser um dos sinalizadores mais importantes na progressão da DRC, o TGF- $\beta$  foi a citocina que teve o pior desempenho em nosso estudo. Primeiramente, vale notar que as dosagens mostraram-se em valores bastante baixos, principalmente na urina. Este fato pode decorrer tanto de limitações técnicas do ensaio (nas especificações do fabricante, está mencionado que apenas 40% dos pacientes testados apresentavam dosagens detectáveis de TGF- $\beta$  na urina), como ser real em função do comportamento biológico da proteína. Nas análises iniciais, apenas o TGF- $\beta$  urinário mostrou-se relacionado ao grau de proteinúria e, curiosamente, o TGF- $\beta$  no soro mostrou-se positivamente (e não inversamente) relacionado ao *clearance* de creatinina.

Em relação ao efeito do tratamento sobre a excreção urinária de TGF- $\beta$  não detectamos nenhuma diferença entre os grupos ao longo do tempo. O TGF- $\beta$  também não foi uma variável preditora importante nem nas análises de tolerabilidade, nem nas análises de evolução da proteinúria.

Diversos estudos clínicos em ND já avaliaram o papel do TGF- $\beta$  transversalmente, sugerindo que esta citocina na urina tenha uma correlação significativa com a proteinúria [50, 51, 58]. Entretanto, nenhum destes estudos avaliou como o TGF- $\beta$  se comporta em termos de predição da evolução da ND. Além disso, alguns autores sugerem que medidas terapêuticas como bloqueio com IECA ou BRA tenham efeito de redução

sobre a excreção urinária desta proteína, sem entretanto ajustar para o próprio efeito de redução sobre a proteinúria que estas drogas exercem. Apenas um trabalho faz este ajuste, encontrando uma persistência do efeito de tratamento sobre a excreção urinária, independentemente do efeito do tratamento sobre a proteinúria [55]. Assim, mais uma vez, a literatura não deixa claro se esta citocina é um marcador independente de gravidade e de evolução da ND. Nosso estudo, apesar de incluir pacientes com doença renal já avançada, não sugere que a dosagem no sangue ou na urina de TGF- $\beta$  adicione informação clínica relevante, ao menos em termos de evolução da proteinúria.

### **5.5. RBP urinária**

Nos últimos anos, o conhecimento sobre o papel da fibrose túbulo-intersticial como fator prognóstico e possivelmente causal na progressão da DRC cresceu muito. Anteriormente menos valorizada, a região túbulo-intersticial passou a ser vista como um elemento importante na patogênese da DRC. Esta região, frente aos insultos de várias naturezas (metabólico, hemodinâmico, imunológico), é capaz de secretar inúmeros mediadores e citocinas inflamatórias que geram, em última instância, fibrose. Assim, é possível que o estudo sobre marcadores da função tubular e de agressão tubular venha a desempenhar algum papel na prática clínica.

O principal componente da proteinúria é a albumina. A albuminúria final é um resultado entre o grau de passagem de albumina pela barreira

glomerular e a capacidade reabsortiva do túbulo proximal. A proteinúria pode ser composta também, em menor escala, pela presença de proteínas de peso molecular elevado, como imunoglobulinas, transferrina, etc, que passam pela barreira capilar glomerular em condições patológicas que cursem com alteração mais grave da permeabilidade capilar (como ocorre em algumas formas de síndrome nefrótica). Um terceiro componente da proteinúria é a denominada proteinúria tubular, caracterizada por moléculas de baixo peso molecular. A membrana capilar glomerular é parcialmente permeável a essas proteínas de baixo peso molecular, que são habitualmente reabsorvidas no túbulo proximal. Em condições patológicas, esse mecanismo pode ser lesado ou sobrecarregado, gerando a perda urinária dessas proteínas.

Nos últimos 20 anos, a dosagem urinária de algumas proteínas de baixo peso molecular, como a RBP e a beta2-microglobulina, tem sido utilizada como marcador da função do túbulo proximal. Estes marcadores são utilizados tanto no diagnóstico diferencial entre tipos de proteinúria, isto é, de origem glomerular *versus* tubular, como na avaliação de algumas doenças renais como glomerulonefrites [117-122] e em transplante renal [123-125].

Nos anos 80-90, diversos estudos avaliaram o papel de marcadores de túbulo proximal na ND, tanto em fase microalbuminúrica, como macroalbuminúrica. Alguns estudos iniciais revelaram haver correlação entre a presença de microalbuminúria e de proteínas marcadoras de lesão de túbulo proximal, como alfa1-microglobulina, RBP, beta2-microglobulina,

cadeia leve de imunoglobulinas e N-acetil-beta-D-glucosaminidase [126-131]. A correlação positiva notada nestes estudos chegou a sugerir aos pesquisadores que a microalbuminúria em fase precoce da ND pudesse ser de origem tubular e não glomerular [132]. Entretanto, a progressão da doença para a fase macroalbuminúrica, concomitante ao surgimento de lesões histológicas mais graves em glomérulos, sugere que lesão preponderante na ND seja mesmo a de origem glomerular.

A seguir, outros estudos mostraram que a presença na urina de marcadores de função tubular proximal já poderia ser notada em indivíduos diabéticos mesmo em fase normoalbuminúrica [133-136]. Em estudo que avaliou a excreção de RBP em 101 pacientes nas diferentes fases de nefropatia diabética (normais, diabéticos normoalbuminúricos, diabéticos microalbuminúricos e diabéticos macroalbuminúricos), a presença de RBP urinária foi confirmada mesmo nos indivíduos diabéticos normoalbuminúricos [137], sugerindo que a função tubular pudesse desempenhar o papel de um novo fator de risco de ND, com papel independente ao da microalbuminúria. Outros estudos corroboraram este dado [138, 139].

Assim como a microalbuminúria, os marcadores de túbulo proximal também apresentam boa correlação com outros indicadores de mau prognóstico em DM, como controle glicêmico [136, 137] e retinopatia diabética [129, 138]. Um estudo recente avaliando fatores marcadores de disfunção tubular em pacientes diabéticos confirmou o achado de correlação com controle glicêmico [140]. Novamente, a presença de proteinúria tubular

ocorreu tanto em pacientes com microalbuminúria, como em 30% daqueles sem a mesma.

Poucos estudos avaliaram o papel de medidas terapêuticas sobre a proteinúria tubular em ND. O tratamento com drogas anti-hipertensivas causou redução na excreção urinária de alfa1-microglobulina em pacientes diabéticos [141]. O uso de inibidores da ECA também é capaz de reduzir a excreção urinária de proteínas de baixo peso molecular [142], mas os estudos nessa área são pequenos e limitados.

Apesar das evidências sugerindo que marcadores de túbulo proximal possam ser utilizados como fatores de risco para ND, independentemente da presença de microalbuminúria, não há estudos que avaliem o papel preditor destes marcadores em relação à progressão para fases mais avançadas da DRC e/ou necessidade de TRS. Além disso, pouco se sabe sobre a especificidade destes marcadores. Epidemiologicamente, marcadores muito precoces podem apresentar a desvantagem de serem influenciados por muitas variáveis e guardarem, ao final, correlação ruim com o risco real de doença. A relação custo-benefício desta estratégia também não é conhecida e vale notar que os ensaios de proteínas de baixo peso molecular ainda têm custo elevado.

Em nosso estudo, a RBP urinária mostrou-se uma variável de comportamento bastante interessante. Primeiramente, apresenta uma correlação clara tanto com proteinúria, como com *clearance* de creatinina, conforme já descrito. Em relação ao protocolo, não notamos diferença na evolução da RBP na urina entre os dois grupos de tratamento. Mais



relevante, entretanto, foi o papel desta proteína como variável preditora tanto da tolerabilidade ao protocolo, quanto da evolução da proteinúria. Principalmente em relação a esta última análise, a RBP urinária mostrou ser capaz de prever os pacientes que agravam sua proteinúria com o tempo independentemente do *clearance* e proteinúria basais. Ora, essa informação sugere que a RBP urinária, à semelhança do observado para o MCP-1, seja uma variável mais específica em ND, possivelmente correlacionando-se com gravidade da doença e com risco de progressão.

## **5.6. Considerações finais**

O desfecho principal de nosso estudo foi o efeito do tratamento sobre a proteinúria. O mesmo desfecho vem sendo utilizado em inúmeros estudos clínicos, como vimos anteriormente. No entanto, tal estratégia tem suas limitações. Apesar de ter emergido como o principal marcador de progressão e de resposta terapêutica, atrás somente do próprio *clearance* de creatinina, a proteinúria não é o desfecho que interessa efetivamente em termos de prevenção. O marcador ideal seria a própria função renal. Como a doença renal é lenta e até mesmo pouco freqüente na população geral, estudos que utilizem a função renal como meta principal precisam ser multicêntricos, com número significativo de participantes e com períodos de seguimento muito longos. Tais estudos são caros e acabam sendo realizados apenas pelas indústrias farmacêuticas e pelas grandes agências financiadoras de pesquisa, principalmente nos Estados Unidos. A utilização da proteinúria

como marcador intermediário torna-se a solução para a maioria dos autores, mas pode trazer algumas armadilhas. Conforme já comentado, recentemente um ensaio de terapia combinada revelou que este tratamento não era superior à monoterapia com IECA ou BRA [108]. Entretanto, estes autores observaram um aumento significativo em eventos de diálise e duplicação da creatinina no grupo com tratamento combinado em relação aos outros dois grupos, apesar de ter sido observado uma redução estatisticamente significativa da proteinúria nesse mesmo grupo [109]. Este problema torna-se particularmente relevante quando as drogas em questão têm efeitos simultâneos sobre proteinúria e *clearance*, como é o caso de IECA, BRA, ciclosporina e tacrolimus, drogas habituais e fundamentais em doenças renais. Assim, cuidados devem ser tomados nas análises no sentido de verificar e ajustar para eventuais efeitos de oscilação sobre o *clearance*.

Infelizmente, apesar de ser um assunto exaustivamente estudado, as formas atuais de estimativas do RFG ainda são tecnicamente limitadas, com muita imprecisão. Os métodos mais precisos, como o *clearance* de inulina e a depuração de radioisótopos, são ainda caros, pouco disponíveis e laboriosos para sua utilização freqüente na prática clínica. Em nosso estudo, utilizamos a creatinina, o *clearance* estimado de creatinina pela fórmula de Cockcroft-Gault e o *clearance* de creatinina de 24 horas como medidas da função renal. Sabemos que estas medidas são provavelmente superestimadas, ainda mais se contarmos com a freqüência de obesidade e edema da população por nós recrutada. Além disso, a própria utilização de

medidas repetidas com estes métodos pouco precisos pode gerar valores menos confiáveis. Em nossas análises, não há diferença na evolução do *clearance* de creatinina entre os grupos. Nosso estudo não teria o poder para esta análise, nem foi desenhado para responder a esta questão. Entretanto, respostas mais conclusivas sobre novas medidas de prevenção para a progressão da DRC precisam ser avaliadas em ensaios clínicos maiores, que tenham a função renal como desfecho principal.

Outro aspecto importante seria discutir se nosso estudo teve um resultado negativo por ter incluído uma população tão progressora, com doença tão avançada, que as medidas de prevenção tornam-se ineficazes. Este argumento é muito plausível. É bem possível que a terapia combinada tenha sim um papel em fases mais precoces da doença e que deva ser recomendada nesses doentes. Entretanto, se o mesmo tratamento tem efeitos tão distintos em subpopulações de pacientes com a mesma doença, é preciso que criemos formas de identificar essas subpopulações, esclarecendo seu perfil de comportamento frente às intervenções terapêuticas. Quase invariavelmente, o nefrologista atende pacientes com doença renal mais avançada e que têm efetivamente risco muito elevado de tornarem-se dependentes de TRS ou de apresentarem eventos cardiovasculares. Os pacientes com as formas mais leves da DRC e com menor risco de progressão encontram-se habitualmente sob os cuidados de clínicos gerais, endocrinologistas e cardiologistas. As informações médicas precisam ser geradas levando-se em consideração todos estes sub-grupos de pacientes. Nosso estudo provavelmente reflete esta população com DRC

mais progressora, mas gera respostas interessantes para esta população de risco muito elevado.

Uma última discussão diz respeito aos biomarcadores. Qual a sua importância? Devemos persistir estudando estas e outras citocinas? Não basta a proteinúria? Todas essas questões são relevantes e certamente não podem ser totalmente respondidas pelas análises realizadas em nosso ensaio. Precisamos sim de novos marcadores, pois as duas medidas atualmente utilizadas têm limitações. A creatinina e seu *clearance* são muito úteis e utilizados, mas, como vimos, pouco precisos e tardios. A proteinúria ou albuminúria são muito importantes, marcadores específicos, mas perdem provavelmente muito de seu valor preditivo em formas mais avançadas da doença (interessantemente, em nossas análises de predição, a proteinúria não permaneceu nos modelos como variável relevante). Em indivíduos com valores nefróticos de proteinúria, há muito variabilidade de valores, tanto intra-individuais (por exemplo, medidas de dias seguidos), como inter-individuais. O valor da proteinúria também é extremamente variável em relação ao grau de hipoalbuminemia (provavelmente variáveis como capacidade de síntese hepática, inflamação, condição nutricional contribuem para esta variabilidade). Por tudo isso, é bastante plausível supor que novos marcadores seriam úteis no sentido de ajudar a identificar de pacientes com risco maior de progressão, aqueles pacientes candidatos a medidas terapêuticas mais específicas, pacientes com risco maior de efeitos colaterais de tratamentos, além de ajudar na avaliação da própria resposta terapêutica.

Entre as diversas citocinas avaliadas na literatura e aquelas por nós estudadas, nenhuma tem aplicabilidade clínica imediata. Novos estudos são necessários no sentido de avaliar melhor e em populações maiores seu potencial real de identificação de pacientes de risco e de perfil de resposta terapêutica. Entretanto, nosso estudo sugere que o MCP-1 (no soro e na urina) e a RBP urinária possam desempenhar esse papel, devendo ser alvo de novos estudos.

## 6. CONCLUSÕES

1. O tratamento combinado com IECA e BRA não teve efeito anti-proteinúrico superior ao do tratamento com IECA isoladamente.

2. O tratamento combinado não reduziu a excreção urinária de citocinas inflamatórias (MCP-1, VEGF e TGF- $\beta$ ) de forma superior ao tratamento com IECA isoladamente.

3. Apesar de não haver diferença entre os grupos em termos de incidência de eventos adversos (HK e DAFR), observamos uma taxa global de eventos superior ao esperado, possivelmente em função dos pacientes incluídos terem uma doença renal já avançada.

4. O MCP-1 (soro e urina) e RBP urinária são potenciais variáveis preditoras independentes de progressão da proteinúria e de tolerabilidade ao tratamento com IECA e BRA, possivelmente por correlacionaram-se à gravidade da doença.

## **7 . Referências Bibliográficas**

---

---

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. KDOQI Clinical Practice Guidelines and Clinical Practice Recommendations for Diabetes and Chronic Kidney Disease. *Am J Kidney Dis* 49:S12-154, 2007
2. Iseki K: Chronic kidney disease in Japan. *Intern Med* 47:681-689, 2008
3. Go AS, Chertow GM, Fan D, *et al.*: Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Engl J Med* 351:1296-1305, 2004
4. Anavekar NS, McMurray JJ, Velazquez EJ, *et al.*: Relation between renal dysfunction and cardiovascular outcomes after myocardial infarction. *N Engl J Med* 351:1285-1295, 2004
5. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. *N Engl J Med* 329:977-986, 1993
6. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. *Lancet* 352:837-853, 1998
7. Perkins BA, Ficociello LH, Silva KH, *et al.*: Regression of microalbuminuria in type 1 diabetes. *N Engl J Med* 348:2285-2293, 2003
8. Gerstein HC, Mann JF, Yi Q, *et al.*: Albuminuria and risk of cardiovascular events, death, and heart failure in diabetic and nondiabetic individuals. *Jama* 286:421-426, 2001
9. Hillege HL, Fidler V, Diercks GF, *et al.*: Urinary albumin excretion predicts cardiovascular and noncardiovascular mortality in general population. *Circulation* 106:1777-1782, 2002
10. Wirta O, Helin H, Mustonen J, *et al.*: Renal findings and glomerular pathology in diabetic subjects. *Nephron* 84:236-242, 2000



11. Xue JL, Ma JZ, Louis TA, *et al.*: Forecast of the number of patients with end-stage renal disease in the United States to the year 2010. *J Am Soc Nephrol* 12:2753-2758, 2001
12. Coresh J, Astor BC, Greene T, *et al.*: Prevalence of chronic kidney disease and decreased kidney function in the adult US population: Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Kidney Dis* 41:1-12, 2003
13. Zatz R, Romao JE, Jr.: End-stage renal failure and national resources: the Brazilian experience. *Ren Fail* 28:627-629, 2006
14. Adler AI, Stevens RJ, Manley SE, *et al.*: Development and progression of nephropathy in type 2 diabetes: the United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS 64). *Kidney Int* 63:225-232, 2003
15. Foley RN, Collins AJ: End-stage renal disease in the United States: an update from the United States Renal Data System. *J Am Soc Nephrol* 18:2644-2648, 2007
16. Zatz R, Romao JE, Jr., Noronha IL: Nephrology in Latin America, with special emphasis on Brazil. *Kidney Int Suppl*:S131-134, 2003
17. Atkins RC: The epidemiology of chronic kidney disease. *Kidney Int Suppl*:S14-18, 2005
18. Hostetter TH, Olson JL, Rennke HG, *et al.*: Hyperfiltration in remnant nephrons: a potentially adverse response to renal ablation. *Am J Physiol* 241:F85-93, 1981
19. Zatz R, Dunn BR, Meyer TW, *et al.*: Prevention of diabetic glomerulopathy by pharmacological amelioration of glomerular capillary hypertension. *J Clin Invest* 77:1925-1930, 1986
20. Komers R, Anderson S: Paradoxes of nitric oxide in the diabetic kidney. *Am J Physiol Renal Physiol* 284:F1121-1137, 2003
21. Anderson S, Meyer TW, Rennke HG, *et al.*: Control of glomerular hypertension limits glomerular injury in rats with reduced renal mass. *J Clin Invest* 76:612-619, 1985
22. Zatz R, Meyer TW, Rennke HG, *et al.*: Predominance of hemodynamic rather than metabolic factors in the pathogenesis of diabetic glomerulopathy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 82:5963-5967, 1985

23. Klahr S, Levey AS, Beck GJ, *et al.*: The effects of dietary protein restriction and blood-pressure control on the progression of chronic renal disease. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *N Engl J Med* 330:877-884, 1994
24. Brenner BM, Meyer TW, Hostetter TH: Dietary protein intake and the progressive nature of kidney disease: the role of hemodynamically mediated glomerular injury in the pathogenesis of progressive glomerular sclerosis in aging, renal ablation, and intrinsic renal disease. *N Engl J Med* 307:652-659, 1982
25. Rosenberg ME, Chmielewski D, Hostetter TH: Effect of dietary protein on rat renin and angiotensinogen gene expression. *J Clin Invest* 85:1144-1149, 1990
26. Cartwright ME, Jaenke RS: Effects of dietary protein and captopril on glomerular permselectivity in rats with unilateral nephrectomy. *Lab Invest* 59:492-499, 1988
27. Anderson S, Rennke HG, Brenner BM: Therapeutic advantage of converting enzyme inhibitors in arresting progressive renal disease associated with systemic hypertension in the rat. *J Clin Invest* 77:1993-2000, 1986
28. Remuzzi A, Puntorieri S, Battaglia C, *et al.*: Angiotensin converting enzyme inhibition ameliorates glomerular filtration of macromolecules and water and lessens glomerular injury in the rat. *J Clin Invest* 85:541-549, 1990
29. Lewis EJ, Hunsicker LG, Bain RP, *et al.*: The effect of angiotensin-converting-enzyme inhibition on diabetic nephropathy. The Collaborative Study Group. *N Engl J Med* 329:1456-1462, 1993
30. Bjorck S, Mulec H, Johnsen SA, *et al.*: Renal protective effect of enalapril in diabetic nephropathy. *Bmj* 304:339-343, 1992
31. Maschio G, Alberti D, Janin G, *et al.*: Effect of the angiotensin-converting-enzyme inhibitor benazepril on the progression of chronic renal insufficiency. The Angiotensin-Converting-Enzyme Inhibition in Progressive Renal Insufficiency Study Group. *N Engl J Med* 334:939-945, 1996
32. Brenner BM, Cooper ME, de Zeeuw D, *et al.*: Effects of losartan on renal and cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes and nephropathy. *N Engl J Med* 345:861-869, 2001

33. Parving HH, Lehnert H, Brochner-Mortensen J, *et al.*: The effect of irbesartan on the development of diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med* 345:870-878, 2001
34. Lewis EJ, Hunsicker LG, Clarke WR, *et al.*: Renoprotective effect of the angiotensin-receptor antagonist irbesartan in patients with nephropathy due to type 2 diabetes. *N Engl J Med* 345:851-860, 2001
35. Agarwal R: Proinflammatory effects of oxidative stress in chronic kidney disease: role of additional angiotensin II blockade. *Am J Physiol Renal Physiol* 284:F863-869, 2003
36. Makita Z, Yanagisawa K, Kuwajima S, *et al.*: Advanced glycation endproducts and diabetic nephropathy. *J Diabetes Complications* 9:265-268, 1995
37. Wendt T, Tanji N, Guo J, *et al.*: Glucose, glycation, and RAGE: implications for amplification of cellular dysfunction in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 14:1383-1395, 2003
38. Dunlop M: Aldose reductase and the role of the polyol pathway in diabetic nephropathy. *Kidney Int Suppl* 77:S3-12, 2000
39. Abbate M, Zoja C, Corna D, *et al.*: In progressive nephropathies, overload of tubular cells with filtered proteins translates glomerular permeability dysfunction into cellular signals of interstitial inflammation. *J Am Soc Nephrol* 9:1213-1224, 1998
40. Wang Y, Chen J, Chen L, *et al.*: Induction of monocyte chemoattractant protein-1 in proximal tubule cells by urinary protein. *J Am Soc Nephrol* 8:1537-1545, 1997
41. Donadelli R, Abbate M, Zanchi C, *et al.*: Protein traffic activates NF- $\kappa$ B gene signaling and promotes MCP-1-dependent interstitial inflammation. *Am J Kidney Dis* 36:1226-1241, 2000
42. Hill GS, Delahousse M, Nochy D, *et al.*: Proteinuria and tubulointerstitial lesions in lupus nephritis. *Kidney Int* 60:1893-1903, 2001
43. Morigi M, Macconi D, Zoja C, *et al.*: Protein overload-induced NF- $\kappa$ B activation in proximal tubular cells requires H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> through a PKC-dependent pathway. *J Am Soc Nephrol* 13:1179-1189, 2002

44. Keane WF, Brenner BM, de Zeeuw D, *et al.*: The risk of developing end-stage renal disease in patients with type 2 diabetes and nephropathy: the RENAAL study. *Kidney Int* 63:1499-1507, 2003
45. Cattran DC: Idiopathic membranous glomerulonephritis. *Kidney Int* 59:1983-1994, 2001
46. Donadio JV, Bergstralh EJ, Grande JP, *et al.*: Proteinuria patterns and their association with subsequent end-stage renal disease in IgA nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 17:1197-1203, 2002
47. Zandi-Nejad K, Eddy AA, Glasscock RJ, *et al.*: Why is proteinuria an ominous biomarker of progressive kidney disease? *Kidney Int Suppl*:S76-89, 2004
48. Remuzzi G, Chiurciu C, Ruggenenti P: Proteinuria predicting outcome in renal disease: nondiabetic nephropathies (REIN). *Kidney Int Suppl*:S90-96, 2004
49. Ziyadeh FN: Mediators of diabetic renal disease: the case for tgf-Beta as the major mediator. *J Am Soc Nephrol* 15 Suppl 1:S55-57, 2004
50. Gilbert RE, Akdeniz A, Allen TJ, *et al.*: Urinary transforming growth factor-beta in patients with diabetic nephropathy: implications for the pathogenesis of tubulointerstitial pathology. *Nephrol Dial Transplant* 16:2442-2443, 2001
51. Rivarola EW, Moyses-Neto M, Dantas M, *et al.*: Transforming growth factor beta activity in urine of patients with type 2 diabetes and diabetic nephropathy. *Braz J Med Biol Res* 32:1525-1528, 1999
52. Ellis D, Forrest KY, Erbey J, *et al.*: Urinary measurement of transforming growth factor-beta and type IV collagen as new markers of renal injury: application in diabetic nephropathy. *Clin Chem* 44:950-956, 1998
53. Sharma K, Eltayeb BO, McGowan TA, *et al.*: Captopril-induced reduction of serum levels of transforming growth factor-beta1 correlates with long-term renoprotection in insulin-dependent diabetic patients. *Am J Kidney Dis* 34:818-823, 1999
54. Houlihan CA, Akdeniz A, Tsalamandris C, *et al.*: Urinary transforming growth factor-beta excretion in patients with hypertension, type 2 diabetes, and elevated albumin excretion rate: effects of angiotensin

receptor blockade and sodium restriction. *Diabetes Care* 25:1072-1077, 2002

55. Agarwal R, Siva S, Dunn SR, *et al.*: Add-on angiotensin II receptor blockade lowers urinary transforming growth factor-beta levels. *Am J Kidney Dis* 39:486-492, 2002
56. Janickova Zdarska D, Zavadova E, Kvapil M: The effect of ramipril therapy on cytokines and parameters of incipient diabetic nephropathy in patients with type 1 diabetes mellitus. *J Int Med Res* 35:374-383, 2007
57. Woo V, Ni LS, Hak D, *et al.*: Effects of losartan on urinary secretion of extracellular matrix and their modulators in type 2 diabetes mellitus patients with microalbuminuria. *Clin Invest Med* 29:365-372, 2006
58. Song JH, Cha SH, Lee HJ, *et al.*: 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* 21:683-689, 2006
59. Ruster C, Wolf G: The role of chemokines and chemokine receptors in diabetic nephropathy. *Front Biosci* 13:944-955, 2008
60. Tesch GH: MCP-1/CCL2: a new diagnostic marker and therapeutic target for progressive renal injury in diabetic nephropathy. *Am J Physiol Renal Physiol* 294:F697-701, 2008
61. Wada T, Yokoyama H, Matsushima K, *et al.*: Monocyte chemoattractant protein-1: does it play a role in diabetic nephropathy? *Nephrol Dial Transplant* 18:457-459, 2003
62. Wada T, Furuichi K, Sakai N, *et al.*: Up-regulation of monocyte chemoattractant protein-1 in tubulointerstitial lesions of human diabetic nephropathy. *Kidney Int* 58:1492-1499, 2000
63. Saitoh A, Suzuki Y, Takeda M, *et al.*: Urinary levels of monocyte chemoattractant protein (MCP)-1 and disease activity in patients with IgA nephropathy. *J Clin Lab Anal* 12:1-5, 1998
64. Morii T, Fujita H, Narita T, *et al.*: Increased urinary excretion of monocyte chemoattractant protein-1 in proteinuric renal diseases. *Ren Fail* 25:439-444, 2003

65. Morii T, Fujita H, Narita T, *et al.*: Association of monocyte chemoattractant protein-1 with renal tubular damage in diabetic nephropathy. *J Diabetes Complications* 17:11-15, 2003
66. Chiarelli F, Cipollone F, Mohn A, *et al.*: Circulating monocyte chemoattractant protein-1 and early development of nephropathy in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 25:1829-1834, 2002
67. Takebayashi K, Matsumoto S, Aso Y, *et al.*: Association between circulating monocyte chemoattractant protein-1 and urinary albumin excretion in nonobese Type 2 diabetic patients. *J Diabetes Complications* 20:98-104, 2006
68. Grandaliano G, Gesualdo L, Bartoli F, *et al.*: MCP-1 and EGF renal expression and urine excretion in human congenital obstructive nephropathy. *Kidney Int* 58:182-192, 2000
69. Amann B, Tinzmann R, Angelkort B: ACE inhibitors improve diabetic nephropathy through suppression of renal MCP-1. *Diabetes Care* 26:2421-2425, 2003
70. Eremina V, Cui S, Gerber H, *et al.*: Vascular endothelial growth factor a signaling in the podocyte-endothelial compartment is required for mesangial cell migration and survival. *J Am Soc Nephrol* 17:724-735, 2006
71. Eremina V, Sood M, Haigh J, *et al.*: Glomerular-specific alterations of VEGF-A expression lead to distinct congenital and acquired renal diseases. *J Clin Invest* 111:707-716, 2003
72. Schrijvers BF, Flyvbjerg A, Tilton RG, *et al.*: Pathophysiological role of vascular endothelial growth factor in the remnant kidney. *Nephron Exp Nephrol* 101:e9-15, 2005
73. Stillman IE, Karumanchi SA: The glomerular injury of preeclampsia. *J Am Soc Nephrol* 18:2281-2284, 2007
74. Eremina V, Jefferson JA, Kowalewska J, *et al.*: VEGF inhibition and renal thrombotic microangiopathy. *N Engl J Med* 358:1129-1136, 2008
75. Honkanen EO, Teppo AM, Gronhagen-Riska C: Decreased urinary excretion of vascular endothelial growth factor in idiopathic membranous glomerulonephritis. *Kidney Int* 57:2343-2349, 2000

76. Honkanen E, von Willebrand E, Koskinen P, *et al.*: Decreased expression of vascular endothelial growth factor in idiopathic membranous glomerulonephritis: relationships to clinical course. *Am J Kidney Dis* 42:1139-1148, 2003
77. Tilton RG, Kawamura T, Chang KC, *et al.*: Vascular dysfunction induced by elevated glucose levels in rats is mediated by vascular endothelial growth factor. *J Clin Invest* 99:2192-2202, 1997
78. de Vriese AS, Tilton RG, Elger M, *et al.*: Antibodies against vascular endothelial growth factor improve early renal dysfunction in experimental diabetes. *J Am Soc Nephrol* 12:993-1000, 2001
79. Hovind P, Tarnow L, Oestergaard PB, *et al.*: Elevated vascular endothelial growth factor in type 1 diabetic patients with diabetic nephropathy. *Kidney Int Suppl* 75:S56-61, 2000
80. Cha DR, Kim NH, Yoon JW, *et al.*: Role of vascular endothelial growth factor in diabetic nephropathy. *Kidney Int Suppl* 77:S104-112, 2000
81. Chaturvedi N, Fuller JH, Pokras F, *et al.*: Circulating plasma vascular endothelial growth factor and microvascular complications of type 1 diabetes mellitus: the influence of ACE inhibition. *Diabet Med* 18:288-294, 2001
82. Kelly DJ, Buck D, Cox AJ, *et al.*: Effects on protein kinase C-beta inhibition on glomerular vascular endothelial growth factor expression and endothelial cells in advanced experimental diabetic nephropathy. *Am J Physiol Renal Physiol* 293:F565-574, 2007
83. Kakizawa H, Itoh Y, Imamura S, *et al.*: Possible role of VEGF in the progression of kidney disease in streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats: effects of an ACE inhibitor and an angiotensin II receptor antagonist. *Horm Metab Res* 36:458-464, 2004
84. Huang XR, Chen WY, Truong LD, *et al.*: Chymase is upregulated in diabetic nephropathy: implications for an alternative pathway of angiotensin II-mediated diabetic renal and vascular disease. *J Am Soc Nephrol* 14:1738-1747, 2003
85. Barnett AH, Bain SC, Bouter P, *et al.*: Angiotensin-receptor blockade versus converting-enzyme inhibition in type 2 diabetes and nephropathy. *N Engl J Med* 351:1952-1961, 2004

86. Lacourciere Y, Belanger A, Godin C, *et al.*: Long-term comparison of losartan and enalapril on kidney function in hypertensive type 2 diabetics with early nephropathy. *Kidney Int* 58:762-769, 2000
87. Laverman GD, Remuzzi G, Ruggenenti P: ACE inhibition versus angiotensin receptor blockade: which is better for renal and cardiovascular protection? *J Am Soc Nephrol* 15 Suppl 1:S64-70, 2004
88. Fujihara CK, Velho M, Malheiros DM, *et al.*: An extremely high dose of losartan affords superior renoprotection in the remnant model. *Kidney Int* 67:1913-1924, 2005
89. Schmieder RE, Klingbeil AU, Fleischmann EH, *et al.*: Additional antiproteinuric effect of ultrahigh dose candesartan: a double-blind, randomized, prospective study. *J Am Soc Nephrol* 16:3038-3045, 2005
90. Shargorodsky M, Hass E, Boaz M, *et al.*: High dose treatment with angiotensin II receptor blocker in patients with hypertension: differential effect of tissue protection versus blood pressure lowering. *Atherosclerosis* 197:303-310, 2008
91. Rossing K, Schjoedt KJ, Jensen BR, *et al.*: Enhanced renoprotective effects of ultrahigh doses of irbesartan in patients with type 2 diabetes and microalbuminuria. *Kidney Int* 68:1190-1198, 2005
92. Russo D, Minutolo R, Pisani A, *et al.*: Coadministration of losartan and enalapril exerts additive antiproteinuric effect in IgA nephropathy. *Am J Kidney Dis* 38:18-25, 2001
93. Kincaid-Smith P, Fairley K, Packham D: Randomized controlled crossover study of the effect on proteinuria and blood pressure of adding an angiotensin II receptor antagonist to an angiotensin converting enzyme inhibitor in normotensive patients with chronic renal disease and proteinuria. *Nephrol Dial Transplant* 17:597-601, 2002
94. Ferrari P, Marti HP, Pfister M, *et al.*: Additive antiproteinuric effect of combined ACE inhibition and angiotensin II receptor blockade. *J Hypertens* 20:125-130, 2002
95. Wolf G, Ritz E: Combination therapy with ACE inhibitors and angiotensin II receptor blockers to halt progression of chronic renal



- disease: pathophysiology and indications. *Kidney Int* 67:799-812, 2005
96. Luno J, Barrio V, Goicoechea MA, *et al.*: Effects of dual blockade of the renin-angiotensin system in primary proteinuric nephropathies. *Kidney Int Suppl*:S47-52, 2002
  97. Jacobsen P, Andersen S, Rossing K, *et al.*: Dual blockade of the renin-angiotensin system versus maximal recommended dose of ACE inhibition in diabetic nephropathy. *Kidney Int* 63:1874-1880, 2003
  98. Jacobsen P, Andersen S, Jensen BR, *et al.*: Additive effect of ACE inhibition and angiotensin II receptor blockade in type I diabetic patients with diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 14:992-999, 2003
  99. Rossing K, Christensen PK, Jensen BR, *et al.*: Dual blockade of the renin-angiotensin system in diabetic nephropathy: a randomized double-blind crossover study. *Diabetes Care* 25:95-100, 2002
  100. Nakao N, Yoshimura A, Morita H, *et al.*: Combination treatment of angiotensin-II receptor blocker and angiotensin-converting-enzyme inhibitor in non-diabetic renal disease (COOPERATE): a randomised controlled trial. *Lancet* 361:117-124, 2003
  101. Kunz R, Wolbers M, Glass T, *et al.*: The COOPERATE trial: a letter of concern. *Lancet* 371:1575-1576, 2008
  102. Carey RM, Siragy HM: Newly recognized components of the renin-angiotensin system: potential roles in cardiovascular and renal regulation. *Endocr Rev* 24:261-271, 2003
  103. Kucharewicz I, Pawlak R, Matys T, *et al.*: Angiotensin-(1-7): an active member of the renin-angiotensin system. *J Physiol Pharmacol* 53:533-540, 2002
  104. Arima S, Ito S: New insights into actions of the renin-angiotensin system in the kidney: concentrating on the Ang II receptors and the newly described Ang-(1-7) and its receptor. *Semin Nephrol* 21:535-543, 2001
  105. Goncalves AR, Fujihara CK, Mattar AL, *et al.*: Renal expression of COX-2, ANG II, and AT1 receptor in remnant kidney: strong

- renoprotection by therapy with losartan and a nonsteroidal anti-inflammatory. *Am J Physiol Renal Physiol* 286:F945-954, 2004
106. Pereira AB, Nishida SK, Vieira JG, *et al.*: Monoclonal antibody-based immunoenzymometric assays of retinol-binding protein. *Clin Chem* 39:472-476, 1993
  107. Newell DJ: Intention-to-treat analysis: implications for quantitative and qualitative research. *Int J Epidemiol* 21:837-841, 1992
  108. Yusuf S, Teo KK, Pogue J, *et al.*: Telmisartan, ramipril, or both in patients at high risk for vascular events. *N Engl J Med* 358:1547-1559, 2008
  109. Mann JF, Schmieder RE, McQueen M, *et al.*: Renal outcomes with telmisartan, ramipril, or both, in people at high vascular risk (the ONTARGET study): a multicentre, randomised, double-blind, controlled trial. *Lancet* 372:547-553, 2008
  110. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis* 39:S1-266, 2002
  111. Mogensen CE, Neldam S, Tikkanen I, *et al.*: 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* 321:1440-1444, 2000
  112. Agarwal R: Add-on angiotensin receptor blockade with maximized ACE inhibition. *Kidney Int* 59:2282-2289, 2001
  113. Effectiveness of spironolactone added to an angiotensin-converting enzyme inhibitor and a loop diuretic for severe chronic congestive heart failure (the Randomized Aldactone Evaluation Study [RALES]). *Am J Cardiol* 78:902-907, 1996
  114. Juurlink DN, Mamdani MM, Lee DS, *et al.*: Rates of hyperkalemia after publication of the Randomized Aldactone Evaluation Study. *N Engl J Med* 351:543-551, 2004
  115. Banba N, Nakamura T, Matsumura M, *et al.*: Possible relationship of monocyte chemoattractant protein-1 with diabetic nephropathy. *Kidney Int* 58:684-690, 2000

116. Shimada K, Baba T, Neugebauer S, *et al.*: Plasma vascular endothelial growth factor in Japanese Type 2 diabetic patients with and without nephropathy. *J Diabetes Complications* 16:386-390, 2002
117. Bazzi C, Petrini C, Rizza V, *et al.*: Urinary N-acetyl-beta-glucosaminidase excretion is a marker of tubular cell dysfunction and a predictor of outcome in primary glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant* 17:1890-1896, 2002
118. Sesso R, Santos AP, Nishida SK, *et al.*: Prediction of steroid responsiveness in the idiopathic nephrotic syndrome using urinary retinol-binding protein and beta-2-microglobulin. *Ann Intern Med* 116:905-909, 1992
119. Sesso R, Rettori R, Nishida S, *et al.*: Assessment of lupus nephritis activity using urinary retinol-binding protein. *Nephrol Dial Transplant* 9:367-371, 1994
120. Bazzi C, D'Amico G: The urinary excretion of IgG and alpha1-microglobulin predicts renal outcome and identifies patients deserving treatment in membranous nephropathy. *Kidney Int* 61:2276, 2002
121. Bazzi C, Petrini C, Rizza V, *et al.*: A modern approach to selectivity of proteinuria and tubulointerstitial damage in nephrotic syndrome. *Kidney Int* 58:1732-1741, 2000
122. Kirsztajn GM, Nishida SK, Silva MS, *et al.*: Urinary retinol-binding protein as a prognostic marker in glomerulopathies. *Nephron* 90:424-431, 2002
123. Donadio C, Puccini R, Lucchesi A, *et al.*: Urinary excretion of proteins and tubular enzymes in renal transplant patients. *Ren Fail* 20:707-715, 1998
124. Hosaka B, Park SI, Felipe CR, *et al.*: Predictive value of urinary retinol binding protein for graft dysfunction after kidney transplantation. *Transplant Proc* 35:1341-1343, 2003
125. Camara NO, Silva MS, Nishida S, *et al.*: Proximal tubular dysfunction is associated with chronic allograft nephropathy and decreased long-term renal-graft survival. *Transplantation* 78:269-275, 2004

126. Galanti LM, Jamart J, Dell'omo J, *et al.*: Comparison of urinary excretion of albumin, alpha 1-microglobulin and retinol-binding protein in diabetic patients. *Diabetes Metab* 22:324-330, 1996
127. Walton C, Bodansky HJ, Wales JK, *et al.*: Tubular dysfunction and microalbuminuria in insulin dependent diabetes. *Arch Dis Child* 63:244-249, 1988
128. Gibb DM, Tomlinson PA, Dalton NR, *et al.*: Renal tubular proteinuria and microalbuminuria in diabetic patients. *Arch Dis Child* 64:129-134, 1989
129. Nielsen NV, Holm J, Hemmingsen L: Diabetic retinopathy related to degree of albuminuria and tubular (low molecular weight) proteinuria in insulin-dependent (type I) diabetes mellitus. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 68:270-274, 1990
130. Watts GF, Powell M, Rowe DJ, *et al.*: Low-molecular-weight proteinuria in insulin-dependent diabetes mellitus: a study of the urinary excretion of beta 2-microglobulin and retinol-binding protein in alkalinized patients with and without microalbuminuria. *Diabetes Res* 12:31-36, 1989
131. Pontuch P, Toserova E, Vozar J, *et al.*: 24-h ambulatory blood pressure, daytime and nighttime urinary albumin and retinol-binding protein excretion in type I diabetic patients. *J Diabetes Complications* 9:234-236, 1995
132. Fletcher JA, Crockson RA, Mijovic C, *et al.*: Low molecular weight proteinuria in insulin-dependent diabetes. *Diabetes Res* 3:203-206, 1986
133. Rowe DJ, Anthony F, Polak A, *et al.*: Retinol binding protein as a small molecular weight marker of renal tubular function in diabetes mellitus. *Ann Clin Biochem* 24 ( Pt 5):477-482, 1987
134. Holm J, Hemmingsen L, Nielsen NV: Relationship between the urinary excretion of albumin and retinol-binding protein in insulin-dependent diabetics. *Clin Chim Acta* 177:101-105, 1988
135. Holm J, Hemmingsen L, Nielsen NV, *et al.*: Increased urinary excretion of the retinol-binding protein in insulin-dependent diabetes mellitus in the absence of microalbuminuria. *Clin Chim Acta* 170:345-349, 1987

136. Salem MA, el-Habashy SA, Saeid OM, *et al.*: Urinary excretion of n-acetyl-beta-D-glucosaminidase and retinol binding protein as alternative indicators of nephropathy in patients with type 1 diabetes mellitus. *Pediatr Diabetes* 3:37-41, 2002
137. Pontuch P, Jensen T, Deckert T, *et al.*: Urinary excretion of retinol-binding protein in type 1 (insulin-dependent) diabetic patients with microalbuminuria and clinical diabetic nephropathy. *Acta Diabetol* 28:206-210, 1992
138. Holm J, Nielsen NV, Hemmingsen L: Retinopathy in type II diabetes mellitus associated with above-normal urinary excretion of RBP. *Kidney Int Suppl* 47:S105-108, 1994
139. Ardron M, Macfarlane IA, Martin P, *et al.*: Urinary excretion of albumin, alpha-1-microglobulin, and N-acetyl-B-D-glucosaminidase in relation to smoking habits in diabetic and nondiabetic subjects. *J Diabet Complications* 3:154-157, 1989
140. Hong CY, Hughes K, Chia KS, *et al.*: Urinary alpha1-microglobulin as a marker of nephropathy in type 2 diabetic Asian subjects in Singapore. *Diabetes Care* 26:338-342, 2003
141. Jungmann E, Malanyn M, Mortasawi N, *et al.*: Effect of 1-year treatment with nitrendipine versus enalapril on urinary albumin and alpha 1-microglobulin excretion in microalbuminuric patients with type 1 diabetes mellitus. A randomized, single-blind comparative study. *Arzneimittelforschung* 44:313-317, 1994
142. Basturk T, Altuntas Y, Kurklu A, *et al.*: Urinary N-acetyl B glucosaminidase as an earlier marker of diabetic nephropathy and influence of low-dose perindopril/indapamide combination. *Ren Fail* 28:125-128, 2006

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)