



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DE
COIMBRA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

DAVID ALMEIDA SILVA

***Nefropatia Diabética: Fisiopatologia, Rastreio, Estadiamento e
Referenciação***

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE ENDOCRINOLOGIA

Trabalho realizado sob a orientação de:

PROFESSORA DOUTORA MARIA LEONOR VIEGAS GOMES

DRA. JOANA CARINA DE PINHO MARQUES SARAIVA

Novembro de 2022

NEFROPATIA DIABÉTICA: FISIOPATOLOGIA, RASTREIO, ESTADIAMENTO E REFERENCIAÇÃO

Aluno: David Almeida Silva

Afiliação: Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal

Endereço de Correio Eletrónico: david.almeida.silva95@gmail.com

Coorientadora: Joana Carina de Pinho Marques Saraiva

Afiliação: Serviço de Endocrinologia do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra

Endereço de Correio Eletrónico: JOANACPMSARAIVA@gmail.com

Orientadora: Maria Leonor Viegas Gomes

Afiliação: Serviço de Endocrinologia do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra

Endereço de Correio Eletrónico: LEONORGOMES@hotmail.com

Morada institucional:

Polo III - Pólo das Ciências da Saúde

Azinhaga de Santa Comba, Celas

3000-548 Coimbra

Trabalho final do 6º ano médico com vista à atribuição do grau de Mestre no âmbito do ciclo de estudos do Mestrado Integrado em Medicina.

Índice

1. Abreviaturas	4
2. Abstract	5
3. Resumo	6
4. Introdução	8
5. Métodos.....	10
6. Fisiopatologia	11
6.1. Proteinúria e Albuminúria	13
6.2. Alterações histopatológicas da nefropatia diabética.....	14
6.3. Vias de lesão celular induzidas pela hiperglicémia	16
6.4. Microinflamação.....	18
7. Rastreio	19
8. Estadiamento	22
9. Referenciação	25
10. Conclusões	26
11. Agradecimentos	27
12. Referências.....	28

1. Abreviaturas

AGEs – Produtos finais da glicação

CTGF - *connective tissue growth factor*

DM – Diabetes *mellitus*

DM1 – Diabetes *mellitus* tipo 1

DM2 – Diabetes *mellitus* tipo 2

DRC – Doença renal crónica

DRT – Doença renal terminal

GLUT – Transportador de glicose

GH - hormona de crescimento

IGF1 - *insulin-like growth hormone*

KDIGO- *Kidney Disease Improving Global Outcomes*

MBG – Membrana Basal Glomerular

NADPH - *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate*

NGAL- *Neutrophil gelatinase-associated lipocalin*

NFKB – *Nuclear factor kappa of activated B cells*

ND – Nefropatia diabética

PAI-1 - *plasminogen activator inhibitor-1*

PKC – Proteína cinase C

RAGE – Recetor de produtos finais da glicação

ROS - espécies reativas de oxigénio

SRAA – Sistema renina, angiotensina, aldosterona

TFG – Taxa de filtração glomerular

TGFβ - *transforming growth factor β*

TNF-α - *Tumor necrosis factor alpha*

VEGF - *Vascular endothelial growth factor*

⁹⁹Tc-DTPA - *Technetium-99 diethylenetriaminepentaacetic acid*

2. Abstract

Diabetic nephropathy is the most common complication of diabetes mellitus and the major cause for chronic kidney disease around the world. Given the fact that the prevalence of DM is raising rapidly, it is crucial to prevent the complication that compromises the health of the diabetic patient the most.

Despite the fact that DN as been the center of multiple studies and investigation in the medical field, its pathogenesis is not yet fully understood. This is due to the fact that DN's pathogenesis is multifactorial and includes hemodynamic, metabolic, inflammatory and genetic mechanisms. In this review, we try to clarify these mechanisms and find common components between them, such as oxidative stress, microinflammation mesangial expansion, glomerular basement membrane thickening and many other structural changes of the kidney.

The current screening method used for DN, which uses albuminuria levels and estimated glomerular filtration rate, has shown to be effective in the early detection of the disease, although new biomarkers have emerged recently, such as NGAL and cystatin C. These biomarkers have advantages compared to the use of serum creatinine, in particular they are less influenced by the patient's age, sex, race or biotype.

The follow-up of DN is vital to assess treatment efficiency and to estimate the patients' prognosis before needing kidney replacement therapy. For this effect, different classifications specific for ND have emerged which presented different variables when compared to the regular chronic kidney disease classification. The search for a more exact and specific classification method as lead to the increased use of kidney biopsy to obtain a histological evaluation of the kidney and the lesions that develop such as glomerulosclerosis and Kimmelstiel-Wilson nodules, since this histological markers do not always correlate perfectly with the clinical markers.

The initial follow up of the DN is usually done by the general practice doctor, the internist and the endocrinologist who work cooperatively to give the best medical care possible. This being said, at some point it becomes crucial to provide a more specialized care for these patients. The criteria for the patient referral to a nephrologist is not consensual, therefore it is imperative to understand which criteria are most adequate to be able to provide the specialized care needed for the patient while optimizing the medical resources available.

Keywords: Diabetic Nephropathy, Diabetes Mellitus, Albuminuria, Secondary Care.

3. Resumo

A nefropatia diabética (ND) é a principal complicação da diabetes *mellitus* (DM) e a principal etiologia da doença renal crónica (DRC) em todo o mundo. Visto que a DM é uma doença com taxa de incidência crescente, torna-se crucial combater a sua complicação que mais deteriora a qualidade de vida dos doentes e o seu prognóstico.

A ND tem sido alvo de extensa investigação, no entanto, a sua fisiopatologia não é completamente compreendida até aos dias de hoje, provavelmente devido à sua natureza multifatorial englobando mecanismos hemodinâmicos, metabólicos, inflamatórios e genéticos. Nesta revisão procura-se esclarecer estes mecanismos e identificar os componentes comuns a todos eles, nomeadamente, a ação do stress oxidativo, microinflamação, expansão mesangial, espessamento da membrana basal glomerular e outras alterações estruturais renais.

O atual plano de rastreio para a ND, utilizando a albuminúria e a estimativa da taxa de filtração glomerular (TFG), mostra-se eficaz na deteção precoce da doença renal, no entanto, tem surgindo novos biomarcadores, como a NGAL e a cistatina C, que emergiram para colmatar certas limitações dos métodos utilizados atualmente, nomeadamente a deteção mais precoce e a menor influência de variáveis como a idade, género, raça ou biótipo do doente comparativamente com a utilização da creatinina sérica.

A avaliação da progressão da doença renal diabética é de elevada importância para aferir eficácia do tratamento e estimar o prognóstico de vida do doente antes da introdução de terapêutica substitutiva renal. Para tal efeito sugeriram classificações específicas para a ND que apresentam diferenças substanciais comparativamente com a avaliação clássica do doente com DRC. A procura por um estadiamento mais específico e preciso da ND desperta, cada vez mais, a discussão sobre a utilização da biópsia renal como método auxiliar de diagnóstico. Deste modo, é possível fazer uma avaliação histológica da doença, nomeadamente, avaliar o nível de glomeruloesclerose e a presença de nódulos de Kimmelstiel–Wilson, para mais adequadamente classificar a doença renal, visto que, a correlação entre os marcadores clínicos e as lesões histológicas de facto presentes não é perfeita.

O acompanhamento do doente com ND é na sua maioria realizado nos cuidados de saúde primários, no entanto, torna-se crucial a certo ponto providenciar cuidados especializados a este doente. Os critérios para a referenciação a um especialista de nefrologia não são consensuais em todo mundo, pelo que, torna-se importante perceber quais os melhores marcadores que permitem uma referenciação atempada e oportuna, providenciando a atenção médica necessária e otimizando a utilização dos recursos médicos.

Palavras-Chave: Nefropatias Diabéticas, Diabetes Mellitus, Albuminúria, Referenciação Médica.

4. Introdução

A DM é atualmente uma das doenças mais prevalentes em todo mundo, afetando cerca de 1 em cada 10 pessoas na faixa etária dos 20 aos 79 anos, com previsões de aumento deste valor nas subsequentes décadas. A prevalência de diabetes em Portugal triplicou três vezes nos últimos 20 anos, sendo hoje a segunda mais elevada da União Europeia. Não só é uma doença prevalente na sociedade atual, assim como, foi responsável por 6,7 milhões de mortes em 2021 em todo o mundo. Para além da preocupação social que a DM acarreta, está também associada a um compromisso financeiro extremamente elevado para as instituições governamentais e organizações de saúde, assim como, para o paciente em si. ^{1,2} No contexto nacional, estima-se que Portugal apresente uma prevalência de DM de 13,6%, sendo que quase metade destes casos não estão diagnosticados (5,9%), representando mais de 1 milhão de diabéticos no país. A DM é mais prevalente no sexo masculino e na faixa etária mais idosa; em termos de mortalidade, a DM apresenta números significativos, sendo responsável por 3,8% de todas as mortes anualmente em Portugal, tornando-se na 5ª causa mais prevalente de morte. Por outro lado, na área financeira a DM é responsável por cerca de 8% de todos os gastos em saúde a nível nacional e responsável por cerca de 190 biliões de dólares em gastos de saúde no continente europeu. Cerca de 90% dos casos de diabetes diagnosticados são de tipo 2, fortemente associada a um histórico de exposição a fatores de risco como a obesidade, o sedentarismo, hipertensão arterial, baixos níveis de literacia e incapacidade financeira.¹

A DM é uma doença crónica que está relacionada com insuficiente produção de insulina e/ou resistência periférica a esta, que conduz a hiperglicémia no sangue. Esta hiperglicémia, juntamente com outros fatores, vai ser responsável por complicações microvasculares sistémicas com especial relevância a nível renal, neurológico e oftálmico. Relativamente às complicações renais, estas conduzem a um compromisso da função do rim, sendo este compromisso o maior responsável pela deterioração da qualidade de vida do doente diabético. ^{1,2} A Nefropatia Diabética é a complicação principal da DM surgindo em cerca de 1 em cada 3 diabéticos e, normalmente, manifesta-se em indivíduos com DM diagnosticada há pelo menos 10 anos, podendo já estar acompanhada de retinopatia ou neuropatia.³ A ND define-se então como uma complicação da DM que resulta em doença renal crónica traduzida em macroalbuminúria persistente (pelos menos 2 medições com intervalo de 3 meses) associada a redução progressiva da TFG.⁴

Por vezes, é utilizado o termo doença renal diabética e tem como objetivo ser um termo mais abrangente no que toca às alterações renais no doente diabético, não tendo critérios clínicos tão rígidos. Este termo pode ainda ser usado quando não existe confirmação histológica de ND.⁵

A fisiopatologia da ND é bastante complexa e não completamente compreendida, tornando o controlo e terapêutica dos doentes um desafio para a medicina atual. A regularização dos níveis glicémicos e da pressão arterial não se tem mostrado suficiente para impedir a progressão da ND e, portanto, torna-se crucial um melhor entendimento da fisiopatologia desta doença, de modo a obter novos alvos terapêuticos.^{3,6}

Perante tal prevalência e impacto na saúde mundial torna-se fundamental estabelecer um programa de rastreio eficaz, focando-se na deteção precoce da doença, idealmente ainda nos estádios em que não existe um compromisso relevante da função renal. Um passo de elevada importância para o bom prognóstico dos doentes diabéticos com patologia renal é a sua referenciação, nomeadamente, para um médico especialista em nefrologia. No entanto, o momento ideal para esta integração de outra especialidade médica ainda não é completamente consensual, sendo assim, é importante perceber quais os melhores indicadores na DM e ND que remetem para a referenciação ao especialista.

5. Métodos

A pesquisa bibliográfica realizou-se entre 2 de maio de 2022 e 31 de outubro de 2022, tendo sido utilizada a plataforma *PubMed*, elaborada pela *The United States National Library of Medicine*. Foram excluídos artigos para além da língua inglesa e com data de publicação anterior ao ano 2000. Numa fase inicial, foram selecionados artigos tendo em conta o título e o seu resumo; numa segunda fase foram incorporados artigos utilizando as ferramentas “reference lists” e “related articles” da plataforma *PubMed*. Os termos utilizados foram “Diabetes Mellitus”, “Diabetic Nephropathy”, “Diabetic Kidney Disease”, “Pathogenesis”, “Screening”, “Classification” e “Patient Referral” em separado e em várias combinações. Adicionalmente foram utilizados relatórios e guidelines atualizadas de organizações de saúde nacionais e internacionais. Para contextualização teórica foi feita consulta do livro *Williams Textbook of Endocrinology 14th Edition*.

6. Fisiopatologia

A fisiopatologia da Nefropatia Diabética engloba vários fatores metabólicos e hemodinâmicos, que de forma cumulativa irão levar à tríade clínica característica da ND: hipertensão, proteinúria e insuficiência renal. Considerando os dois tipos de Diabetes Mellitus, existem diferenças entre a fisiopatologia da ND em cada tipo, no entanto, estas diferenças acabam por, em parte, convergir nos mesmos mecanismos histopatológicos e vias celulares envolvidas. Relativamente à DM2, esta é uma doença que normalmente surge num contexto de síndrome metabólica ou pelo menos associada a uma outra patologia, como a hipertensão arterial, dislipidemia ou obesidade. Este facto influencia naturalmente a progressão da ND, visto que, há vias de lesão do glomérulo comuns entre a hipertensão arterial e a DM propriamente dita, como por exemplo, a desregulação do SRAA. Associadamente, o facto de os doentes com DM2 serem mais idosos irá influenciar os mecanismos e as fases da fisiopatologia da ND, nomeadamente, a hiperfiltração que ocorre na fase inicial da ND, refletindo-se num aumento da TFG, pode ser ocultada por um declínio da TFG já inerente à idade do doente. Também associada à idade média do doente com DM2, vários fenómenos podem levar a microalbuminúria, como por exemplo, infeções do trato urinário prévias, obstruções urinárias de causa prostática e insuficiência cardíaca. Assim sendo, albuminúria pode já estar presente, independente da doença renal causada pela DM, conferindo menos especificidade a este marcador para a deteção de ND no doente com DM2. Na ND do doente com DM1, a progressão desta é mais previsível e segue os cinco estádios descritos para a ND.⁷

Estádio 1: Hiperfiltração

Na fase de hiperfiltração existe uma elevação da TFG e aumento da pressão nos capilares glomerulares. Este facto é devido a hipertrofia renal e alterações hemodinâmicas renais condicionadas por agentes como a hormona de crescimento (GH), *insulin-like growth hormone* (IGF1) e o *transforming growth factor β* (TGF β). Adicionalmente, o aumento da reabsorção de sódio (regulado pelo *sodium glucose cotransporter-2*, alvo terapêutico típico na DM com efeito renoprotetor) e a hipertrofia tubular podem também contribuir para a hiperfiltração. Do ponto de vista do SRAA, este contribui para a vasoconstrição relativa da arteríola eferente, aumentando a pressão intraglomerular associada a redução da síntese de óxido nítrico.⁷

Estádio 2: Fase silenciosa

Nesta fase, é escassa a evidência clínica de alterações renais, com TFG normal e ausência de albuminúria. No entanto, é nesta fase que se inicia o espessamento da membrana basal glomerular e expansão mesangial, lesões características da ND. Deste modo, é para este estágio que biomarcadores alternativos aos atuais são de elevada importância, de modo a tornar as alterações que ocorrem nesta fase mais claras e evidentes.⁷

Estádio 3: Microalbuminúria

Normalmente ocorre entre 5 a 15 anos após o diagnóstico e inicia-se quando a albuminúria atinge os 30 mg na colheita de urina das 24 horas. Nesta fase, observa-se um aumento considerável da pressão arterial, tanto a nível sistólico como diastólico, e também perda da diminuição de pressão arterial durante o sono. Relativamente, à TFG esta pode estar aumentada, reduzida ou normal nesta fase, não sendo constante. Em relação à quantificação da albuminúria, cada vez mais o método da colheita de urina das 24h tem evoluído para a análise da relação albumina/creatinina numa colheita única, nomeadamente, da primeira micção da manhã, devido a questões de comodidade para o doente. A microalbuminúria é considerada reversível, podendo o doente retomar à normoalbuminúria com intervenção precoce, conferindo importância ao rastreio de microalbuminúria, devendo este ser pelo menos anual.⁷

Estádio 4: Macroalbuminúria

A entrada nesta fase é assinalada por níveis de albuminúria superiores a 300mg/24h, sendo um alto preditor para falência renal, caso o doente não seja tratado. A evolução para este estágio pode ser independente de um controlo metabólico satisfatório e está associado a hipertensão arterial em 2/3 dos doentes. A TFG está comprometida nesta fase, com deterioração progressiva.⁷

Estádio 5: Estado Urémico

Historicamente, 40% dos doentes com DM1 atingem esta fase, que condiciona terapia renal substitutiva devido a falência renal. Está presente insuficiência renal que leva a um quadro clínico com síndrome urémica e outras complicações como anemia. Atualmente, os doentes com ND poderão ser candidatos a transplantação renal, no entanto, há evidência de reincidência das lesões no rim transplantado.⁷

6.1. Proteinúria e Albuminúria

A proteinúria é um fenómeno central à fisiopatologia da doença renal diabética, pelo que, uma compreensão aprofundada dos mecanismos por detrás deste fenómeno e dos seus efeitos ao nível de todo o organismo torna-se fundamental para uma abordagem mais eficaz ao doente diabético com doença renal. Os níveis de proteinúria correlacionam-se com a morbilidade cardiovascular e são bons indicadores para o prognóstico da doença renal diabética, visto que a proteinúria, por si só, é nefrotóxica. Num indivíduo saudável, o filtrado inicial produzido pelo glomérulo é obtido pela filtração do sangue e retenção de proteínas com peso molecular superior a 60kd, sendo que, a albumina sérica, com peso de 67kd, irá ser a principal proteína retida. São excretadas cerca de 40-80 mg de proteína por dia, das quais cerca de 15 mg são albumina, sendo o resto composto por proteína de *Tamm-Horsfall* e proteínas de baixo peso molecular, como por exemplo, β 2-microglobulina e α 1-microglobulina. Deste modo, está então preconizado que uma excreção de proteínas na urina superior a 150mg por dia é definido como proteinúria. Relativamente à albuminúria, esta considera-se elevada para valores superiores a 30mg por dia ou 30mg por cada grama de creatinina numa colheita ocasional. A proteinúria implicada na ND é devida a alterações morfológicas da MBG, sendo então uma albuminúria do tipo glomerular, partilhando este mecanismo com outras patologias glomerulares como glomerulonefrites, lúpus eritematoso sistémico e hipertensão. Ainda no contexto renal, a proteinúria pode ser devida a alterações tubulares e da sua capacidade de reabsorção proteica, sendo proeminente uma proteinúria para proteínas de baixo peso molecular. Ocasionalmente, a proteinúria pode ter origem pré-renal, como é o caso do mieloma múltiplo que condiciona um excesso proteico que supera a capacidade de reabsorção tubular ou ainda de causa pós-renal devido a processos inflamatórios ou hemorrágicos que adicionam proteínas ao filtrado.⁸

A nível glomerular, a integridade da MBG depende de três componentes: (1) endotélio glomerular, (2) MBG propriamente dita e (3) podócitos.⁸ Paralelamente a nível tubular, os defeitos residem essencialmente na reabsorção proteica, sendo o mecanismo envolvido a via da cubulina. A cubulina forma um complexo com a albumina, o que permite a sua reabsorção ao nível do túbulo contornado proximal por endocitose. De seguida, o complexo cubulina-albumina é processado e descomplexado pelo lisossoma celular, sendo nesta fase, fundamental uma outra molécula, denominada de megalina. Finalmente, citocinas pró-inflamatórias como TGF- β inibem este processo de endocitose da albumina mediado pela megalina e cubulina, promovendo a proteinúria a nível tubular.^{8,9}

6.2. Alterações histopatológicas da nefropatia diabética

De modo a perceber os mecanismos por detrás da proteinúria específica da ND é necessário perceber as alterações morfológicas da mesma. Precocemente na ND, existe hipertrofia renal, expansão mesangial e espessamento da MBG. Este espessamento é devido à deposição de moléculas como colagénio tipo IV produzidas pelos podócitos, enquanto que, a expansão mesangial é devida à hipertrofia celular e deposição de proteínas da matriz extracelular como colagénios do tipo IV, V e VI, laminina e fibronectina. Com a progressão da doença há disrupção da arquitetura do glomérulo devido a mesangiólise, levando à formação dos nódulos de Kimmelstiel–Wilson, típicos da ND. Estas alterações levam a uma redução da área de filtração e consequente redução da TFG. Relativamente aos podócitos, estes têm sido um crescente alvo no estudo da proteinúria e na ND, visto que, estão reportadas mutações em proteínas específicas dos podócitos com implicação na proteinúria. No entanto, o mecanismo podocitário prevalente na ND é a diminuição do número de podócitos em cada glomérulo associado a alargamento dos processos pediculados, alterações do citoesqueleto e alterações da carga elétrica.^{8,10} Depósitos de hialina são outro fenómeno presente na ND, nomeadamente, nas arteríolas aferentes e eferente e, ainda, entre a MBG e o endotélio, com implicações na cápsula de *bowman*. Com um papel mais secundário na ND, existe aterosclerose nas arteríolas renais, fibrose intersticial e dano endotelial. Este dano endotelial é devido a processos inflamatórios ativados por citocinas como TNF- α e Interleucina 6, adipocinas como leptina e adiponectina e ainda outros mediadores pró-inflamatórios como VEGF, NFkB, TGF- β , angiotensina II e espécies reativas de oxigénio.^{9,11} O endotélio glomerular é constituído por uma camada singular de células e um glicocálice constituído por proteoglicanos, glicolípidos e glicosaminoglicanos, que lhe conferem uma carga negativa permitindo filtrar maior parte das proteínas plasmáticas e alguns solutos de pequeno tamanho. Estudos preliminares constataram que o glicocálice está reduzido em 50% na DM com albuminúria, sugerindo um papel importante na fisiopatologia da ND.^{10,12}

Como já referido, o espessamento da MBG é das alterações primordiais da ND correlacionando-se com os níveis de proteinúria. Devido ao espessamento ter um surgimento tão precoce na doença, por vezes, antecedendo a proteinúria, coloca-se a hipótese de ser consequência direta da hiperglicémia.^{10,13} A exposição dos podócitos à hiperglicémia e à angiotensina II leva a um ambiente propício à produção de elementos da matriz como o colagénio tipo IV. Associadamente, existe uma diminuição da eliminação do mesmo por redução de metalproteinases, culminando no acumular de vários tipos de colagénio e consequente espessamento da MBG.

Este espessamento ocorre de forma desorganizada, levando a alterações estruturais da membrana afetando as ligações celulares e promovendo descolamento dos podócitos.^{10,14} Na verdade, os podócitos têm-se tornado cada vez mais a célula de estudo na ND, considerados o componente mais importante da MBG, sendo responsáveis pela manutenção da viabilidade da mesma e sendo a última barreira de filtração. São constituídos por um corpo e dois processos pediculados, com os quais se interligam a outros podócitos. Possuem um citoesqueleto especializado de actina que permite a sua adaptação morfológica, estando ancorados à MBG devido a integrinas e distroglicanos. O efeito barreira dos podócitos é conseguido devido à sua carga negativa no polo apical e devido às interdigitalizações dos seus processos pediculados que limitam o tamanho de moléculas filtradas. Deste modo, observa-se que a podocitopenia irá condicionar proteinúria devido ao comprometimento dos mecanismos já descritos. O fenómeno de podocitopenia é causado por certos aspetos: (1) Descolamento podocitário por redução da expressão de integrinas e espessamento da MBG; (2) Apoptose podocitária por stress oxidativo; (3) Défice de produção de novos podócitos pelo aumento da expressão de inibidores de *cyclin-dependent kinases* p21 e p27, impedindo progressão do ciclo celular.^{10,15} Associadamente à podocitopenia, o compromisso funcional destas células também contribui para o comprometimento da barreira de filtração. Esta disfunção é causada por anormalidades na junção dos processos pediculados e alterações do citoesqueleto.^{10,16} Nas fases iniciais da ND há um aumento da expressão de VEGF no glomérulo, promovido pela hiperglicémia, albumina glicada e angiotensina II. Este fenómeno vai levar a aumento da permeabilidade endotelial potenciando a proteinúria. Recentemente tem surgido evidência da utilização de inibidores de VEGF para prevenção da progressão da ND, nomeadamente, o espessamento da MBG e expansão mesangial. Numa fase mais tardia da ND, a concentração de VEGF tende a diminuir devido à podocitopenia que se instala.¹⁰

A expansão mesangial e os nódulos de Kimmelstiel–Wilson são os marcados histológicos mais característicos da ND. Um terço desta expansão é devida a hipertrofia celular e os restantes dois terços devido a deposição de proteínas da matriz extracelular.¹⁷ Esta expansão comprime os capilares glomerulares reduzindo a sua área de filtração e reduzindo a TFG, tendo menos relevância direta na questão da proteinúria. Na verdade, é a esclerose e a formação de microaneurismas causada pela expansão que poderá comprometer a função da MBG e desse modo influenciar a proteinúria.¹⁰ As células renais são estimuladas pela hiperglicémia para a produção de mediadores humorais, citocinas inflamatórias e fatores de crescimento que condicionam alterações estruturais e funcionais.¹⁸

6.3. Vias de lesão celular induzidas pela hiperglicémia

Produtos finais da glicação (AGEs)

Com a hiperglicémia crónica do doente diabético existe uma glicação de proteínas plasmáticas superior ao normal, o que compromete a função das mesmas através da disrupção da sua conformação molecular, alteração da sua atividade enzimática, redução da sua capacidade de degradação e conseqüente acumulação (contribuindo para o espessamento da MBG e expansão mesangial) e, ainda, interferência com o reconhecimento das proteínas pelo seu recetor.¹⁹ Estes fenómenos irão levar à deposição de AGEs na matriz extracelular e ativação de macrófagos com indução de microinflamação e esclerose. Por outro lado, a glicação do colagénio tipo IV e lâmina reduz a sua capacidade de acoplar com proteoglicanos, aumentando a permeabilidade vascular para a albumina. Adicionalmente, os AGEs induzem a apoptose das células mesangiais e aumentam a produção de VEGF, contribuindo para dano da arquitetura do glomérulo e aumento da permeabilidade vascular, culminando em hiperfiltração glomerular. Associadamente, os AGEs estimulam a produção de *insulin-like growth factors* tipo 1 e tipo 2, fator de crescimento plaquetário e *transforming growth factor-β* (TGFβ) nas células mesangiais, mediando a produção de colagénio tipo IV, laminina e fibronectina.²⁰ A relação dos AGEs com o seu recetor (RAGE) tem vindo a ser cada vez mais estudada. A produção de RAGEs pelos podócitos e células mesangiais está aumentada nos doentes com ND, sendo que este aumento está associado a aumento de microinflamação, pela ativação de NFκB, aumento da produção de VEGF e espécies reativas de oxigénio (ROS). Esta produção de ROS estimula a formação de fatores de crescimento pró-escleróticos como TGFβ e CTGF favorecendo a produção de matriz extracelular e a impedindo a sua degradação (Figura 1).^{19,20}

Proteína Cinase C (PKC)

A PKC é uma família de enzimas que fosforila várias proteínas alvo, sendo este processo dependente de fosfatidilserina e iões de cálcio, sendo potenciado pelo diacilglicerol. A ativação persistente destas enzimas, devido ao stresse oxidativo, é um grande contribuidor para a fisiopatologia da ND, visto que, o stresse oxidativo inibe a degradação do diacilglicerol e seus precursores, promovendo a sua acumulação e conseqüente ativação da PKC. Esta ativação da PKC aumenta a secreção de prostaglandinas vasodilatadoras e VEGF, que irão contribuir para hiperfiltração glomerular. A PKC também é responsável pela ativação do TGF-β aumentando a produção de matriz extracelular pelas células mesangiais.^{20,21}

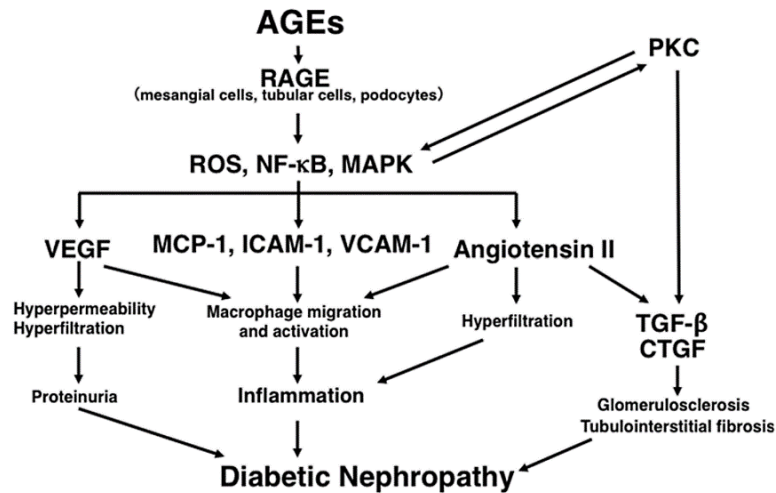


Figura 1: Papel fisiopatológico da relação AGE-RAGE na nefropatia diabética.²⁰

Legenda - AGES: Produtos finais da glicação; RAGE: Recetor de AGES; ROS: Espécies reativas de oxigénio; NFκB: *Nuclear factor kappa of activated B cells*; MAPK: *Mitogen Activated Protein Kinases*; MCP-1: *Monocyte Chemoattractant Protein-1*; ICAM-1: *intercellular adhesion molecule-1*; VCAM-1: *vascular adhesion molecule-1*; VEGF: *Vascular endothelial growth factor*; PKC: Proteína Cinase C; TGF-β: *transforming growth factor-β*; CTGF: *connective tissue growth factor*.

Via da hexosamina

A hiperglicémia causa uma maior introdução de glicose na via da hexosamina, sendo que a atividade aumentada desta via leva à formação de TGF-α, TGF-β1, e *plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1)*, condicionando aumento de expressão de proteínas da matriz extracelular e acumulação de compostos como o colagénio tipo IV.²²

Via dos polióis

A via dos polióis é baseada numa família de enzimas, encabeçada pela aldose redutase, que juntamente com *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH)*, reduzem glicose a sorbitol, um poliól. A entrada de glicose nas células renais é em grande parte mediada por transportadores de glicose (GLUTs) independentes de insulina, pelo que a concentração intracelular de glicose irá aumentar na presença de hiperglicémia no sangue. Devido a este facto, com o excesso de glicose intracelular vai haver aumento da redução de glicose em sorbitol com consequente acumulação deste último composto. Esta acumulação perturba o equilíbrio osmótico da célula e induz alterações bioquímicas como a produção de NADP+ que irá contribuir para o stress oxidativo.²³

6.4. Microinflamação

Recentemente tem sido estudado o papel da inflamação na ND, embora que, historicamente, esta não seja uma patologia associada a inflamação. Contudo, estudos recentes referem que a inflamação mediada pelas interleucinas 16 e 18 tem um papel relevante na iniciação do processo de desenvolvimento da ND, nomeadamente pela infiltração de macrófagos no interstício glomerular levando a aterosclerose das arteríolas renais, estando já a ser estudadas opções de utilizar estas interleucinas como biomarcadores para a deteção precoce de ND.^{3,24} A microinflamação é caracterizada por infiltração de células inflamatórias e aumento de expressão de células de adesão e citocinas pró-inflamatórias, no entanto, a uma escala reduzida comparativamente a doenças inflamatórias propriamente ditas. A infiltração dos leucócitos é dependente da adesão de células inflamatórias às células endoteliais e à transgressão do lúmen vascular para o local de inflamação. Moléculas de adesão expressas nas superfícies celulares irão mediar as ligações célula a célula e célula a matriz, assim como, a adesão dos leucócitos às células.²⁵ As principais moléculas deste grupo são a *intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1) e *vascular cell adhesion molecule-1* (VCAM-1). Está demonstrado que ambas estas moléculas estão em maior expressão na ND, permitindo a maior infiltração inflamatória e aumento da excreção de albumina. Associadamente existem moléculas como as selectina, cuja produção é induzida pela interleucina 1 e o TNF- α , que permitem a infiltração facilitada de macrófagos no interstício renal.²⁵

7. Rastreio

Atualmente o rastreio da ND é feito através da avaliação da albuminúria, sendo que esta pode ser classificada em A1, A2 e A3. (Tabela 1). A microalbuminúria no doente diabético está associada a aumento de 30% de risco para desenvolver nefropatia nos próximos 10 anos, assim como, para desenvolver qualquer outra complicação da DM, como por exemplo, a nível oftálmico ou vascular. O rastreio anual deve ser iniciado à data do diagnóstico de DM para os doentes com DM2 e após 5 anos do diagnóstico nos doentes com DM1.²⁶ A avaliação da albuminúria pode ser realizada pela quantificação de albumina na colheita de urina das 24 horas ou através da relação albumina/creatinina analisada numa amostra ocasional de urina, sendo que a colheita da primeira micção diária é a ideal. Visto que a relação albumina/creatinina pode ser variável tendo em conta a colheita é aconselhado repetir o exame passado 3 a 6 meses caso se detete microalbuminúria.

Tabela 1: Níveis de albuminúria (adaptado)²⁷

Categoria	Albuminúria	Colheita de urina ocasional (mg/g de creatinina)	Colheita de urina de 24 h (mg/24h)
A1	Normal a ligeiro aumento	< 30	< 30
A2	Microalbuminúria	30-300	30-300
A3	Macroalbuminúria	> 300	> 300

O cálculo da estimativa da TFG também deve ser enquadrado no rastreio da ND e avaliado anualmente através das equações específicas para o efeito (Tabela 2). Nas fases iniciais da ND existe uma elevação da TFG devido a uma hiperfiltração renal patológica, que pode ser acompanhada por aumento das dimensões dos rins na avaliação ecográfica. Após o aumento inicial existe um decréscimo progressivo da função renal, podendo culminar em DRT. A avaliação mais precisa da TFG pode ser feita com métodos radiológicos utilizando radioisótopos como o ⁹⁹Tc – DTPA, que estão disponíveis em meio hospitalar.

Nos últimos anos tem surgido o debate quanto à melhor equação para estimar a TFG, tendo sido levantadas várias críticas à equação de Cockcroft-Gault, pois nesta os valores de concentração sérica de creatinina não são padronizados para a superfície corporal, levando a uma sobrestimação da função renal. Pelo que não é recomendada a utilização desta fórmula na atividade clínica. Deste modo, as equações do MDRD Study e da CKD-EPI são preferidas.²⁸ Equações que utilizam a concentração de creatinina apresentam a mesma precisão comparativamente com as equações que utilizam um novo biomarcador denominado cistatina C, no entanto, equações que associam as concentrações de ambos os compostos mostraram melhor precisão, especialmente para crianças e doentes com TFG <30mL/min/1.73m². Um exemplo de uma equação com associação dos dois fatores é a equação do *Berlin Initiative Study* (BIS), sendo especialmente adequada para a população com mais de 70 anos, visto que, a concentração de cistatina C é menos afetada pela idade, género, raça ou biótipo da pessoa comparativamente à concentração de creatinina.²⁹

Tabela 2: Equações para o cálculo da estimativa da TFG^{26,30}

<p>Equação adaptada do MDRD Study</p> $\text{TFG (ml/min/1,73m}^2) = 175 \times (\text{S}_{\text{Cr}})^{-1.154} \times (\text{idade})^{-0.203} \times (0,742 \text{ se mulher})$
<p>Equação de Cockcroft-Gault</p> $\text{TFG (ml/min)} = [(140-\text{idade}) \times \text{Peso}] / (\text{S}_{\text{Cr}} \times 72) \times (0,85 \text{ se mulher})$
<p>2021 CKD-EPI Creatinina</p> $\text{TFG (ml/min)} = 142 \times (\text{Scr}/A)^B \times 0.9938^{\text{idade}} \times (1.012 \text{ se mulher})$

Legenda - Scr: creatinina sérica em mg/dl; Idade: em anos; Peso: em kg. Variáveis A e B disponíveis em³⁰

A utilização da albuminúria e da TFG para rastreio de ND apresenta algumas limitações, concretamente na estimativa da TFG, utiliza-se a creatinina sérica, sendo que esta é influenciada pela massa muscular, podendo adulterar os resultados em doentes desnutridos ou em casos de obesidade.³¹ Por outro lado, a albuminúria também apresenta limitações pois não se correlaciona otimamente com o declínio da função renal, visto que há doentes que regredem nos valores de albuminúria sem a tipicamente esperada melhoria a nível da função renal. Em adição, estão documentados casos de ND normoalbuminúrica.³²

A Cistatina C é um biomarcador tubular de alto interesse, sendo uma proteína plasmática filtrada livremente pelo glomérulo e reabsorvida no túbulo proximal. Apresenta uma vantagem fulcral sobre a creatinina, visto que, a Cistatina C urinária não é influenciada pela massa muscular, estado nutricional, peso ou raça, permitindo a sua utilização para estimativa da TFG de uma forma mais fiável.³³⁻³⁵ Estudos recentes mostraram que a Cistatina C correlaciona-se negativamente com a TFG, particularmente quando esta é superior a 60mL/min/1.73 m², logo estamos perante um marcador sensível para deteção precoce de ND.^{33,36} Em termos de defeitos como biomarcador, há a destacar a sua aparente elevação perante processos inflamatórios, sendo que este fenómeno necessita de ser melhor compreendido para uma aplicação da Cistatina C na prática clínica.³⁷

Outro biomarcador de elevado interesse é a *Neutrophil gelatinase-associated lipocalin* (NGAL), sendo este um preditor precoce de lesão tubular renal. Na verdade, a lesão tubular pode anteceder a lesão glomerular e portanto faz todo o sentido utilizar um biomarcador como o NGAL com o intuito de diagnosticar a ND o mais precocemente possível, conferindo maior sensibilidade ao método de rastreio.^{38,39} A NGAL é uma proteína produzida pelas células epiteliais tubulares em resposta à lesão tubulointersticial poucas horas após o fenómeno, nomeadamente, lesão isquémica.⁴⁰ A principal vantagem deste biomarcador é a sua elevação em doentes ainda normoalbuminúricos.³⁸ Por último, o NGAL tem a vantagem de se correlacionar positivamente com a progressão da doença, não sendo apenas útil no rastreio mas também no seguimento do doente, visto que os níveis de NGAL aumentam proporcionalmente à duração da diabetes, hemoglobina glicada, albuminúria e dislipidemia, permitindo uma abordagem holística do doente diabético.⁴¹

8. Estadiamento

O estadiamento da ND é de elevada importância de modo a prever a qualidade de vida e o prognóstico do doente, ajustar alvos e métodos terapêuticos e avaliar a progressão da doença. Deste modo, existem vários sistemas de classificação específicos para a ND, tendo já sido um deles abordado aquando da discussão da fisiopatologia. Por norma, os sistemas de classificação focam-se na classificação analítica ou na classificação histológica.

Sendo que a ND é uma forma de DRC, pode ser usada a *Chronic Kidney Disease Classification*, utilizada pela KDIGO, com o objetivo de estratificar o risco cardiovascular e morte por qualquer causa, permitindo ainda acompanhar a progressão da doença. Associa então a TFG, muitas vezes utilizada isoladamente para estadiar a DRC em cinco estádios, com a classificação da albuminúria (Tabela 3). O doente pode ser classificado tendo em conta o risco (ex. baixo risco) ou tendo em conta o estádio da DRC (ex. G2A1).²⁷

Tabela 3: Classificação da Doença Renal Crónica (adaptado)^{4,42}

		Albuminúria persistente Rácio albumina/creatinina numa colheita ocasional			
		A1	A2	A3	
		< 30 mg/g	30-300 mg/g	> 300 mg/g	
TFG (ml/min/1,73m ²)	G1	> 90			
	G2	60-89			
	G3a	45-59			
	G3b	30-44			
	G4	15-29			
	G5	<15			

Legenda - Verde: risco baixo; Amarelo: risco moderado; Laranja: risco alto; Vermelho: risco muito alto.

Na atualidade, a biópsia renal não é utilizada para o diagnóstico nem para o estadiamento da doença renal diabética, no entanto, a pertinência do estadiamento utilizando a biópsia renal tem sido alvo de discussão. Este facto deve-se à possibilidade de melhor caracterizar a nefropatia diabética com uma avaliação histológica do rim após a biópsia, no entanto, devido aos riscos associados ao procedimento este geralmente é dispensado.

Na verdade, atualmente, só está indicada a biópsia no doente diabético com doença renal nos casos de: (1) Hipertensão refratária e queda da função renal após início de terapêutica inibidora do SRAA; (2) Ausência de retinopatia diabética; (3) Hematúria; (4) Suspeita de outra doença sistêmica com implicações renais; (5) Deterioração abrupta da função renal sem causa aparente.⁵

A *American Society of Nephrology* apresenta uma classificação histopatológica da ND com análise de lesões glomerulares e intersticiais após biópsia renal contendo pelo menos dez glomérulos (Figura 2). Dentro da classificação para lesões glomerulares inicia-se com a “Classe I: Espessamento da membrana basal” onde se verifica um espessamento da MBG em cerca de 400 nm ao microscópico eletrónico associado a hialinose arteriolar.⁴³ O espessamento da MBG é até postulado ser uma alteração pré-diabética por certos autores, enfatizando o seu precoce surgimento na ND. Esta lesão também é um bom indicador de progressão da ND pois o tempo de albuminúria correlaciona-se fortemente com o espessamento da MBG.⁴⁴ De seguida temos a “Classe II: Expansão Mesangial” que se divide em IIa e IIb sendo esta expansão ligeira ou severa, respetivamente. A diferença entre a expansão ligeira e severa reside na proporção de área expandida na biópsia, sendo que, se for superior a 25% é considerada severa. Entende-se por área mesangial expandida quando a área mesangial é superior à área de lúmen arteriolar. Esta fase também engloba a fase de glomeruloesclerose difusa, que certos autores indicam como uma fase isolada. Nesta classificação a expansão mesangial não é discriminada quanto ao seu conteúdo, podendo ser ela causada por hiper celularidade mesangial, expansão da matriz intercelular ou esclerose.⁴³ De seguida, surge a “Classe III: Esclerose Nodular (lesões de Kimmelstiel–Wilson)” que é atribuída quando é possível detetar pelo menos um nódulo de Kimmelstiel–Wilson e menos de 50% da biópsia está afetada por glomeruloesclerose. Estes nódulos são descritos como lesões mesangiais focais, lobulares, redondas com um núcleo acelular, hialino e redondo. Dois processos estão na base da formação destes nódulos: lesões líticas do mesângio e descolamento de células endoteliais da MBG.⁴⁵ A presença de pelo menos um destes nódulos é indicador de DM de longa duração e parâmetros clínicos menos favoráveis. Por último temos a “Classe IV: Glomeruloesclerose Diabética Avançada” e é atribuída a biópsias com mais de 50% de glomeruloesclerose global imputável à ND.⁴³ Associada às lesões glomerulares existe nesta classificação da *American Society of Nephrology* um score para as lesões intersticiais e a sua extensão na biópsia, sendo elas: fibrose intersticial, atrofia tubular, inflamação intersticial, hialinose arteriolar e presença de arteriosclerose de grandes vasos.⁴³

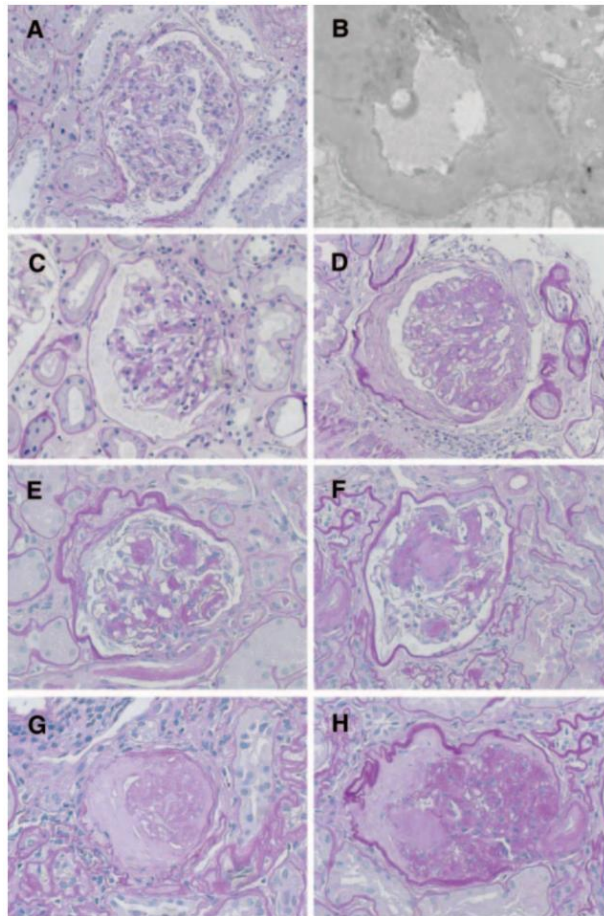


Figura 2: Alterações histopatológicas da ND (adaptado).⁴³

Legenda - (A) Classe I: Glomérulo com pequenas lesões isquêmicas com alterações na cápsula de Bowman. (B) Classe I: Medição da espessura da MBG com 671 nm, ao microscópio eletrônico. (C, D) Classe II: Glomérulo com expansão mesangial ligeira e severa, respetivamente. (E) Classe II: Lesão sem condições necessárias (esfericidade) para ser considerada um nódulo de Kimmelstiel–Wilson. (F) Classe III: Nódulo de Kimmelstiel–Wilson típico. (G) Glomérulo com esclerose, no entanto sem outros marcadores de ND, pelo que não pode ser atribuída classificação (H) Classe IV: Presença de Hialinose arteriolar (marcador de ND) e esclerose presente em mais de 50% do glomérulo.

9. Referenciação

Na sua maioria, o acompanhamento do doente diabético, especialmente no caso da DM2, é realizado nos cuidados de saúde primários em colaboração com algumas especialidades dos cuidados de saúde secundários, como por exemplo, para ajuste de esquemas terapêuticos ou para avaliação de complicações secundárias à DM. O *timing* da referenciação do doente diabético com patologia renal pode ser fulcral para o seu prognóstico, qualidade de vida e planeamento de terapêutica renal substitutiva. As várias entidades internacionais apresentam orientações diferentes quanto a este processo de referenciação, sendo que, não existe um valor analítico ou espaço temporal que indique automaticamente a referenciação para o nefrologista.^{2,26}

Na mais recente norma da DGS, a referenciação para avaliação em consulta de nefrologia deve ser feita aquando da deteção das alterações renais caso a etiologia não seja clara, nomeadamente, quando existe ausência de retinopatia diabética, visto que, as lesões microvasculares tendem a ser generalizadas. A ausência desta associação de patologias deve levantar a suspeita de outra etiologia para a lesão renal. Por outro lado, segundo a KDIGO, a referenciação deve ser feita caso o doente seja de risco muito alto (Tabela 3) ou caso apresente macroalbuminúria.⁴² A instituição inglesa, *National Institute for Health and Clinical Excellence*, apresenta algumas diferenças nos indicadores para referenciação, sendo novos indicadores: valores de TFG inferiores a 30 ml/min/1.73m² e o aumento em 30% da creatinina sérica após toma de terapêutica inibidora do SRAA.⁴⁶ A *American Diabetes Association* recomenda a referenciação em quatro cenários diferentes, sendo estes, TFG inferior a 30 ml/min/1.73m², deterioração abrupta da função renal, sedimento urinário ativo (contendo eritrócitos, leucócitos ou células em número anormal) e dificuldade na gestão do doente devido a complicações, como por exemplo, surgimento de anemia, hiperparatiroidismo, doença óssea metabólica, hipertensão refratária e distúrbios eletrolíticos.⁴⁷ No contexto europeu, a *European Renal Association* partilha componentes da referenciação com as orientações americanas e inglesas, no entanto, introduz o potássio como indicador para a referenciação. Especificamente, valores de caliémia fora do intervalo 3,5 a 5,5 mEq/L indicam avaliação em consulta de nefrologia. Associadamente, a associação europeia defende que a referenciação deve ser feita mais precocemente do que se constata atualmente em todo o mundo, de modo a prevenir falência renal aguda e morte, visto que quanto mais precocemente houver intervenção especializada maior é a eficácia no combate à progressão da DRC.^{48,49}

10. Conclusões

A nível estrutural, a alteração morfológica mais precoce na ND é o espessamento da MBG associado a expansão mesangial, acompanhada por glomeruloesclerose nodular e difusa conjuntamente com alterações ateroscleróticas das arteríolas aferente e eferente. Numa fase inicial, o padrão de glomeruloesclerose difuso predomina, contudo, com a hipertrofia crescente da matriz mesangial formam-se nódulos característicos, nódulos de Kimmelstiel–Wilson, e ainda se observa uma redução do número de podócitos por glomérulo. Do ponto de vista hemodinâmico, a hiperglicémia ativa várias vias que culminam em stress oxidativo e, conseqüente, lesão celular. A via com maior preponderância dentro da comunidade científica é a via dos produtos finais da glicação, sendo que, a microinflamação assume um papel de relevo na fisiopatologia da ND, contrariamente ao conhecimento científico passado. O atual rastreio da ND, utilizando a proteinúria e a TFG, apresenta sensibilidade satisfatória, estando neste momento a surgir novos biomarcadores que permitem uma deteção mais precoce da doença ou melhor precisão no estadiamento do doente, nomeadamente pela sua menor influência por fatores como idade, raça, género e biótipo. Os vários métodos de classificação da ND partilham semelhanças entre si, nomeadamente a tendência para a utilização da albuminúria e a TFG como fatores principais, no entanto, recentemente tem sido levantada a questão da importância da biopsia renal de modo a estadiar a doença com fundamentos histológicos, de modo a conferir maior eficácia ao tratamento implementado. A referenciação do doente diabético com doença renal ao especialista nefrologista não apresenta diretrizes consensuais entre as organizações de saúde mundiais, contudo, partilham conceitos chave como a TFG inferior a 60 ml/min/1.73m² e macroalbuminúria. Recentemente surgiram novos marcadores de referenciação como o sedimento urinário ativo e alterações da concentração sérica de potássio. No entanto, a referenciação para o médico especialista de nefrologia requer uma maior uniformização, de modo a proporcionar uma intervenção especializada mais atempada e otimizada, a fim de minimizar o impacto da nefropatia diabética na vida dos doentes.

11. Agradecimentos

Primeiramente, agradeço à Professora Doutora Leonor Gomes e à Dra. Joana Saraiva pela disponibilidade para orientar a minha tese de mestrado e pela prontidão para esclarecer as minhas dúvidas ao longo do trabalho. As suas contribuições foram indispensáveis a este artigo de revisão, tanto do ponto de vista científico como estrutural.

Agradeço ao meu núcleo familiar por me proporcionar as condições ideais para desenvolver este trabalho e por me fornecer a inspiração para o tema que escolhi.

Por último, agradeço aos meus colegas e amigos pelo contínuo suprimento de motivação e incentivo no decorrer deste trabalho.

12. Referências

1. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas 10th edition. 2021
2. Correia LG, Boavida JM, Almeida JF, Anselmo J, Cardoso M.S, Costa AL. Diabetes: Factos e Números – O Ano de 2016, 2017 e 2018 – Relatório Anual do Observatório Nacional da Diabetes. 2019
3. Samsu N. Diabetic Nephropathy: Challenges in Pathogenesis, Diagnosis and Treatment. 2021:1497449.
4. The UK Kidney Association. CKD Stages. Disponível em:<https://ukkidney.org/health-professionals/information-resources/uk-eckd-guide/ckd-stages> (25 October 2022)
5. Hull KL, Sherna A, Adenwalla F, Topham P, Graham-Brown M. Indications and considerations for kidney biopsy: an overview of clinical considerations for the non-specialist. *Clinical Medicine* 2022;**22**:34–40.
6. Arora MK, Singh UK. Molecular mechanisms in the pathogenesis of diabetic nephropathy: an update. *Vascul Pharmacol* 2013:259–271.
7. Melmed S, Auchus RJ, Goldfine AB, Koenig R, Rosen CJ. *Williams textbook of endocrinology 14th Edition*. 2019.
8. Gorriz JL, Martinez-Castelao A. Proteinuria: Detection and role in native renal disease progression. *Transplant Rev* 2012;**26**:3–13.
9. Christensen EI, Gburek J. Protein reabsorption in renal proximal tubule-function and dysfunction in kidney pathophysiology. *Pediatr Nephrol* 2004;**19**:714–721.
10. Jefferson JA, Shankland SJ, Pichler RH. Proteinuria in diabetic kidney disease: A mechanistic viewpoint. *Kidney Int* 2008;**74**:22–36.

11. Pavenstädt H, Kriz W, Kretzler M. Cell biology of the glomerular podocyte. *Physiol Rev* 2003;**83**:253–307.
12. Zuurbier CJ, Demirci C, Koeman A, Vink H, Ince C. Short-term hyperglycemia increases endothelial glycocalyx permeability and acutely decreases lineal density of capillaries with flowing red blood cells. *J Appl Physiol (1985)* 2005;**99**:1471–1476.
13. Drummond K, Mauer M. The early natural history of nephropathy in type 1 diabetes: II. Early renal structural changes in type 1 diabetes. *Diabetes* 2002;**51**:1580–1587.
14. Chen S, Kasama Y, Lee JS, Jim B, Marin M, Ziyadeh FN. Podocyte-derived vascular endothelial growth factor mediates the stimulation of alpha3(IV) collagen production by transforming growth factor-beta1 in mouse podocytes. *Diabetes* 2004;**53**:2939–2949.
15. Fogo AB. Mechanisms of progression of chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol* 2007;**22**:2011.
16. Huber TB, Benzing T. The slit diaphragm: a signaling platform to regulate podocyte function. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2005;**14**:211–216.
17. Herrera GA. Plasticity of mesangial cells: a basis for understanding pathological alterations. *Ultrastruct Pathol* 2006;**30**:471–479.
18. Schena FP, Gesualdo L. Pathogenetic Mechanisms of Diabetic Nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2005;**16**:30–33.
19. Fukami K, Yamagishi S ichi, Kaifu K, Matsui T, Kaida Y, Ueda S, Takeuchi M, Asanuma K, Okuda S. Telmisartan inhibits AGE-induced podocyte damage and detachment. *Microvasc Res* 2013;**88**:79–83.
20. Yamagishi SI, Matsui T. Advanced glycation end products, oxidative stress and diabetic nephropathy. *Oxid Med Cell Longev* 2010;**3**:101–108.

21. Giacco F, Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications. 2010;**107**:1058–1070.
22. Du XL, Edelstein D, Rossetti L, Fantus IG, Goldberg H, Ziyadeh F, Wu J, Brownlee M. Hyperglycemia-induced mitochondrial superoxide overproduction activates the hexosamine pathway and induces plasminogen activator inhibitor-1 expression by increasing Sp1 glycosylation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;**97**:12222–12226.
23. Sagoo MK, Gnudi L. Diabetic nephropathy: is there a role for oxidative stress? 2018;**116**:50–63.
24. Shikata K, Makino H. Microinflammation in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *J Diabetes Investig* 2013;**4**:142.
25. Shikata K, Makino H. Microinflammation in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *J Diabetes Invest* 2013;**4**:142–149.
26. Francisco George; DGS. Prevenção e Avaliação da Nefropatia Diabética. 2011.
27. Inker LA, Astor BC, Fox CH, Isakova T, Lash JP, Peralta CA, et al. KDIGO Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of CKD. 2014;**63**:713–735.
28. National Kidney Foundation. Cockcroft-Gault Formula. Disponível em:https://www.kidney.org/professionals/kdoqi/gfr_calculatorCoc (31 October 2022)
29. Musso CG, Álvarez-Gregori J, Jauregui J, Macías-Núñez JF. Glomerular filtration rate equations: a comprehensive review. *Int Urol Nephrol* 2016;**48**:1105–1110.
30. MDCalc. CKD-EPI Equations for Glomerular Filtration Rate. Disponível em:<https://www.mdcalc.com/calc/3939/ckd-epi-equations-glomerular-filtration-rate-gfr#evidence> (17 November 2022)
31. Currie G, Delles C. Urinary Proteomics for Diagnosis and Monitoring of Diabetic Nephropathy. *Curr Diab Rep* 2016;**16**.

32. Uwaezuoke SN. The role of novel biomarkers in predicting diabetic nephropathy: a review. *Int J Nephrol Renovasc Dis* 2017;**10**:221–231.
33. Lee SY, Choi ME. Urinary biomarkers for early diabetic nephropathy: Beyond albuminuria. *Pediatr Nephrol* 2015;**30**:1063.
34. Satirapoj B. Tubulointerstitial Biomarkers for Diabetic Nephropathy. *J Diabetes Res* 2018;**2018**:2852398.
35. Żyłka A, Gala-Błądzińska A, Rybak K, Dumnicka P, Drożdż R, Kuśnierz-Cabala B. Role of new biomarkers for the diagnosis of nephropathy associated with diabetes type 2. 2015;55:21-33
36. Kim SS, Song SH, Kim IJ, Jeon YK, Kim BH, Kwak IS, et al. Urinary cystatin C and tubular proteinuria predict progression of diabetic nephropathy. *Diabetes Care* 2013;**36**:656–661.
37. Jerums G, Premaratne E, Panagiotopoulos S, Clarke S, Power DA, MacIsaac RJ. New and old markers of progression of diabetic nephropathy. *Diabetes Res Clin Pract* 2008;**82**.
38. Gluhovschi C, Gluhovschi G, Petrica L, Timar R, Velciov S, Ionita I, et al. Urinary Biomarkers in the Assessment of Early Diabetic Nephropathy. *J Diabetes Res* 2016.
39. Zhang J, Liu J, Qin X. Advances in early biomarkers of diabetic nephropathy. *Rev Assoc Med Bras* 2018;**64**:85–92.
40. Moresco RN, Sangoi MB, Carvalho JAM de, Tatsch E, Bochi G v. Diabetic nephropathy: traditional to proteomic markers. *Clin Chim Acta* 2013;**421**:17–30.
41. Siddiqi Z, Karoli R, Kaul A, Fatima J, Varshney S, Beg MS. Evaluation of neutrophil gelatinase-associated lipocalin and cystatin C as early markers of diabetic nephropathy. *Ann Afr Med* 2017;**16**:101–106.

42. Boer IH de, Khunti K, Sadusky T, Tuttle KR, Neumiller JJ, Rhee CM, et al. Diabetes management in chronic kidney disease: consensus report by the American Diabetes Association (ADA) and Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int* 2022.
43. Cohen Tervaert TW, Mooyaart AL, Amann K, Cohen AH, Cook HT, Drachenberg CB, et al. Pathologic Classification of Diabetic Nephropathy. 2010;**21**:63–556.
44. Lai FMM, Szeto CC, Choi PCL, Ho KKL, Tang NLS, Chow KM, Li PKT, To KF. Isolate diffuse thickening of glomerular capillary basement membrane: a renal lesion in prediabetes? *Mod Pathol* 2004;**17**:1506–1512.
45. Nishi S, Ueno M, Hisaki S, Iino N, Iguchi S, Oyama Y, Imai N, Arakawa M, Gejyo F. Ultrastructural characteristics of diabetic nephropathy. *Med Electron Microsc* 2000;**33**:65–73.
46. Shields J, Maxwell AP. Managing diabetic nephropathy. *Clinical Medicine* 2010;**10**:500.
47. Association AD. 11. Microvascular Complications and Foot Care: Standards of Medical Care in Diabetes. *Diabetes Care* 2019;**42**:S124–S138.
48. Martínez-Castelao A, Soler MJ, Fernandez-Fernandez B, Moreno A, Ortiz A, et al. Optimizing the timing of nephrology referral for patients with diabetic kidney disease. *Clin Kidney J* 2021;**14**:5–8.
49. Kramer A, Pippias M, Noordzij M, Stel VS, Andrusev AM, et al. The European Renal Association-European Dialysis and Transplant Association Registry Annual Report 2016: a summary. *Clin Kidney J* 2019;**12**:702–720.