

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS:
ENDOCRINOLOGIA

**EFEITO DA RETIRADA DAS DROGAS INIBIDORAS DA ENZIMA
CONVERSORA DA ANGIOTENSINA SOBRE A FUNÇÃO RENAL
EM PACIENTES COM DIABETE MELITO TIPO 2 COM E SEM
NEFROPATIA DIABÉTICA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Alice Hoefel Nunes

Porto Alegre, 18 de dezembro de 2009

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS:
ENDOCRINOLOGIA

**EFEITO DA RETIRADA DAS DROGAS INIBIDORAS DA ENZIMA
CONVERSORA DA ANGIOTENSINA SOBRE A FUNÇÃO RENAL
EM PACIENTES COM DIABETE MELITO TIPO 2 COM E SEM
NEFROPATIA DIABÉTICA**

Alice Hoefel Nunes

Orientadora: Prof. Dra. Themis Zelmanovitz

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Endocrinologia.

Porto Alegre, 18 de dezembro de 2009

SUMÁRIO

1.Agradecimentos	v
2.Lista de Tabelas e Figuras	vi
3.Lista de Abreviaturas	vii
4.Artigo de revisão	
4.a. Resumo.....	10
4.b.Introdução.....	11
4.c. Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona	12
4.d. Papel do SRAA na patogênese e fisiopatologia da Nefropatia Diabética.....	15
4.e. Tratamento da Nefropatia Diabética.....	17
Evidências clínicas do benefício das drogas que atuam no SRAA.....	19
Inibidores da enzima conversora da angiotensina.....	19
Antagonistas do receptor da angiotensina.....	21
Bloqueio duplo do Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona.....	24
Antagonistas da aldosterona.....	25
Antagonistas da renina.....	25
4.f. Peculiaridades do bloqueio do SRAA.....	26
4.g. Conclusão.....	28
4.h. Referências Bibliográficas.....	30
5.Artigo original.	
5.a. Abstract.....	39
5.b.Introduction.....	41
5.c. Research design and methods.....	42

Patients	42
Clinical evaluation.....	4
Laboratory measurements.....	44
Statistical analysis.....	45
5.d.Results.....	45
Patient characteristics.....	45
Effects of ACEI withdrawal on UAER and GFR.....	46
Blood pressure levels, glycaemic control and lipid profile during the protocol.....	47
Conclusions.....	48
References	58

AGRADECIMENTOS

À professora Themis Zelmanovitz, por orientar minha tese, assim como meu caminho na Endocrinologia, desde que tive o primeiro contato com esta área.

Aos colegas Tanara Weiss, Ana Luiza dos Santos e Tiago Shuch por toda ajuda.

Às alunas de iniciação científica Renata Farion, Lívia Bonilha, Gabriela Seeger, Carla Bloom, Melissa Zandonai e Larissa Schneider pela indispensável colaboração no atendimento dos pacientes e realização dos procedimentos do estudo com responsabilidade e dedicação.

“Às minhas famílias”, que me ajudaram a chegar até aqui.

Ao pai e mestre Mauro Bohrer, por guiar meu caminho médico e ajudar na minha criação e da minha filha. Nesta tese, por ficar com a Isadora todas as vezes em que precisei estudar, que não foram poucas.

À minha mãe, pelo apoio irrestrito e amor incondicional e pelo exemplo em todas as áreas da minha vida.

Ao Juglans pelo apoio e incentivo em todos os momentos. Pelo exemplo de retidão, de cuidado, de trabalho, de afeto e, principalmente, de fé.

À Isadora, por tudo.

Muito Obrigada.

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Artigo de revisão

Figura 1: Desenho esquemático do Sistema Renina –Angiotensina- Aldosterona.....29

Artigo original

Table 1. Baseline clinical and laboratory characteristics of type 2 diabetic patients.....53

Table 2. UAER values (mg/24-h) of type 2 diabetic patients of the intervention and control group during run in and protocol period.....54

Table 3. Multiple regression analysis of relationship between UAER increment in eighth week after ACEI withdrawal and interfering factors on UAER in type 2 diabetic patients55

Table 4. Blood pressure and glycaemic control of type 2 diabetic patients of intervention and control group during the protocol.....56

Figure 1. Flow of Patients.....57

LISTA DE ABREVIATURAS:

ACEI	<i>Angiotensin converting enzyme inhibitors</i>
ARA	antagonistas do receptor da angiotensina II
ARB	<i>Angiotensin blocker</i>
A1c	A1c Test
DETAIL	Diabetics Exposed to Telmisartan and Enalapril
ECA	enzima conversora da angiotensina
ESDR	<i>End stage renal disease</i>
EUA	excreção urinária de albumina
DM	Diabetes melito ou <i>Diabetes Mellitus</i>
DN	<i>Diabetic Nephropathy</i>
DR	<i>Diabetic Retinopathy</i>
GFR	<i>Glomerular filtration rate</i>
HPLC	<i>High performance liquid chromatography</i>
IDNT-study	<i>Irbesartan in Diabetic Nephropathy –study</i>
IRMA	<i>Irbesartan in Patients with Type 2 Diabetes and Microalbuminuria study -</i>
JNC VII	<i>Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure</i>
MICRO-HOPE	<i>Heart Outcomes Prevention Evaluation Study</i>
MDRD	<i>Modification of Diet in Renal Disease</i>
ND	Nefropatia Diabética
ONTARGET	Ongoing Telmisartan Alone and in Combination with Ramipril Global Endpoint Trial

RENAAL-study	<i>Reduction of endpoints in NIDDM with the Angiotensin II agonist Losartan –study</i>
SD	<i>Standard deviation</i>
SRAA	sistema renina-angiotensina-aldosterona
TFG	taxa de filtração glomerular
TGFβ1	<i>transforming grow factor β1</i>
TRANCEND	<i>Telmisartan Randomised Assesment Study in ACE Intolerant Subjects with Cardiovascular Disease</i>
UAER	<i>Urinary albumin excretion rate</i>
UKPDS	<i>United Kingdom Prospective Diabetes Study</i>
VEGF	fator de crescimento vascular endotelial
WHO	<i>World Health Organization</i>

**Papel do Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona na Patogênese e
Tratamento da Nefropatia Diabética**

**Título em inglês: The Role of Renin-Angiotensin-Aldosterone system in
the Pathogenesis and Treatment of Diabetic Nephropathy**

Título resumido: Nefropatia Diabética e Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona

Alice Hoefel Nunes, MD

Tanara Weiss, MD

Themis Zelmanovitz, MD, PHD

¹ Serviço de Endocrinologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Endereço para correspondência:

Themis Zelmanovitz

Serviço de Endocrinologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Rua Ramiro Barcelos 2350, Prédio 12, 4º andar, 90035-003, Porto Alegre, RS, Brasil.

E-mail: themis.voy@terra.com.br

Fone: + 55 51 33598127 Fax: + 55 51 3359 8777.

Resumo

A Nefropatia Diabética (ND) é a principal causa de doença renal terminal e parece resultar de uma interação entre suscetibilidade genética e fatores ambientais. Tanto no desenvolvimento como na progressão da ND, tem sido evidente o papel do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA). A renina age sobre o angiotensinogênio para formar a angiotensina I, que sofre transformação em angiotensina II através da ação da enzima conversora da angiotensina. A angiotensina II é um potente hormônio trófico e vasoconstritor e é mediador central no dano renal do diabetes, além de estimular a secreção de aldosterona. A diminuição da pressão arterial apresenta benefícios para a ND independentemente do agente utilizado. As drogas que alteram o SRAA, porém, têm efeito de diminuir a pressão arterial e diminuir a excreção urinária de albumina. O objetivo deste artigo é discutir o papel do SRAA na fisiopatogenia da ND, seu envolvimento nos diversos estágios da lesão renal e a partir deste conhecimento, todas as opções disponíveis de tratamento.

Introdução

A Nefropatia Diabética (ND) é a principal causa de doença renal terminal em pacientes ingressando em tratamento substitutivo renal tanto em países desenvolvidos (1) como no Brasil (2). A presença de diabetes melito (DM) aumenta em 12 vezes o risco de insuficiência renal crônica (3). No Rio Grande do Sul, cerca de 26% dos pacientes em hemodiálise tem ND, sendo a sua sobrevida média de apenas 26 meses (2). Na presença de microalbuminúria, se não tratada, oitenta por cento dos pacientes com DM tipo 1 e 20 a 40% dos pacientes com DM tipo 2 vão progredir para nefropatia clínica em 15 anos (4). Além disso, a ND está associada a um importante aumento de mortalidade, principalmente relacionada à doença cardiovascular (5,6).

A ND se caracteriza pelo progressivo aumento na excreção urinária de albumina (EUA) e pelo declínio na taxa de filtração glomerular (TFG), o que ocorre em associação com um aumento na pressão arterial, evoluindo para a insuficiência renal crônica terminal (7). As alterações da função renal se desenvolvem como consequência de anormalidades estruturais, incluindo espessamento da membrana basal glomerular, expansão mesangial com acúmulo de matriz extracelular, diminuição do número e/ou da densidade dos podócitos, glomeruloesclerose e fibrose túbulo-intersticial.

A ND parece resultar de uma interação entre a suscetibilidade genética e fatores ambientais. A observação de grupos familiares com ND e da influência da variação racial no desenvolvimento das complicações renais sugere a presença de fatores genéticos (8). Entre os fatores não genéticos, estão envolvidos fatores metabólicos (hiperglicemia, dislipidemia) e hemodinâmicos (hiperperfusão glomerular, elevação dos níveis pressóricos). Outros fatores também considerados de risco para a ND são: valores iniciais da EUA, tabagismo e fatores alimentares (como a quantidade e fonte das proteínas e gorduras da dieta) (5). Os mecanismos celulares e moleculares através dos

quais estes fatores agem sobre o rim são bem descritos. A ativação das principais vias de sinalização intracelular e de fatores de transcrição desencadeia a produção e liberação de citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento que mediam e/ou amplificam o dano renal. Dentro deste cenário, o sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) tem assumido um papel preponderante. As alterações hormonais, hemodinâmicas e a interação do SRAA com as modificações metabólicas (exemplo: hiperglicemia) presentes no DM são responsáveis por parte significativa do desenvolvimento e da progressão da ND (4). Como consequência disto, entre as medidas terapêuticas hoje propostas, as drogas que atuam no SRAA têm se destacado para o manejo da ND.

Este artigo visa revisar as características do SRAA, o seu papel na patogênese da ND e, a partir deste conhecimento descrever todas as opções disponíveis de tratamento.

Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona

O SRAA foi descrito em 1898 e, desde então, estudado detalhadamente. O desenho esquemático do SRAA está na Figura 1.

O angiotensinogênio é uma proteína de produção hepática cuja conversão para a angiotensina I ocorre através da ação da renina. A renina é produzida por vários tecidos, mas principalmente pelas células justaglomerulares da arteríola aferente, a partir da clivagem da pró-renina. A renina fica estocada em grânulos secretórios nestas células até o estímulo para sua secreção por secretagogos específicos (9). A pró-renina é também secretada na circulação sistêmica, onde constitui 50-90 % da renina total circulante. O papel fisiológico da pró-renina não é claro, pois ela parece não ter efeito hemodinâmico sistêmico direto. A pró-renina parece estar implicada na patogênese da proteinúria (10).

O controle da liberação da renina fica por conta de: 1-barorreceptores na parede da arteríola aferente (estimulados pela diminuição da pressão de perfusão neste local); 2-receptores cardíacos e receptores arteriais sistêmicos (que ativam o sistema nervoso simpático, resultando em aumento das catecolaminas); 3-estimulação direta de receptores β_1 nas células justaglomerulares; 4-células da mácula densa (estimuladas por reduções na concentração de sódio e cloro no fluido tubular); e 5-fatores humorais (angiotensina II, peptídeo natriurético atrial e potássio sérico). A secreção de renina aumenta nas situações em que há diminuição de sódio tubular como na estenose de artéria renal e fica suprimida em situações nas quais ocorre aumento de pressão de perfusão renal como na hipertensão e com dietas ricas em sódio, quando ocorre expansão do volume extracelular (9). A hipoperfusão renal, produzida por hipotensão ou hipovolemia e o aumento da atividade do sistema nervoso simpático são os maiores estímulos fisiológicos para a secreção de renina.

A angiotensina I ainda não tem função biológica definida (9). Ela sofre transformação em angiotensina II através da ação da enzima conversora da angiotensina (ECA). Apesar da concentração da ECA ser maior nos pulmões, sabe-se atualmente que existem diversos locais de produção de angiotensina II como rim, adrenal e endotélio vascular (11). A ECA tem a capacidade de clivar diversos dipeptídeos além da angiotensina I, como a bradicinina, encefalinas e substância P. A bradicinina tem seus níveis diminuídos pela ECA e aumentados pelos inibidores da ECA. Têm a capacidade de diminuir a pressão arterial através da liberação de óxido nítrico.

Os efeitos vasculares e renais da angiotensina II ocorrem via o receptor AT1. Tais efeitos são: vasoconstrição, proliferação do músculo liso, hipertrofia cardíaca, reabsorção de sódio e água, síntese de aldosterona e ativação do sistema nervoso

simpático (12). Também já se identificaram receptores AT₂, mas as ações moduladas por eles ainda não foram totalmente detalhadas (13).

A angiotensina II determina a constrição das arteríolas aferente e eferente (12), com possível intermediação do tromboxano A₂. A arteríola eferente, por ter um raio menor, ao contrair, acarreta efeitos vasoconstritores até três vezes maiores, causando aumento da pressão glomerular (efeito potencializado principalmente em situações de perda da auto-regulação renal como no DM). A meia-vida da angiotensina II é inferior a 1 minuto, devido à susceptibilidade à ação de angiotensinases localizadas em diversos tecidos do corpo (9). Já foi identificada outra enzima conversora, a ECA₂, que cliva a angiotensina I em uma outra via da angiotensina e possui propriedades vasodilatadoras, sugerindo um efeito de contrabalanço com as propriedades vasoconstritoras da angiotensina II (6).

A angiotensina II causa retenção de sódio através do aumento da sua absorção no túbulo proximal e aumento do transporte de sódio no túbulo coletor decorrente do estímulo da aldosterona. Além disso, a angiotensina II é responsável pela liberação da aldosterona na camada glomerulosa da adrenal.

A aldosterona atua primariamente no nefron distal para aumentar a reabsorção de sódio e cloro e a secreção de potássio e hidrogênio. Os sítios primários de ação da aldosterona são túbulo conector e os túbulos coletores. Como efeitos extra-renais, a aldosterona reduz a concentração de sódio e aumenta a de potássio nas secreções colônicas e salivares e no suor, efeitos de importância fisiológica limitada.

A aldosterona age com maior latência que a angiotensina II (14). Os efeitos deletérios da estimulação exacerbada da aldosterona são semelhantes aos da angiotensina II. Ela está associada à depleção de potássio, ao aumento de matriz extracelular glomerular, remodelamento e diminuição do relaxamento vascular,

aumento da inflamação, aumento da atividade simpática, diminuição da atividade parassimpática, diminuição da produção de óxido nítrico, aumento da adesão plaquetária e hipertrofia e fibrose miocárdica (14).

A aldosterona tem um importante papel na manutenção do volume e do balanço de potássio através do seu efeito sobre a excreção do cloreto de sódio e do potássio. Portanto, a angiotensina II (cuja produção varia inversamente com o volume) e a elevação da concentração do potássio sérico são os principais estímulos da secreção da aldosterona (12). Em menor grau, a secreção de aldosterona pode ser também estimulada pelo ACTH e pela presença de hiponatremia, e inibida pela dopamina, pelo peptídeo natriurético atrial e pela heparina (9).

Papel do SRAA na patogênese e fisiopatologia da Nefropatia Diabética

A angiotensina II é um potente hormônio trófico e vasoconstritor e é mediador central no dano renal do DM. Ela participa dos diversos estágios da lesão renal, tanto através de mecanismos hemodinâmicos como estruturais, direta e indiretamente.

Mecanismos hemodinâmicos e metabólicos estão envolvidos no desenvolvimento e progressão da ND. Dentre os mecanismos hemodinâmicos destacam-se a hiperperusão e hiperfiltração glomerulares. O aumento do fluxo plasmático glomerular (hiperperusão) e o aumento da pressão hidráulica resultam na hiperfiltração glomerular. A presença da hiperglicemia leva também a disfunção da auto-regulação da pressão capilar glomerular. Na presença de aumento da pressão arterial, esta não deveria ser transmitida ao glomérulo, que ficaria protegido através da constrição principalmente da arteríola aferente. No DM, através de citocinas vasodilatadoras, este mecanismo de proteção não ocorre. Ocorre, portanto, uma menor resistência na arteríola aferente comparada à arteríola eferente. Neste contexto, a

ativação do SRAA contribui para contrair a arteríola eferente (mais sensível aos seus efeitos), aumentar a pressão intraglomerular, levando, portanto ao dano renal (4).

Quanto aos mecanismos metabólicos, a hiperglicemia tem papel crucial no desenvolvimento da ND pelos seus efeitos nas células glomerulares e mesangiais. Sua presença é fator necessário, mas não suficiente para causar o dano renal. A interação entre os níveis elevados de glicose, a angiotensina II e o TGF- β 1 estimula a expressão do fator de crescimento vascular endotelial (VEGF), com conseqüente aumento da síntese de óxido nítrico endotelial. Esta ação promove a vasodilatação e hiperfiltração renais (4).

Nas células mesangiais, os fatores de crescimento e citocinas, estimulados pela angiotensina II, causam hipertrofia e hiperplasia celular e acúmulo da matriz extracelular (4). A angiotensina II também aumenta a produção de colágeno via fatores de crescimento e diminuição da expressão de nefrina (6).

A ativação do SRAA e o aumento da expressão dos receptores AT1 também levam a maior apoptose dos podócitos. Estas células atuam no aumento da produção da matriz extracelular e na alteração da permeabilidade da barreira de filtração (4).

Além dos fatores hemodinâmicos e metabólicos, fatores genéticos também estão envolvidos na patogênese da ND. A questão genética da ND se acredita ser poligênica. Polimorfismos, inserções e deleções de diferentes genes, principalmente do SRAA, são extensivamente estudados e parecem contribuir para o desenvolvimento da ND. A associação da presença do alelo D no polimorfismo do gene da ECA e a ND tem sido bem demonstrada (15). Também tem sido observado que pacientes com DM tipo 2, nefropatia clínica e genótipo DD apresentam respostas anti-proteinúricas diferenciadas às drogas inibidoras da ECA quando comparados aos pacientes com os genótipos ID e II (16). Estes dados sugerem que possivelmente a abordagem terapêutica nestes

pacientes deva ser diferente. Além do gene da ECA, outros polimorfismos como o do receptor da angiotensina II e angiotensinogênio também têm sido associados à presença de microalbuminúria (17).

Além do comprometimento glomerular, a ND também se caracteriza pela presença de alterações tubulares. A tubulopatia diabética é caracterizada por diversas alterações funcionais e estruturais tais como a hipertrofia tubuloepitelial, a transição de células epiteliais para mesenquimais e o acúmulo de glicogênio. A presença da tubulopatia diabética parece estar bem correlacionada com a progressão da ND (18). A angiotensina II e os fatores de crescimento estimulados por ela estão também entre os fatores implicados na gênese das alterações tubulares, especialmente no estímulo direto da hipertrofia tubular.

Tratamento da Nefropatia Diabética

Após a instalação da ND, os objetivos principais do tratamento são evitar a evolução para insuficiência renal crônica terminal e reduzir mortalidade total e cardiovascular (5). A redução da albuminúria tem sido muito utilizada como objetivo secundário, sendo considerada como um desfecho substituto (19). O tratamento deve consistir na abordagem dos fatores de risco bem definidos para a progressão da ND. Entre eles: hiperglicemia, hipertensão, dislipidemia, tabagismo, anemia e valores aumentados da albuminúria (20). Todos são também importantes fatores de risco cardiovascular e devem ser tratados de forma agressiva.

Entre as ferramentas terapêuticas, a diminuição da pressão arterial é uma das principais medidas por apresentar importantes benefícios tanto sobre a desaceleração da progressão da ND, como sobre a redução de eventos cardiovasculares, independente do agente utilizado (21, 22). O tratamento do controle pressórico tem como meta atingir níveis de pressão arterial igual ou inferior a 130/80 mm Hg nos pacientes com DM em

geral e igual ou abaixo 125/75 mm Hg nos pacientes com ND (23). Recentemente, foi sugerido atingir níveis ainda menores de pressão arterial, por estarem associados a uma maior renoproteção (24). Estes parâmetros parecem difíceis de atingir, principalmente em pacientes com ND já estabelecida, como mostra uma análise pos-hoc do estudo *Irbesartan Diabetic Nephropathy Trial*, onde apenas 30% dos pacientes atingiram a pressão arterial sistólica alvo de até 135 mm Hg, a despeito do uso de três ou mais drogas (25). Portanto, várias classes de drogas são utilizadas considerando que o mais importante é alcançar estes alvos estabelecidos (26). Dentro deste cenário, a recomendação do *Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure* (JNC VII) (23) é sempre iniciar o tratamento anti-hipertensivo nos pacientes com DM com a utilização dos inibidores da ECA e/ou dos antagonistas do receptor da angiotensina II (ARA), por serem drogas que atuam no SRAA e apresentarem um efeito nefroprotetor bem estabelecido, posteriormente associando-as a outros anti-hipertensivos.

Além dos inibidores da ECA e dos ARA, outras drogas que atuam no SRAA também têm sido estudadas quanto ao seu efeito nefroprotetor, tais como os bloqueadores da renina e da aldosterona cada um agindo em diferentes locais do SRAA (figura 1), mas todos visando diminuição ou bloqueio de sua atividade (27, 28).

Independente da sua utilização no tratamento da hipertensão, as drogas que atuam no SRAA têm demonstrado um efeito nefroprotetor, mesmo nos pacientes com DM e normotensos, que parece ser independente do controle pressórico. Os mecanismos propostos para o efeito nefroprotetor do bloqueio do SRAA, independentemente da redução da pressão arterial são: 1-redução da pressão intraglomerular por dilatação das arteríolas pós glomerulares; 2-aumento do tamanho e da seletividade da barreira

intraglomerular; e 3-diminuição de fatores de crescimento relacionados com a hiperperusão e hiperfiltração (4).

A seguir serão revisadas as evidências científicas do benefício destas drogas no tratamento da ND e salientadas peculiaridades mais relevantes sobre o bloqueio do SRAA.

Evidências clínicas do benefício das drogas que atuam no SRAA

Inibidores da enzima conversora da angiotensina

Os inibidores da ECA são um subproduto de veneno de cobra e estão entre as primeiras drogas descritas que atuam bloqueando o SRAA. As evidências a favor do seu uso no tratamento da ND já são descritas há mais de 10 anos.

As drogas inibidoras da ECA têm mostrado benefício tanto na prevenção (29) como na progressão da ND (30). Quando à prevenção da ND, existem estudos realizados tanto em pacientes com DM tipo 1, mostrando que estas drogas são capazes de retardar o aumento da albuminúria (31) como em pacientes com DM tipo 2, nos quais a utilização do enalapril propiciou o menor declínio da função renal e retardou o aumento da albuminúria (32)

Quanto à progressão de micro para macroalbuminúria, o benefício das drogas inibidoras da ECA também tem sido evidente tanto nos pacientes com DM tipo 1 (19, 33) como naqueles com DM tipo 2 (19, 34). Em pacientes com DM tipo 1, normotensos e com microalbuminúria, uma meta-análise realizada com 12 estudos demonstrou que a utilização das drogas inibidoras da ECA proporcionou uma redução de 60% na progressão de micro para macroalbuminúria, aumentou em três vezes a razão de chance de regressão para normoalbuminúria e foi associada a uma redução dos valores de albuminúria de 50% após 2 anos de tratamento, quando comparada ao grupo que recebeu placebo (33). Em pacientes com DM tipo 2 e microalbuminúria, em 1996,

Ravid e col (32) realizaram um ensaio clínico duplo-cego no qual compararam o efeito do enalapril com o do placebo sobre a função renal, durante 5 anos de acompanhamento. Durante este estudo, observou-se que 18% dos pacientes submetidos ao enalapril tiveram um aumento progressivo da albuminúria, chegando a níveis de macroalbuminúria, comparados aos 60% do grupo controle. Em pacientes com DM, independente do tipo, o estudo MICRO-HOPE (*Heart Outcomes Prevention Evaluation Study*) (35) demonstrou também que a utilização dos inibidores da ECA foi associada a uma redução no risco de instalação da ND clínica em 24 %, além de uma diminuição dos valores de albuminúria. A utilização dos inibidores da ECA visa não somente reduzir o risco de desenvolvimento e progressão da ND, mas também diminuir a ocorrência de desfechos cardiovasculares, como evidenciado também neste estudo, quando se observou uma redução de 37% dos eventos cardiovasculares. Uma metanálise recentemente publicada, que analisou 49 estudos realizados com um total de 12.067 pacientes com DM tipo 1 e tipo 2 e com ND, demonstrou que os inibidores da ECA utilizados em doses máximas foram associados a menor mortalidade por todas as causas, comparados a placebo ou ausência de tratamento (30). Neste estudo também se observou que a utilização dos inibidores da ECA propiciou uma diminuição de progressão de micro para macroalbuminúria em 45%, uma proporção de pacientes com regressão para normoalbuminúria três vezes maior, quando comparada ao grupo controle, e uma diminuição da progressão para doença renal terminal em 40% (30).

A maioria dos estudos que inicialmente analisaram a utilização das drogas inibidoras da ECA no tratamento da ND, o fizeram comparando estas drogas com placebo, devido à ausência de um tratamento já estabelecido na ocasião (36). No entanto o seu efeito nefroprotetor também já foi analisado comparando com outras drogas anti-hipertensivas. O estudo de Chan e col. (37) mostrou que o enalapril foi superior a

nifedipina em pacientes com DM tipo 2, tanto quanto a redução da albuminúria nos pacientes normo e microalbuminúricos, como quanto a desaceleração da perda de função renal, nos pacientes macroalbuminúricos.

Assim como nas fases iniciais da ND, o benefício dos inibidores da ECA também têm sido evidente nas fases mais avançadas desta complicação (38,39). Em 1993, um estudo multicêntrico que comparou captopril com placebo em 409 pacientes com DM tipo 1 e proteinúria clínica, demonstrou redução de 48 % no risco de dobrar a creatinina, sendo maior o efeito quanto mais alto o valor de creatinina. (38).

Antagonistas do receptor da angiotensina

Os ARA são medicamentos que também têm demonstrado benefício no tratamento da ND nos pacientes com DM tipo 2 tanto em fases iniciais como em fases mais avançadas na ND (38, 40). Em pacientes com DM tipo 2 e microalbuminúria (41), o estudo IRMA (*Irbesartan in Patients with Type 2 Diabetes and Microalbuminuria study*) mostrou que o irbesartan, quando comparado ao placebo, teve menor índice de progressão para nefropatia clínica em um acompanhamento de 2 anos. Neste estudo a albuminúria diminuiu 24 e 28 %, respectivamente, com doses de 150 e 300 mg de irbesartan, enquanto no grupo que utilizou placebo a albuminúria teve uma redução de apenas 2 %.

Em fases mais avançadas da ND, os ARA também têm mostrado benefício independente do controle pressórico. No estudo *RENAAL (Reduction of endpoints in NIDDM with the Angiotensin II agonist Losartan -study)* (42), realizado com 1513 pacientes com DM tipo 2 e ND clínica, o uso de losartan por um período de aproximadamente 3 anos foi associado a uma diminuição do risco de dobrar a creatinina, a redução do declínio da taxa de filtração glomerular e do risco de entrada em tratamento de substituição renal, assim como a uma diminuição de 35% da

proteinúria, quando comparado com placebo, mesmo quando ajustado para a queda da pressão arterial do grupo tratado.

Os ARA são medicamentos que podem postergar a progressão de micro para macroalbuminúria em pacientes com DM tipo 2 hipertensos da mesma forma que os IECA. Estudando as duas classes de drogas em conjunto, as evidências até o momento mostraram eficácia equivalente. Duas metanálises recentemente publicadas mostraram que tanto IECA quanto os ARA apresentavam semelhante redução de risco de doença renal terminal comparados ao placebo, assim como diminuição semelhante de progressão de micro para macroalbuminúria com aumento de taxa de regressão para normoalbuminúria. As duas classes de drogas foram comparadas apenas em poucos pacientes, ou não foram sequer comparadas nestes aspectos. Outra metanálise com pacientes diabéticos e não diabéticos, que comparava ARA com IECA e outras drogas, também mostrou redução semelhante de proteinúria entre os dois tipos de medicamentos (30, 43). No estudo DETAIL (*Diabetics Exposed to Telmisartan and Enalapril*) (44) que comparou as duas medicações durante cinco anos, também ocorreram desfechos semelhantes em relação à EUA, creatinina sérica, pressão arterial e taxas de progressão para doença renal terminal. O desfecho primário, a alteração na TFG, foi discretamente diferente entre as duas drogas, sendo a menor queda registrada com IECA (valor que não foi significativo). Desta forma, é recomendado seu uso, sem preferência por grupo, para todos os pacientes com microalbuminúria, mesmo que normotensos (34). Nos pacientes com macroalbuminúria e insuficiência renal, estas drogas tem sido apontada como a primeira escolha para diminuir a progressão da ND (19).

Além disso, os ARA também são uma alternativa para pacientes que não toleram os IECA. O efeito dos ARA sobre a excreção de proteínas pode ser notado sete dias

após o início do tratamento, e pode persistir depois (45) O seu efeito parece ser independente da redução da pressão arterial (46) e a magnitude do seu efeito é proporcional a dose, mesmo além das doses necessárias para controle da pressão (47). Porém, em pacientes com alto risco vascular (cardiopatia isquêmica ou diabetes com dano em órgão alvo), intolerantes aos IECA, o estudo TRANCEND (*Telmisartan Randomised Assessment Study in ACE Intolerant Subjects with Cardiovascular Disease*) (48) não demonstrou benefício do telmisartan em comparação com placebo em relação a desfechos do ponto de vista renal, exceto menor progressão da albuminúria em 5 anos.

Entretanto, recentemente, um ensaio clínico randomizado multicêntrico de 5 anos, envolvendo 285 pacientes com DM tipo 1 normotensos e normoalbuminúricos, não observou diferença entre as alterações estruturais em biópsias realizadas em pacientes que utilizavam losartan (100 mg/dia) ou enalapril (20 mg/dia) comparados a placebo (49). Além disso, a incidência cumulativa de microalbuminúria em cinco anos foi 17% no grupo com losartan, maior que o grupo placebo (6%, $P=0,01$). O grupo com enalapril apresentou uma incidência similar (4%, $P=0,96$) ao grupo placebo.

O efeito do ARA sobre a redução da EUA independente dos níveis pressóricos também foi analisada na comparação com outros anti-hipertensivos. Na comparação de valsartan com anlodipina (50), ocorreu maior diminuição da EUA (para níveis 44% abaixo da faixa basal no grupo valsartan e 8% com anlodipina). Mais pacientes reverteram para normoalbuminúria no grupo do ARA comparado com os do grupo dos bloqueadores do canal do cálcio (29,9% vs 14,5%).

Baseado em todos os dados que demonstram outros efeitos além dos hemodinâmicos para angiotensina II, como estímulo de fatores de crescimento, disfunção endotelial e fibrogênese, o grupo de Andersen e col (51) testou a hipótese de um efeito antiproteinúrico mais persistente ou irreversível dos ARA. Observaram que

após suspensão de 300 mg de irbesartan, por 1 mês, a albuminúria persistia com redução de 47 % comparada com placebo e com irbesartan 150 mg. Durante os 24 meses de estudo de comparação destes tratamentos, a EUA diminuiu 8 %, 34 % e 60 % com placebo, 150 mg e 300 mg de irbesrtan, respectivamente.

Bloqueio duplo do Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona

Baseado no achado de escape renal aos efeitos dos IECA e dos ARA, têm sido testados uso de duas ou mais drogas para ação sinérgica no bloqueio do SRAA como demonstrado em estudo de Hollenberg e col (52). Neste, foram testados IECA, ARA e inibidores da renina, demonstrando, no primeiro grupo de medicações, uma resposta vasodilatadora renal menor do que nos outros grupos. A hipótese seria de que apenas uma parte da angiotensina I seria convertida em angioensina II pela ECA, sendo outra parte convertida por outra rota enzimática, quimase-dependente. Também se especula que a progressão da doença pode ser lentificada, mas não totalmente bloqueada em muitos pacientes devido à dificuldade de se atingir níveis pressóricos com apenas uma classe destes medicamentos, assim como a possibilidade que os efeitos em nível renal possam demandar doses mais altas de inibidores do SRAA do que as atualmente recomendadas (53). Em outro estudo de comparação de dose máxima de IECA contra as duas drogas em combinação, em dose menor do IECA, a pressão arterial não foi diferente nos dois grupos (54).

O bloqueio do SRAA com a combinação do IECA e do ARA foi testado no estudo de Rossing e col (55), no qual foi avaliada a adição de candesartan ou placebo para pacientes em dose máxima de IECA. Foi observada uma diminuição significativa da microalbuminúria, com diminuição não significativa de pressão arterial. A adição de candesartan, porém, causou redução, ainda que não significativa, da taxa de filtração glomerular nas oito semanas de teste do duplo bloqueio.

Numa meta-análise que incluiu 6181 pacientes, foi demonstrado que com a combinação de ambas as drogas a diminuição da proteinúria foi maior do que com a monoterapia (com cada uma) (43). Porém, no recentemente publicado estudo ONTARGET (Ongoing Telmisartan Alone and in Combination with Ramipril Global Endpoint Trial), a comparação da monoterapia com a terapia combinada de telmisartan e ramipril em 5620 pacientes com doença aterosclerótica ou diabetes já com complicações, demonstrou que a terapia combinada teve pior efeito sobre função renal a longo-prazo. Apesar de reduzir mais a proteinúria do que a monoterapia, a combinação das duas medicações foi associada ao maior número de desfechos como diálise, aumento de creatinina e morte (56)

Antagonistas da aldosterona

Apesar de estudada com menos entusiasmo, a espironolactona tem demonstrado efeito sinérgico a outros bloqueadores do SRAA na melhora da função renal. A espironolactona é um antagonista do receptor da aldosterona e tem demonstrado efeitos promissores na melhora da albuminúria. Em pacientes macroalbuminúricos já em uso de IECA ou ARA, sua adição causou diminuição marcada da albuminúria, com diminuição modesta de pressão arterial e maior diminuição da taxa de filtração glomerular, principalmente nos primeiros três meses de tratamento (57).

Em meta-análise com avaliação de 11 estudos, sendo nove deles com pacientes diabéticos (58), o uso de antagonistas da aldosterona também demonstrou redução significativa da proteinúria de 24h, sem alteração significativa da filtração glomerular. Nos casos de uso destas medicações é sempre muito importante monitorar os níveis de potássio, pois o risco de hipercalemia foi 3 x maior.

Antagonistas da renina

Disponível no mercado, o bloqueador direto da renina, alisquereno, tem vários estudos em andamento e já publicados, onde tem demonstrado diminuição da pressão arterial, da albuminúria e da perda de função renal.

O estudo multicêntrico (59), com 599 pacientes comparou a adição de alisquereno ou placebo em pacientes recebendo dose máxima de losartan. A diminuição na albuminúria foi de 20 % no grupo que usou o bloqueio duplo e de 12,5 % nos pacientes com losartan e placebo. A diminuição da pressão arterial foi maior no grupo que usou alisquereno, mas a diferença não foi significativa entre os grupos. O grupo tratado com as duas drogas também teve menor diminuição na taxa de filtração glomerular durante as 24 semanas de tratamento.

Peculiaridades do bloqueio do SRAA

Nem todos os pacientes tratados com inibidores do SRAA respondem ao tratamento, podendo alguns atingir remissão total da doença renal, enquanto outros são menos responsivos. Como listado por Rossing (53), entre os fatores que podem explicar diferenças na resposta ao tratamento estão: diferenças genéticas, diferenças fisiológicas, psicológicas e comportamentais, como má adesão aos medicamentos prescritos, assim como dose inadequada, ou a combinação inadequada de agentes anti-hipertensivos. Também, no caso dos IECA, já foi estudado o bloqueio incompleto do SRAA, possivelmente por geração de angiotensina II por um mecanismo não dependente da enzima conversora da angiotensina, podendo ser relacionado a uma rota quimase dependente (52).

Outro aspecto do efeito nefroprotetor dos IECA e dos ARA, é que este parece ser sustentado apenas enquanto em uso do mesmo. Em um estudo prévio com pacientes com DM tipo 2, hipertensos e proteinúricos, observou-se um aumento de quase 100% dos valores de excreção urinária de albumina após 4 semanas de suspensão dos IECA

(60). Mathiesen e col analisaram o efeito da retirada do IECA em pacientes com DM tipo 1, microalbuminúricos e normotensos e também evidenciaram aumento da EUA (61). Mais recentemente, Andersen e col (51) testou a hipótese de um efeito antiproteinúrico mais persistente ou irreversível dos ARA. Observaram que após suspensão de 300 mg de ibesartan, por 1 mês, a albuminúria persistia com redução de 47 % comparada com placebo e com ibesartan 150 mg. Portanto, o benefício das drogas que bloqueiam o SRAA sobre a função renal de pacientes com ND é inequívoco e independe do efeito pressórico. Entretanto, não está claro se o efeito destes medicamentos ocorre apenas durante o seu uso ou se a melhora da função renal é permanente, ou pelo menos prolongada após a sua suspensão. Esta informação é importante do ponto de vista da patogênese da ND, pois a permanência do efeito pode sugerir que houve uma melhora de fato nas lesões renais associadas à ND, enquanto que um efeito transitório indicaria que o efeito dos agentes não impede a evolução das alterações patológicas. No caso do efeito sobre a redução da EUA ser perdido após a sua suspensão, também não é conhecido qual o tempo necessário para esta voltar aos valores basais. Outro fator que se soma a estas dúvidas é a evidência de reversão espontânea para normoalbuminúria em uma fração de pacientes com ND.

Diversos estudos já demonstraram uma queda na TFG com o bloqueio do SRAA assim como com o tratamento anti-hipertensivo em geral (44, 60). Esta queda ocorre em dois níveis: nos primeiros 6 meses de tratamento, uma queda mais acentuada, seguida por uma fase mais lenta e sustentada. As hipóteses para esta alteração na fase inicial são de uma alteração reversível e hemodinâmica, ou irreversível e estrutural, devido à perda de nefrons (60). Mesmo assim, a queda da taxa de filtração glomerular é menor nos pacientes tratados com IECA e ARA do que em pacientes tratados com placebo

acompanhados por períodos prolongados, mostrando que estas medicações diminuem a taxa de declínio anual (42, 56) da filtração glomerular.

Além da queda na filtração glomerular, os inibidores do SRAA podem causar hipercalcemia, principalmente quando usados em associação (14, 54, 57), e tosse, ocasionada pelos IECA (30). Em uma meta-análise de 2006 (54), foram avaliadas ainda cefaléia e impotência, sem aumento de incidência de ambos os sintomas com o uso de IECA e ARA, comparando-os a placebo. Em outra revisão há relato de incidência mais frequente de tontura, hipertensão e alergia e menos frequente de fadiga, náusea, vômitos hipo e hiperglicemia (43). A reação mais grave dos IECA, o angioedema, não tem sido relatada em estudos recentes.

Conclusão

Na fisiopatogenia da ND o papel do SRAA persiste como muito importante, por estar envolvido nos diversos estágios da lesão renal. Compreender progressivamente as interfaces e interações de todos os seus agentes permite contribuir e progredir na pesquisa e utilização das drogas que atuam no SRAA como alternativas terapêuticas da nefropatia diabética.

Figura 1: Desenho esquemático do Sistema Renina –Angiotensina- Aldosterona

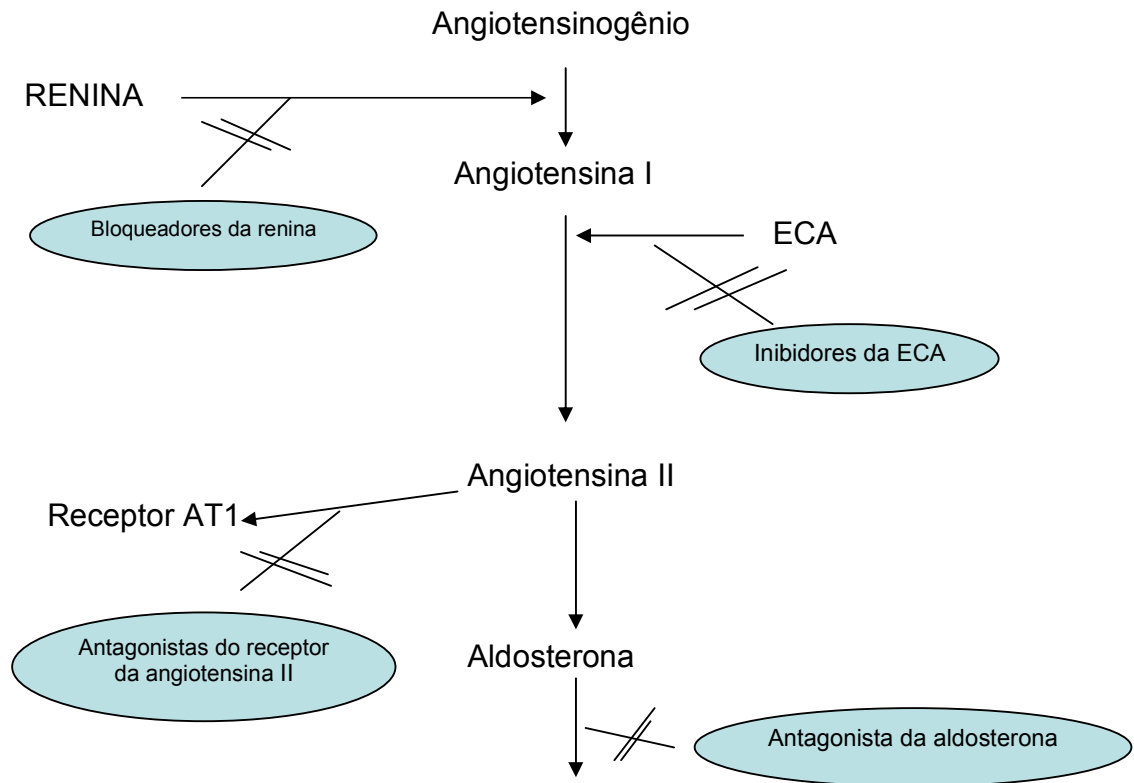


Figura 1. Descrição do Sistema Renina Angiotensina-Aldosterona e drogas que atuam no sistema.
ECA: enzima conversora da angiotensina

Referências Bibliográficas

1. U.S. Renal Data System, USRDS 2003 Annual Data Report: Atlas of End-Stage Renal Disease in the United States, National Institute of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, Bethesda, MD, 2003.
2. Bruno RM, Gross JL. Prognostic factors in Brazilian diabetic patients starting dialysis: a 3.6-year follow-up study. *J Diabetes Complications*. 2000,14(5):266-71.
3. Brancati F, Whelton P, Randal B et al. Risk of end stage renal disease in diabetes mellitus: A prospective cohort study of men screened for MrFIT. Multiple risk factor interventional trial. *JAMA*. 1997; 278: 2069-2074.
4. Dronavalli S, Duka I, Bakris GL. The pathogenesis of diabetic nephropathy. *Nature Clinical Practice*. 2008; 4: 444-452.
5. Gross JL, Azevedo MJ, Silveiro SP, Canani LH, Caramori ML, Zelmanovitz T. Diabetic nephropathy: diagnosis, prevention and treatment. *Diabetes Care*. 2005; 28 (1): 164-176.
6. Giunti S, Barit D, Cooper ME. Mechanisms of diabetic nephropathy role of hypertension. *Hypertension*. 2006; 48: 519-526.
7. Cooper ME. Pathogenesis, prevention, and treatment of diabetic nephropathy. *Lancet*. 1998; 352: 213–219.
8. Rossing P. Prediction, progression and prevention of diabetic nephropathy. *Diabetologia*. 2006; 49: 11-19.
9. Kronenberg HM, Melmed S, Polonsky KS, Larsen PR. *Williams Textbook of endocrinology*, 11ª edição. 2008; cap 15: 522-523

10. Daneman D, Crompton CH, Balfe JW, Sochett EB, Chatziliass A, Cotter BR et al. Plasma prorenin as an early marker of nephropathy in diabetic (IDDM) adolescents. *Kidney Int.* 1994 ; 46: 1154-1159.
11. Wagner C, Jensen BL, Jramer BK, Kurtz A. Control of the renal renin system by local factors . *Kidney Int.* 1998, 54 (suppl 67): S 78
12. Rayner B. Importance of modulating de renin-angiotensin sistem in preventing renal complications of hypertension. *Saudi J Kidney Dis transplant.* 2006; 14 (4): 469-480.
13. Goodfriend TL, Elliott ME, Catt KJ. Angiotensin receptors and their antagonists. *N Eng J Med.* 1996; 334 (25) :1649-1655.
14. Swaminathan K, Davies J; Struthers A. Aldosterone antagonism in type 2 diabetes mellitus, a new therapeutic approach to diabetic macrovascular disease? *Br J Diabetes Vasc Dis.* 2008; 8 (1):16-19.
15. Canani LH, Costa LA, Crispim D, Dos Santos KG, Roisemberg I, Lisboa HRK et al. The presence of allele D of angiotensin-converting enzyme polymorphism is associated with diabetic nephropathy in patients with less than 10 years of diabetes. *Diabetic Medicine.* 2005; 22: 1167-1172.
16. Ha SK, Yang Lee S, Su Park H, Ho Shin J, Jung Kim S, Hun Kim D, Rae Kim K, Young Lee H, Suk Han D. ACE DD genotype is more susceptible than ACEII and ID genotypes to the antiproteinuric effect of ACE inhibitors in patients with proteinuric non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Nephrol Dial Transplant.* 2000; 15 (10):1617-1623.
17. Fradin S, Salomon BG, Chantepie M, Grandhomme F, Morello R, Jauzac PH, et al. Relationship between polymorphisms in the renin-angiotensin system and nephropathy in type 2 diabetic patients. *Diabetes Metab (Paris).* 2002; 28(1): 27-32.

18. Thomas MC, Burns WC, Cooper ME. Tubular changes in early diabetic nephropathy. *Advances in Chronic Kidney Disease*. 2005, 12 (2): 177-186.
19. Mogensen CE: Microalbuminuria and hypertension with focus on type 1 and type 2 diabetes. 2003. *J Intern Med*; 254:45– 66.
20. Rossing K, Christensen PK, Hovind P, Tarnow L, Rossing P, Parving HH. Progression of nephropathy in type 2 diabetic patients. *Kidney Int*. 2004; 66: 1596-1605.
21. Mogensen CE: Progression of nephropathy in long-term diabetics with proteinuria and effect of initial antihypertensive treatment. *Scand J Clin Lab Invest*. 1976 ; 36: 383–388.
22. Rossing P, Hommel E, Smidt UM, Parving HH. Reduction in albuminuria predicts diminished progression in diabetic nephropathy. *Kidney International*.1994; suppl 45: S145-S149.
23. Chobanian AV, Bakris GL; Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo Jr JL, Jones DW, Materson BJ, Oparil S, Wright Jr JT, Roccella EJ. The seventh report of the joint national committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure. *JAMA*. 2003; 289: 2560- 2572.
24. de Galan BE, Perkovic V, Ninomiya T, Pillai A, Patel A, Cass A, et al and the ADVANCE Collaborative Group. Lowering blood pressure reduces renal events in type 2 diabetes. *J Am Soc Nephrol*. 2009 ; 4: 883-892.
25. Pohl MA , Blumenthal S, Cordonnier DJ , Álvaro F, De Ferrari G, Eisner G, et al. Independent and Additive Impact of Blood Pressure Control and Angiotensin II Receptor Blockade on Renal Outcomes in the Irbesartan Diabetic Nephropathy Trial: Clinical. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 3027–3037.

- 26 . Bakris GL: A practical approach to achieving recommended blood pressure goals in diabetic patients. *Arch Intern Med.* 2001; 161:2661–2667.
27. Hollemberg NK. Pharmacologic interruption of the renin-angiotensin system and the kidney: differential responses to angiotensin-converting enzyme and renin inhibition. *J Am Soc Nephrol.* 1999; 10: S239-S242.
28. Ravera M, Re M, Weiss U, Deferrari G. Emerging therapeutic strategies in diabetic nephropathy. *J Nephrol.* 2007; 20 suppl 12: S23-S32.
29. Ruggenti P, FAssi A, Illeva AP, Bruno S, Brusegan V, Rubis N, et al. Preventing microalbuminuria in Type 2 diabetes. *N Engl J Med.* 2004; 351: 1941-1951.
30. Strippoli GFM, Bonifati C, Craig M, Navaneethan SD, Craig JC. Angiotensin converting enzyme inhibitors and angiotensina II receptor antagonists for preventing the progression of diabetic kidney disease (Cochrane review). *The Cochrane Library, Issue 4, 2007.*
31. Kvetny J, Gregersen G, Pedersen RS. Randomized placebo-controlled trial of perindopril in normotensive, normoalbuminuric patients with type 1 diabetes mellitus. *Q J Med.* 2001; 94:89 –94.
- 32 Ravid M, Brosh D, Levi Z, Bar-Dayan Y, Ravid D, Rachmani R. Use of enalapril to attenuate decline in renal function in normotensive, normoalbuminuric patients with type 2 diabetes mellitus: a randomized, controlled trial. *Ann Intern Med.*1998; 128: 982–988.
33. The ACE Inhibitors in Diabetic Nephropathy Trialist Group. Should all patients with type 1 diabetes mellitus and microalbuminuria receive angiotensin-converting enzyme inhibitors? A meta-analysis of individual patient data. *Ann Intern Med.* 2001; 134: 370-379.

34. American Diabetes Association. Nephropathy in Diabetes. *Diabetes Care*. 2004; 27 Supplement 1: S79-S83.
35. Heart Outcomes Prevention Evaluation (HOPE) Study Investigators. Effects of ramipril on cardiovascular and microvascular outcomes in people with diabetes mellitus: results of the HOPE study and MICRO HOPE substudy. *Lancet*. 2000; 355: 253-259.
36. Ravid M, Lang R, Rachmani R, Lishner M Long term renoprotective effect of angiotensin- converting enzyme inhibition in non-insulin-dependent Diabetes Mellitus. *Arch Intern Med*. 1996; 156: 286-289
37. Chan JCN, Ko GTC, Leung DHY et al. Long-term effects of angiotensin- converting enzyme inhibition and metabolic control in hypertensive type 2 diabetic patients. *Kidney Int*. 2000; 57: 590–600.
38. Lewis EJ, Hunsicker LG, Bain RP, Rohde RD. The effect of angiotensin- converting-enzyme inhibition on diabetic nephropathy: the Collaborative Study Group. *N Engl J Med*. 1993; 329: 1456–1462.
39. Jerums G, Panagiotopolus S, Premaratne E, Power DA, Macisaac R. Lowering of proteinuria in response to antihypertensive therapy predicts improved renal function in late but not in early diabetic nephropathy: a pooled analysis. *Am J Nephrol*. 2008; 28: 614- 627.
40. Mauer M, Zinman B, Gardiner R, Drummond Kn, Suissa S, Donnelly SM et al. Ace-I and ARBs in early diabetic nephropathy. *Journal of rennin-angiotensin- aldosterone system*. 2002; 3 :262-269.
41. Parving HH, Lehnert H, Mortensen JB, Gomis MD, Andersen S, Arner P, and the IRMA study group. The effect of ibesartanon the development of diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2001; 345 870-878.

42. Brenner B, Cooper M, Zeeuw D And the RENAAL study investigators. Effects of losartan on renal and cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes and nephropathy. *N Engl J Med.* 2001 ; 12 (345) : 861-869.
43. Kunz R, Friedrich C, Wolbers M, Mann JFE. Meta-analysis: effect of monotherapy and combination therapy with inhibitors of the renin-angiotensin system on proteinuria in renal disease. *Annals of Internal Medicine.* 2008;148: 30-48.
44. Barnett AH, Bain SC, Bouter P, Jarlberg B, Madsbad S, Jervel J et al for the DETAIL Study Group. Angiotensin-receptor blockade versus converting-enzyme inhibition in type 2 diabetes and nephropathy. *N Engl J Med.* 2004; 351: 1952-61.
45. Andersen S, Jacobsen P, Tarnow L, Rossing P, Juhl TR, and Parving HH: Time course of the antiproteinuric and antihypertensive effect of losartan in diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2003, 18: 293-297.
46. Viberti G and Wheeldon NM. Microalbuminuria reduction with valsartan in patients with type 2 diabetes mellitus: a blood pressure-independent effect. *Circulation* 2002, 106: 672-678.
47. Weinberg MS, Kaperonis N, and Bakris GL: How high should an ACE inhibitor or angiotensin receptor blocker be dosed in patients with diabetic nephropathy? *Curr Hypertens Rep.* 2003; 5: 418-425.
48. Mann JFE, Schmieder RE, Dyal L, McQueen MJ, Schumacher H, Pogue J et al, for the TRANCEND (Telmisartan Randomised Assessment Study in ACE Intolerant Subjects with Cardiovascular Disease) Investigators. Effect of telmisartan in renal outcomes. *Annals of Internal Medicine.* 2009; 151: 1-10.
49. Mauer M, Zinman B, Gardiner R, Suissa S, Sinaiko A, Strand et al. Renal and retinal effects of enalapril and losartan in type 1 diabetes. *N Engl J Med.* 2009; 361:40-51.

50. Viberti G, N Wheeldon and MARVAL study investigators. Microalbuminuria reduction with valsartan in patients with type 2 diabetes mellitus: a blood pressure-independent effect. *Circulation*. 2002; 106: 672-678.
51. Andersen S, Brochner-Mortensen J, Parving HH. Kidney function during and after with drawal of long-term Irbesartan treatment in patients with type 2 Diabetes and Microalbuminuria. *Diabetes Care*. 2003; 26 (12): 3296-302.
52. Hollenberg NK, Fisher ND, Price DA. Pathways for angiotensinII generation in intact human tissue. Evidence from comparative pharmacological interruption of rennin system. *Hypertension*. 1998; 32: 387-392.
53. Rossing K, Progression and remission of nephropathy in diabetes: new strategies of treatment and monitoring. *Dan Med Bull*. 2007; 54: 79-98.
54. Andersen NH, Poulsen PL, Knudsen ST, Poulsen SH, Eiskjer, H, Hansen KW, et al. Long-term dual blockade with candesartan and lisinopril in hypertensive patients with diabetes- CALM II study. *Diabetes Care*. 2005; 28: 273-277.
55. Rossing K, Jacobsen P, Pietraszek L, Parving H. Renoprotective effects of adding angiotensin II receptor blocker to maximal recommended doses of ACE inhibitor in diabetic nephropathy. *Diabetes Care*. 2003; 26 (8): 2268-2274.
56. Mann JF, Schmieder RE, McQueen M, Dyal L, Schumacher H, Pogue and the ONTARGET investigators. Renal outcomes with telmisartan, ramipril, or both, in people at high vascular risk (the ONTARGET study): a multicentre, randomised, double-blind, controlled trial. *Lancet*. 2008; 372 (9638): 547-553.
57. Meiracker AH, Baggen RGA, Pauli S, Lindemans A, Vulto AG, Poldermans D et al. Spironolactone in type 2 diabetic nephropathy: effects in proteinuria, blood pressure and renal function. *Journal of Hypertension*. 2006; 24: 2285-2292.

58. Navaneethan SD, Nigwekar SU, Sehgal AR, Strippoli GFM. Aldosterone Antagonists for preventing the progression of chronic kidney disease: a systematic review and meta-analysis. *Clinical journal of the American Society of Nephrology*. 2009; 4:542-551.
59. Parving HH, Persson F, Lewis JB, Lewis EJ, Holtenberg NK and the AVOID study investigators. Aliskiren combined with losartan in type 2 diabetes and nephropathy. *N Engl J Med*. 2008; 35 (23): 2433-2446.
60. Hansen HP, Flemming SN, Rossing P, Jacobson Jensen BR, Parving HH. Kidney function after withdrawal of long-term antihypertensive treatment in diabetic nephropathy. *Kidney Int*. 1997; 52(63): S49-S53.
61. Mathiesen E, Hammel E, Hansen H, Smidt UM, Parving HH. Randomised controlled trial of long term efficacy of captopril on preservation of kidney function in normotensive patients with insulin dependent diabetes and microalbuminuria. *BMJ* 1999; 319:24-25.

**Effect of temporary angiotensin converting enzyme inhibitor
withdrawal on renal function of patients with type 2 diabetes**

Alice Hoefel Nunes, MD

Lívia Bonilha, MD

Mirela J. de Azevedo, MD, PHD

Jorge L. Gross, MD, PHD

Themis Zelmanovitz, MD, PHD

Endocrine Division, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

Word count: 3343

Tables: 4

Figures: 1

Keywords: angiotensin converting enzyme inhibitors, diabetic nephropathy, albuminuria, glomerular filtration rate

Correspondence: Themis Zelmanovitz, Serviço de Endocrinologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rua Ramiro Barcelos 2350, Prédio 12, 4º andar, 90035-003, Porto Alegre, RS, Brazil. Phone: + 55 51 33598127 Fax: and 33598777, themis.voy@terra.com.br.

Abstract

Objective: The aim of this study was to evaluate the effect of angiotensin converting enzyme inhibitor (ACEI) withdrawal on the renal function of type 2 diabetic patients with and without diabetic nephropathy , after long-term use of these drugs.

Research design and methods: A randomized controlled trial was conducted with 89 normo-, micro- and macroalbuminuric type 2 diabetic patients using ACEI for at least 1 year. After clinical and laboratory evaluation, patients were randomized for suspension of ACEI (intervention group) or control group. Blood pressure and 24 hour urinary albumin excretion rate (UAER) were measured at 1, 2, 4, 8 and 12 weeks. At the end of 12 weeks, patients underwent a new laboratory evaluation and the drug (ACEI) was reinstated.

Results: We analyzed 48 patients (22 M/26 F; mean age: 62 years) in the intervention group and 41 in control group (16 M/25 F; mean age: 61 years). Analyzing all patients in the intervention group, UAER presented a progressive increase after ACEI withdrawal, which was statistically significant after the first and eighth weeks. UAER values during the second, fourth and twelfth weeks were not statistically different from baseline values. There was no modification in UAER in control group. When patients with baseline 24-h UAER above 10 mg (n=34) were separately analyzed, we observed a significant rise in UAER from basal [41.3 (18-166) mg/24h] in one [84.6 (24-221) mg/24h and eight [110 (24-300) mg/24h]. The UAER increments from baseline values was 42%, 30%, 25%, 49% and 32% at 1, 2, 4, 8 and 12 weeks respectively.

Conclusion: In conclusion, in type 2 diabetic patients, the renoprotective effect of ACEI drugs seems to be transitory, ie, it probably persists only during their

administration. After drug withdrawal, its effect on UAER begins to be lost after one week, and the UAER increment seems to stabilize only after eight weeks.

Introduction

Diabetic nephropathy (DN) is the leading cause of end stage renal disease in developed countries (1), and a very important cause in developing countries. It is estimated to increase the risk of end stage renal disease approximately 12-fold (2). If untreated, 20-40% of type 2 diabetic patients with microalbuminuria (> 30 mg and < 300 mg of urinary albumin per day) will progress to overt diabetic nephropathy in a period of 15 years (2). In the United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS), approximately 25% of normoalbuminuric patients progressed to microalbuminuria in 10 years, and 5.3% progressed to macroalbuminuria (3).

Furthermore, DN is directly related to higher cardiovascular morbidity and is the main cause of mortality in type 2 diabetic patients (4). In the UKPDS, individuals with macroalbuminuria were more likely to die in any year than to develop renal failure (4). There was a trend for increasing risk of cardiovascular death with increasing nephropathy, with an annual rate of 0.7% for subjects in the stage of no nephropathy, 2% for those with microalbuminuria, 3.5% for those with macroalbuminuria and 12.1% with elevated plasma creatinine or renal replacement treatment (4).

Multifactorial treatment of DN includes blood pressure reduction, glycaemic control, dietary protein restriction and the use of drugs that suppress the renin-angiotensin-aldosterone system, including especially angiotensin converting enzyme inhibitors (ACEI) and angiotensin receptor blockers (ARB) (5,6,7,8).

The renoprotective effects of drugs that inhibit the renin-angiotensin-aldosterone system is unequivocal and is independent of blood pressure control as shown in several studies (9,10). Nevertheless, it is not clear if the benefit is permanent, even after suspension of these drugs, or if it is maintained only during their use. This information is relevant, as maintaining their effect, even after withdrawal, may be associated with an

impact on renal lesions, while a transitory beneficial effect would suggest that renal damage progression was not restrained. Some studies demonstrated that the effect of ACEI or ARB drugs on renal function of type 1 or type 2 diabetic patients with DN was maintained only during the use of these drugs (11,12,13). A longer-lasting renoprotective effect was observed only when higher doses were used (14).

Furthermore, in the case of losing the effect, it is not clear how long it takes for renal function parameters, such as urinary albumin excretion rate (UAER) and glomerular filtration rate (GFR), to return to baseline levels. In the literature, studies that evaluated renal function after ACEI or ARB withdrawal varied from four to eight weeks (11,12,14). The aim of this study was to evaluate the effect of ACEI withdrawal on the renal function of type 2 diabetic patients with and without DN, after long-term use of these drugs.

Research design and methods

Patients

This study followed a randomized, open-label controlled clinical trial design. The Ethics Committee at Hospital de Clínicas de Porto Alegre approved the protocol and patients gave their written informed consent. Patients with type 2 diabetes mellitus (WHO criteria) (15), attending the Endocrine Division's outpatient clinic at Hospital de Clínicas de Porto Alegre, were selected on the basis of the following criteria: age between 30 and 85 years and use of ACE inhibitors for at least 1 year. Patients with repetitive urinary tract infection or other renal disease, heart failure (class III or IV), cardiovascular event in the preceding 6 months, cerebrovascular disease, severe hypertension, or autonomic diabetic neuropathy were excluded.

Eligible patients entered a run-in period, during which they were submitted to clinical and laboratory evaluation. This period consisted of two medical visits aiming to achieve blood pressure stabilization, when adjustments of antihypertensive drugs were made. The goal was to achieve a blood pressure of $\leq 130/80$ mmHg at both visits (16). UAER was measured in these two visits and a mean basal UAER was calculated.

At the end of the run-in period, patients underwent randomization to ACEI suspension (intervention group) or not (control group). The randomization process was blind and was performed in groups of four. In each group, patients were asked to draw one among four slips of paper, with two indicating inclusion in the intervention group, and two indicating inclusion in the control group. The randomization was done with stratification of patients according to the presence or not of DN. In the intervention group, the antihypertensive drugs that were substituted for ACEI were diuretics, beta blockers, alpha-blockers (hydralazine) or non dihydropyridine calcium channel blockers, and run-in blood pressure values needed to be maintained, to minimize the influence of blood pressure changes on UAER. Patients were submitted to medical visits at 1, 2, 4, 8 and 12 weeks after randomization when blood pressure and UAER measurements were performed. At week 12, all patients repeated the laboratory evaluation and the intervention group patients had returned to using ACEI. Treatment with anti-diabetic agents was maintained during the study.

Clinical evaluation

Clinical evaluation consisted of complete histories and physical examination. Body weight and height of patients (without shoes or coats) was obtained with an anthropometric scale. Body mass index [weight (kg)/height² (m)] was then calculated. Waist circumference was measured midway between the lowest rib margin and the iliac crest, near the umbilicus. Blood pressure, the WHO cardiovascular questionnaire (17),

and resting ECG were evaluated. Blood pressure was measured twice, after a 10-minute rest, using a standard mercury sphygmomanometer (phases I and V of Korotkoff), in sitting position. Hypertension was defined as blood pressure $\geq 140/90$ mmHg or use of antihypertensive drugs (16). If needed, patients performed a stress testing protocol to exclude coronary heart disease. Cerebrovascular disease was confirmed by a history of cerebrovascular accident and/or compatible sequelae. Patients were classified as current smokers or non-current smokers. Fundus examination was performed through dilated pupils and diabetic retinopathy was graded. Frequency of exercise, according to activities during a typical day, was graded into four levels: 1-none, 2-low, 3-moderate and 4-high, based on a questionnaire (18) adapted to local habits. Patients were self-identified as white or non-white. Current alcohol intake was categorized as present or absent.

Laboratory measurements

Blood samples were collected after 12-hour overnight fasting. Urea, creatinine, glucose, total cholesterol, HDL cholesterol, and triglycerides were measured by standard autoanalyzer techniques and glycated hemoglobin by high-performance liquid chromatography (Merck-Hitachi L-9100 glycated hemoglobin analyzer, reference range: 4.7-6.0%; Merck, Darmstadt, Germany). LDL cholesterol was calculated using Friedewald's formula.

Urinary albumin was measured in 24-h urine samples by immunoturbidimetry [MicroAlb Sera-Pak[®] immuno microalbuminuria; Bayer, Tarrytown, NY on Cobas Mira Plus (Roche[®])]. Normoalbuminuria was considered when urinary albumin excretion rate was 0-29.9 mg/24h, microalbuminuria 30-300 mg/24h and macroalbuminuria > 300 mg/24h, at least twice in a 6-month period.

The GFR was estimated using the formula of the Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) Study: $186 * [\text{serum creatinine}^{-1.154} * \text{age}^{-0.203} * (0.742 \text{ if female}) * (1.210 \text{ if African-Descendant})]$ (19).

Statistical analysis

Student's t tests, Wilcoxon's U test, chi-square test and repeated measures ANOVA were used as appropriate. Quantitative variables without a normal distribution were submitted to logarithm transformation. Linear regression analysis was used to evaluate the factors associated to 24-h UAER modification (dependent variable) during the protocol, especially ACEI withdrawal. Data are expressed as the mean \pm SD except for UAER [median (interquartile range)] and triglycerides [median (minimum-maximum)]. P values <0.05 were considered significant. Statistical analysis used SPSS software (version 15.0, 2005, SPSS, Inc, Chicago, IL) and Medcalc.

Results

Patient characteristics

Of the 157 patients who met inclusion criteria, 45 were excluded before randomization due to various reasons (Figure 1). One hundred twelve patients were eligible for randomization. After randomization **ten** patients did not complete the study and 13 missed at least one visit; therefore 89 patients were included in the protocol: 48 in the intervention group and 41 patients in the control group. In the intervention group, 28 patients were classified as normoalbuminurics and **20** patients had DN. In the control group, 26 patients were classified as normoalbuminurics and 15 patients had DN.

The main baseline clinical and laboratory characteristics of the patients are shown in Table 1. There was no difference in age, diabetes duration, BMI, proportion of patients with ischemic heart disease, hypertension or retinopathy. Regarding laboratory measurements, the intervention group presented values of glycated hemoglobin, total

cholesterol and LDL cholesterol higher than the control group. Diabetes treatment was also different between groups.

Effects of ACEI withdrawal on UAER and GFR

During the study, analyzing all patients in the intervention group, UAER presented a progressive increase with ACEI withdrawal, which was statistically significant after the first and eighth weeks (Table 2). UAER values during the second, fourth and twelfth weeks were not statistically different from baseline values. Considering the high intra-assay variability of UAER in lower values, especially in urinary albumin concentrations below 5 mg/l, patients with baseline 24-h UAER above 10 mg (n=34) were separately analyzed. In these patients, 24-h UAER presented the same significant increase in the first and eighth weeks when compared with baseline values (Table 2). The control group did not present a significant modification of 24-h UAER during the study (Table 2).

When 24-h UAER increments from baseline values of all patients were analyzed, no difference was observed among the first [20% (-16 to 68)], second [23 % (-28 to 82)], fourth [14% (-35 to 65)], eighth [18 % (-22 to 103)] and twelfth weeks [20% (-28 to 118)]. When patients with 24-h UAER \geq 10 mg were separately analyzed, the eighth week increment [49 % (-18 to 146)] was higher than the fourth week increment [25 % (-35 to 131)], using as covariate, ie, adjusting to the difference between initial and final fasting plasma glucose. No difference was observed between eighth and twelfth week increments [32 % (-27 to 129)] .

During the protocol, 37% of patients in the intervention group presented no UAER increment, and 9 %, 4%, 0 % and 50 % of patients presented an UAER increment <10%, 10-20%, 20-30% and >30%, respectively.

In the intervention group, baseline and final GFR were not different when all patients were analyzed (79 ± 21 vs. 76 ± 18 ml/min/1.73m², respectively; $p=0.135$), as well as, when patients with DN were separately analyzed (76 ± 25 vs. 76 ± 23 ml/min/1.73m², respectively; $p=0.893$). However, when patients without DN were analyzed, GFR significantly increased after ACEI withdrawal, compared with baseline values (81 ± 18 vs. 76 ± 15 ml/min/1.73m², respectively; $p=0.039$). In the control group, when all patients were analyzed, final GFR significantly decreased, compared with baseline GFR values (83 ± 27 vs. 76 ± 22 ml/min/1.73m², respectively; $p=0.022$).

In multiple linear regression analysis, a 24-h UAER increment in the eighth week (dependent variable) was positively associated with ACEI withdrawal, even after adjusting to the difference between baseline and final GFR values and to the differences in mean arterial pressure and fasting plasma glucose between the eighth week and baseline values (Table 3).

Five normoalbuminuric patients in the intervention group were reclassified as microalbuminurics after ACEI withdrawal (18%), while one normoalbuminuric patient in the control group was reclassified as microalbuminuric during the study (3%; $P=0.008$). Patients reclassified as microalbuminurics in the intervention group had high levels of baseline albuminuria (mean = 19, 9 mg/24 h). Three microalbuminuric patients were reclassified as macroalbuminurics after ACEI withdrawal (15%).

Blood pressure levels, glycaemic control and lipid profile during the protocol

Both systolic and diastolic blood pressure, as well as glycaemic control were maintained unchanged during the study in the intervention and in the control group (Table 4). Baseline and final lipid profile of intervention and control group patients were also similar.

Spearman's coefficients of correlation between UAER increments of each visit and the respective difference between mean arterial pressure, systolic and diastolic blood pressure, and their baseline values, were analyzed and all were non-significant.

In the intervention group, ACEI drugs were substituted for diuretics in seven patients, hydralazine in nine, calcium channel blockers in nine, and beta-blockers in 26 patients. Some patients needed more than one medication to achieve blood pressure control. In the control group, only one patient needed hydralazine and one, calcium channel blockers (amlodipine).

Discussion

The present study demonstrated that when ACEI drugs were temporarily withdrawn and substituted for other anti-hypertensive drugs, UAER presented a median increment of approximately 40 % in type 2 diabetic patients with and without DN. Furthermore, this increment seems to stabilize only eight weeks after ACEI withdrawal. Factors that might influence UAER modifications, like blood pressure and glycaemic control, were maintained stable during the protocol and UAER increment was associated to ACEI withdrawal independently of these variables. Many clinical trials that study new interventions in DN and evaluate renal function need to withdraw ACEI drugs during run in period. The observations of the present study reinforce the need to have a washout of at least eight weeks after ACEI drugs withdrawal, especially when evaluation of UAER as a surrogate outcome is considered important.

Few studies evaluated the effects of the withdrawal of drugs that interfere in renin-angiotensin-aldosterone system on UAER modifications. In a previous study of type 2 diabetic patients with hypertension and proteinuria, a rise of almost 100% of albuminuria was observed after 4 weeks of ACEI withdrawal (11). However, in this study ACEI drugs were not substituted by other anti-hypertensive drugs and mean 24-

hour arterial pressure increased from 102 to 111 mmHg. Mathiesen et al (12) also evidenced a significant rise in albuminuria in normotensive type 1 diabetic patients with microalbuminuria after suspension of captopril, that was used for eight years. After a treatment interruption of two months, 38% of patients presented albuminuria values that exceeded 300 mg/24h. In this study, the proportion of UAER increment is not described. Furthermore, the patients also do not substitute ACEI drugs by other anti-hypertensive drugs. As blood pressure is a crucial factor that interferes with UAER, the best way to evaluate the beneficial effect of these drugs and/or of their withdrawal is without modification of arterial blood pressure. Probably, the UAER increments in the present study were attenuated because of stabilization of blood pressure, different from the methodology of the above studies. Actually, in the present study, 18% and 15% of the patients, respectively, were reclassified from normo- and from microalbuminuria to micro- and macroalbuminuria, lower than observed in those studies (12,13).

Regarding the effect of angiotensin antagonist drugs on albuminuria, a sub-study of IRMA-2 (Irbesartan in Patients with Type 2 Diabetes and Microalbuminuria study) also analyzed UAER values after irbesartan withdrawal (14). In this randomized clinical trial, type 2 diabetic patients with hypertension and microalbuminuria used irbesartan for 24 months and presented a significant reduction of progression to clinical and incipient DN of 70% and 38%, respectively. After this period, the patients were submitted to irbesartan withdrawal for four weeks. The patients that used a 150 mg/day dose presented a significant UAER increment. On the other hand, in the patients who used higher doses (300mg/day), UAER continued to be stable after four weeks, suggesting that the long-standing renoprotective effect of angiotensin antagonists may be dose-dependent.

The beneficial renoprotective effect of ACEI or ARB drugs is unequivocal, but it is not known whether their long-term effects could persist even after their suspension. It seems that these effects could be maintained only during the administration of these drugs.

In histologic studies about ACEI drugs effects on the renal structure of type 1 and type 2 diabetic patients with DN, it has been observed that the administration of these drugs is associated with limitation of interstitial expansion and also, but less intensely, with the reduction of glomerular mesangial expansion (20, 21, 22) when compared to placebo. As biopsy is an invasive procedure, regression or stabilization of DN can be defined by clinical parameters like albuminuria or GFR. Persistent reduction of UAER, a surrogate measure of renal damage, may imply improvement of structural damages, whereas reversibility may suggest only hemodynamic/metabolic changes during the period of medication use (11). Our data speculate that the renoprotective effect of ACEI drugs seems to be transitory, as the anti-proteinuric effect was lost in eight weeks.

A higher increment was observed in patients with UAER in higher values, but in the normal range (>10 mg/24-h). This observation probably is due to higher variability of UAER in lower values that make it more difficult to find differences in these ranges. Furthermore, as UAER is a continuous variable, higher values are associated with more advanced renal damage. This is reinforced by the Murussi et al study, which demonstrated that this cut-off was associated with higher progression to micro- or macroalbuminuria in type 2 diabetic patients (23).

In the present study, GFR increased after ACEI withdrawal only in patients without DN. The temporary fall in GFR during treatment with ACEI drugs is considered a reversible hemodynamic phenomenon as also observed in the study of

Mathiesen et al (12) with type 1 diabetic patients. The absence of increasing GFR in patients with DN may be due to more advanced renal involvement or to the older age of the patients.

A limitation of this study was that, in the intervention group, one of the class of drugs used to substitute ACEI drugs was the non-dihydropyridines calcium channel blockers, including verapamil or diltiazem, also known as renoprotective drugs. The use of these drugs would attenuate the UAER increment after ACEI withdrawal. However, there was no difference between the patients that presented UAER increment and the ones that did not presented increment regarding the proportion of administration of these drugs during the protocol (30% vs. 17%, respectively; $p>0.05$).

Other limitation of the study is that there were no clinical data of patients before ACEI drugs were introduced, especially data about renal function (GFR and UAER). The effects of ACEI withdrawal on these variables were based only on the variation between the values before and after the suspension of the drugs.

Lastly, the small sample size of the study, especially of normoalbuminuric patients, may make it more difficult to demonstrate the UAER increment after ACEI withdrawal, considering that the variability of UAER in this range may demand a greater number of patients.

In conclusion, in type 2 diabetic patients, the renoprotective effect of ACEI drugs seems to be transitory, ie, it probably persists only during their administration. After drug withdrawal, its effect on UAER begins to be lost after one week, and the UAER increment seems to stabilize only after eight weeks.

Acknowledgments: This study was partially supported by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) and Fundo de Incentivo a Pesquisa (FIPE) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. LB was recipient of a scholarship from PIBIC-CNPQ.

Table 1. Baseline clinical and laboratory characteristics of type 2 diabetic patients

	Intervention group	Control group	P
Age (years)	62 ± 9	61 ± 10	0.69
Gender (female) (%)	54	61	0.52
DM duration (years)	16 ± 8	16 ± 9	0.90
BMI (kg/m ²)	29.7 ± 4.5	29.3 ± 3.9	0.70
Hypertension (%)	92	100	0.12
Ischemic heart disease (%)	22	21	1.00
Diabetic retinopathy (%)	54	47	0.55
Fasting plasma glucose (mg/dl)	147 ± 44	137 ± 40	0.26
A _{1c} test (%)	7.7 ± 1.5	6.9 ± 0.9	0.007
Total cholesterol (mg/dl)	191 ± 43	170 ± 32	0.013
HDL cholesterol (mg/dl)	52 ± 14	48 ± 12	0.13
LDL cholesterol (mg/dl)	109 ± 36	91 ± 29	0.013
Triacylglycerol (mg/dl)	126 (40-390)	129 (65-299)	0.46
Serum creatinine (mg/dl)	0.96 ± 0.2	0.94 ± 0.3	0.75
Smoking (%)	54	56	0.70
Diabetes treatment (I/OAD/I+OAD/D)	(6/43/47/4)	(29/49/22/0)	0.006

Data are means ± SD, median (minimum-maximum) or proportion of patients (%) with analyzed characteristic. DM: diabete melitus; BMI: body mass index A_{1c} test. glycated hemoglobin; Smoking: current or past; Diabetes treatment: I= insulin/ OAD= oral anti-diabetic drugs/ I+OAD= insulin+ anti-diabetic drugs/ D= diet only.

Table 2. UAER values (mg/24-h) of type 2 diabetic patients of the intervention and control group during run in and protocol period.

Patients	Baseline	1 th week	2 th week	4 th week	8 th week	12 th week
Intervention group						
All patients	20.4 (9-91)	32.2* (7-130)	34.3 (8-132)	21.7 (6-164)	37.2* (8-180)	38.1 (6-171)
Patients with 24-h UAER \geq 10 mg	41.3 (20-166)	84.6* (24-221)	83.8 (16-266)	85.0 (14-253)	110.0* (24-300)	71 (19-265)
Control group						
All patients	13.5 (8-91)	13.2 (6-83)	15.3 (7-42)	15.0 (6-55)	16.6 (6-71)	16.6 (8-97)
Patients with 24-h UAER \geq 10 mg	34.6 (14-136)	44.8 (8-105)	31.7 (12-75)	27.8 (9-131)	38.7 (11-110)	29.9 (12-144)

Data are median (interquartile values); *versus baseline value, P<0.05, Repeated measure ANOVA and post-hoc test (LSD).

Table 3. Multiple regression analysis of relationship between UAER increment in eighth week after ACEI withdrawal and interfering factors on UAER in type 2 diabetic patients

Dependent variable:	Log 8 th week increment	$r^2=0.10$ P= 0.28
Independent variables:	β -Standardized Coefficients	P
Difference of fasting plasma glucose*	- 0.043	0.69
Group (intervention vs control)	- 0.239	0.03
Difference in mean arterial pressure **	- 0.229	0.04

*Difference between fasting plasma glucose of initial and end of study of all patients.

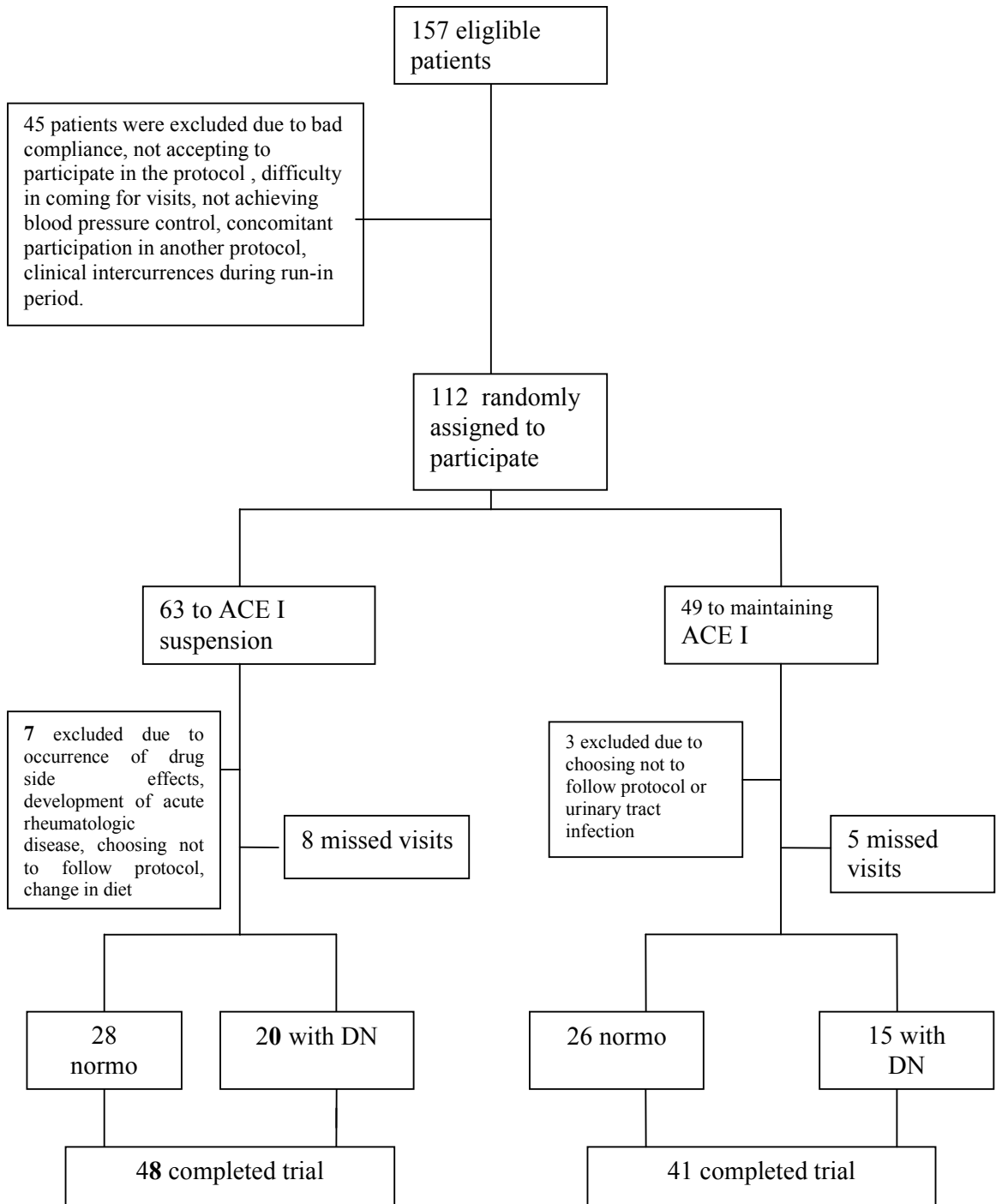
** Difference between mean arterial pressure of initial and end of study of all patients.

Table 4. Blood pressure and glycaemic control of type 2 diabetic patients of intervention and control group during the protocol.

Patients	Baseline	12 th week	P
Intervention group			
SBP (mmHg)	124 ± 12	127 ± 12	0.031
DBP (mmHg)	70 ± 9	72 ± 9	0.30
A1c test (%)	7.6 ± 1	7.8 ± 2	0.34
Glucose	147 ± 44	160 ± 65	0.30
Control group			
SBP (mmHg)	122 ± 12	121 ± 15	0.49
DBP (mmHg)	70 ± 7	70 ± 10	0.85
A1c test (%)	7.0 ± 1	6.9 ± 1	0.88
Glucose	138 ± 40	140 ± 46	0.77

Data are mean (± standard deviation); SBP: systolic blood pressure; DBP: diastolic blood pressure; A1c test: glycated hemoglobin

Figure 1. Flow of Patients



References

1. Molich ME, DeFronzo RA, Franz MJ, Keane WF, Mogensen CE, Parving HH et al. Nephropathy in Diabetes. *Diabetes Care*. 2004; 27 Suppl 1: S79-S83.
2. Brancati F, Whelton P, Randal B et al. Risk of end stage renal disease in diabetes mellitus: A prospective cohort study of men screened for MrFIT. Multiple risk factor interventional trial. *JAMA*. 1997; 278: 2069-2074.
3. 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*. 2003, Vol 63: 225-232.
4. Valmadrid CT, Klein R, Moss SE, Klein BE. The risk of cardiovascular disease mortality associated with microalbuminuria and gross proteinuria in persons with older-onset diabetes mellitus. *Arch Intern Med*. 2000; 160: 1093-1100.
5. Gross JL, Azevedo MJ, Silveiro SP, Canani LH, Caramori ML, Zelmanovitz T. Diabetic nephropathy: diagnosis, prevention and treatment. *Diabetes Care*. 2005; 28 (1): 164-176.
6. Giunti S, Barit D, Cooper ME. Mechanisms of diabetic nephropathy role of hypertension. *Hypertension*. 2006, 48: 519-526.
7. Rossing P. Prediction, progression and prevention of diabetic nephropathy. *Diabetologia*. 2006, 49: 11-19.
8. The ADVANCE collaborative group. Intensive blood glucose control and vascular outcomes in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2008; 358 (24) 2560-2572.
9. Viberti G, N Wheeldon and MARVAL study investigators. Microalbuminuria reduction with valsartan in patients with type 2 diabetes mellitus: a blood pressure-independent effect. *Circulation*. 2002, 106: 672-678.

10. Thurman JM, Schrier RW: Comparative effects of angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers on blood pressure and the Kidney. *AM J Med.* 2003; 114: 588-98.
11. Hansen HP, Nielsen FS, Rossing P, Jacobsen P, Jensen BR, Parving HH. Kidney function after withdrawal of long-term antihypertensive treatment in diabetic nephropathy. *Kidney Int.* 1997; 52, suppl.63:S 49-S53.
12. Mathiesen E, Hammel E, Hansen H, Smidt UM, Parving HH. Randomised controlled trial of long term efficacy of captopril on preservation of kidney function in normotensive patients with insulin dependent diabetes and microalbuminuria. *BMJ* 1999; 319: 24-25.
13. Ravid M, Lang R, Rachmani R, Lishner M. Long term renoprotective effect of angiotensin- converting enzyme inhibition in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Arch Intern Med.* 1996; 156: 286-289.
14. Andersen S, Brochner-Mortensen J, Parving HH. Kidney function during and after withdrawal of long-term Irbesartan treatment in patients with type 2 diabetes and microalbuminuria. *Diabetes Care.* 2003; 26(12):3296-3302.
15. WHO study group. Diabetes mellitus. WHO, 727: 1-113. Geneva, world Health Organization, 1985.
16. Chobanian AV; Bakris GL; Black HR; Cushman WC; Green LA; Izzo Jr JL; Jones DW; Materson BJ; Oparil S; Wright Jr JT; Roccella EJ. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *JAMA.* 2003; 289: 2560.
17. Rose Ga. The diagnosis of ischemic heart pain and intermittent claudication in field surveys. *Bulletin WHO.* 1962; 27:645-658.

- 18.** Tuomilehto J, Lindstrom J, Eriksson JG , Valle TT, Hamalainen H, Parikka P for the Finnish Diabetes Prevention Study Group . Prevention of Type 2 Diabetes Mellitus by Changes in Lifestyle among Subjects with Impaired Glucose Tolerance. *N Engl J Med.* 2001; 344:1343-1350.
- 19.** Levey AS, Coresh J, Balk E, Kautz AT, Levin A , Steffes MW et al. national Kidney Foundation Practica guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification and stratification. *Ann Intern Med.* 2003; 139: 137-147.
- 20.** Mohanram A, Toto RD. Outcome studies in diabetic nephropathy. *Semin Nephrol* 2003; 23(3): 255-271.
- 21.** Zanella MT, Ribeiro AB. The role of angiotensin II antagonism in type 2 diabetes mellitus: a review of renoprotection studies. *Clin Ther* 2002; 24(7): 1019-1034.
- 22.** Weinstock Brown W, Keane WF. Proteinuria and cardiovascular disease. *Am J Kidney Dis* 2001; 38(9 suppl 1):S8-S13.
- 23.** Murussi M, Campagnolo N, Beck MO, Gross JL, Silveiro SP. High-normal levels of albuminuria predict development of micro-macroalbuminúria and increased mortality in Brazilian type 2 diabetic patients: an 8 year follow up study. *Diabetic medicine.* 2007; 24: 1136-1142.

N972e Nunes, Alice Hoefel

Efeito da retirada das drogas inibidoras da enzima conversora da angiotensina sobre a função renal em pacientes com diabetes melito tipo 2 com e sem nefropatia diabética / Alice Hoefel Nunes ; orient. Themis Zelmanovitz. – 2009.

60 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia. Porto Alegre, BR-RS, 2009.

1. Diabetes mellitus tipo 2 2. **Inibidores da enzima conversora da angiotensina** 3. Rim 4. Efeitos de drogas 5. Nefropatias diabéticas I. Zelmanovitz, Themis II. Título.

NLM: WK 810

Catálogo Biblioteca FAMED/HCPA