

**UNIVERSIDAD DE GRANADA. FACULTAD DE MEDICINA  
DEPARTAMENTO DE MEDICINA**



**TESIS DOCTORAL**

**CAMBIOS EN LA EXCRECION URINARIA DE N-ACETIL-BETA-  
GLUCOSAMINIDASA EN PACIENTES CON DIABETES TIPO 2 EN  
TRATAMIENTO CON LOSARTAN**

**LOURDES ZUÑIGA GOMEZ  
ENERO 2008**



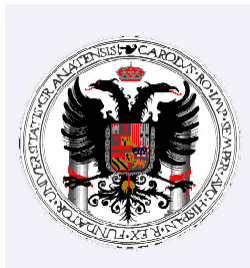


UNIVERSIDAD DE GRANADA. FACULTAD DE MEDICINA  
DEPARTAMENTO DE MEDICINA

TESIS DOCTORAL

**CAMBIOS EN LA EXCRECIÓN URINARIA DE N-ACETIL-BETA-  
GLUCOSAMINIDASA EN PACIENTES CON DIABETES TIPO 2 EN  
TRATAMIENTO CON LOSARTAN**

**LOURDES ZUÑIGA GOMEZ**  
**Granada a 30 de Enero de 2008**



UNIVERSIDAD DE GRANADA. FACULTAD DE MEDICINA  
DEPARTAMENTO DE MEDICINA

**FRANCISCO JOSE PEREZ BLANCO. PROFESOR TITULAR DE MEDICINA  
DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA**

**CERTIFICA QUE:**

Lourdes Zúñiga Gómez ha realizado bajo mi dirección la Tesis Doctoral titulada: “*Cambios en la excreción urinaria de N-Acetil-Beta-glucosaminidasa en pacientes con Diabetes tipo 2 en tratamiento con losartán*”, con aprovechamiento.

El que suscribe ha revisado y dirigido el presente trabajo y lo considera apto para su aprobación por la Comisión Correspondiente

Granada a 30 de Enero de 2008



UNIVERSIDAD DE GRANADA. FACULTAD DE MEDICINA  
DEPARTAMENTO DE MEDICINA

**MIGUEL ANGEL LOPEZ RUZ. PROFESOR ASOCIADO DE MEDICINA DE  
LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA.**

**CERTIFICA QUE:**

Lourdes Zúñiga Gómez ha realizado bajo mi dirección la Tesis Doctoral titulada: "*Cambios en la excreción urinaria de N-Acetil-Beta-glucosaminidasa en pacientes con Diabetes tipo 2 en tratamiento con losartán*", con aprovechamiento.

El que suscribe ha revisado y dirigido el presente trabajo y lo considera apto para su aprobación por la Comisión Correspondiente

Granada a 30 de Enero de 2008

**A Miguel Angel, Miguel y Daniel**

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Profesor D. Antonio Rodríguez Cuartero, Director de este trabajo que no pudo ver finalizado por dejarnos de forma prematura. Investigador y médico incansable, sin lugar para el desanimo, que será recordado por todos como una buen profesional y mejor persona.

Al Profesor D. Francisco Pérez Blanco por su confianza y disposición durante la dirección de esta Tesis, siempre dispuesto a aclararme las dudas, dirigir mis pasos por el camino acertado y supervisar el trabajo. Sin su ayuda no podría haber sido realizado

A Emilio Vico Fernández, ayuda inestimable en todas las dudas y problemas informáticos.

A Sabina Pérez Vicente de la Unidad de Investigación del Hospital Universitario Virgen de la Nieves, por su ayuda en el análisis estadístico y su disposición siempre que he solicitado su consejo

A Carmen, Auxiliar de Clínica del Centro de Salud de Maracena, por su ayuda en la recogida y conservación de las muestras.

A mis padres, por su cariño, por haber estado siempre a mi lado, por sus sacrificios y dedicación intentando hacer de mí una buena persona. A mi padre, que me inculcó el amor por esta profesión y que, aunque nos dejo físicamente, continúa siempre a mi lado y se sentirá feliz de ver terminada esta tesis.

Por último y no por ello menos importante a Miguel Angel, que como director de la tesis me ha ayudado desde el punto de vista científico a resolver dudas y supervisar el trabajo, pero sobre todo, por su confianza casi ilimitada en mí, por animarme a seguir siempre adelante, por compartir conmigo alegrías y problemas. Si no hubiera estado a mi lado no habría podido realizar este trabajo. A mis hijos Miguel y Daniel, parte fundamental de mi vida, que se han visto privados con frecuencia de mi compañía durante la elaboración de esta tesis, con todo mi cariño.



## **INDICE**

<b>INTRODUCCION .....</b>	<b>7</b>
<b>INTRODUCCION A LA NEFROPATÍA DIABÉTICA .....</b>	<b>8</b>
<b>EPIDEMIOLOGIA DE LA NEFROPATÍA DIABETICA .....</b>	<b>9</b>
<b>FACTORES DE RIESGO EN EL DESARROLLO DE NEFROPATIA ..</b>	<b>12</b>
<b>Factores genéticos .....</b>	<b>12</b>
<b>Sistema renina-angiotensina-aldosterona .....</b>	<b>13</b>
<b>Hiper glucemia .....</b>	<b>14</b>
<b>Hipertensión arterial .....</b>	<b>15</b>
<b>Proteinuria .....</b>	<b>16</b>
<b>Dislipemia .....</b>	<b>17</b>
<b>Consumo de tabaco .....</b>	<b>17</b>
<b>HISTORIA NATURAL DE LA NEFROPATÍA DIABÉTICA .....</b>	<b>18</b>
<b>TRATAMIENTO DE LA NEFROPATÍA DIABETICA .....</b>	<b>23</b>
<b>Hiper glucemia .....</b>	<b>23</b>
<b>Hiperlipemia .....</b>	<b>24</b>

Obesidad .....	24
Restriccion proteica .....	24
Tabaquismo .....	25
Hipertensión arterial .....	25
Efecto del tratamiento con bloqueadores del SRA .....	25
Efecto del tratamiento con otros fármacos .....	28
Combinación de drogas antihipertensivas .....	29
<b>ENZIMAS URINARIOS .....</b>	<b>31</b>
Introduccion .....	31
Fuentes de los enzimas urinarios .....	33
Condiciones normales .....	33
Condiciones patologicas .....	34
N-acetil-beta-glucosaminidasa (NAG) .....	35
<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>43</b>

<b>MATERIAL Y METODOS</b> .....	45
<b>I. MATERIAL</b> .....	46
Plan de estudio .....	46
Pacientes .....	47
<b>II. METODOS</b> .....	49
Determinaciones generales de laboratorio .....	49
Determinaciones especiales .....	50
a. Manejo de las muestras de orina .....	50
b. Determinación de n-acetil- $\beta$ -glucosaminidasa (NAG) .....	50
<b>III. ANALISIS ESTADÍSTICO</b> .....	54
<b>IV. METODO REVISION BIBLIOGRÁFICA</b> .....	55
<b>RESULTADOS</b> .....	56
ESTUDIO DESCRIPTIVO .....	59
ESTUDIO UNIVARIANTE .....	76
ESTUDIO MULTIVARIANTE .....	91

<b>DISCUSION</b> .....	92
<b>CONCLUSIONES</b> .....	116
<b>BIBLIOGRAFIA</b> .....	118

## ABREVIATURAS

<b>A I</b>	Angiotensina I
<b>A II</b>	Angiotensina II
<b>AGE<sub>s</sub></b>	Productos de glicosilación avanzada
<b>ARA II</b>	Inhibidores de la angiotensina II
<b>DM</b>	Diabetes mellitus
<b>ECA</b>	Enzima convertidora de angiotensina
<b>ERT</b>	Enfermedad renal terminal
<b>EUA</b>	Excreción urinaria de albúmina
<b>GGT</b>	Gamma-glutamyl-transpeptidasa
<b>HbA1c</b>	Hemoglobina glicosilada
<b>HTA</b>	Hipertensión arterial
<b>IECA</b>	Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina
<b>IMC</b>	Índice de masa corporal
<b>IRC</b>	Insuficiencia renal crónica
<b>IRT</b>	Insuficiencia renal terminal
<b>LDH</b>	Lactato deshidrogenasa
<b>NAG</b>	N-acetil- $\beta$ - glucosaminidasa
<b>ND</b>	Nefropatía diabética
<b>SRAA</b>	Sistema renina angiotensina aldosterona
<b>TA</b>	Tensión arterial
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	Factor transformador de crecimiento $\beta$
<b>TRS</b>	Tratamiento renal sustitutivo

## **INTRODUCCION**

## INTRODUCCION A LA NEFROPATÍA DIABÉTICA

La diabetes mellitus (DM) es la enfermedad endocrina más frecuente con una incidencia del 1-2% de la población, y una alta prevalencia en todo el mundo<sup>1</sup>, que origina un alto gasto económico. Es una enfermedad con un elevado índice de complicaciones, que aumentan con la edad de los pacientes, y una gran mortalidad. Para el año 2010 se calcula que habrá en todo el mundo unos 220 millones de pacientes con DM tipo 2<sup>1</sup>.

La nefropatía diabética (ND) aparece en alrededor del 40% de los diabéticos, suele diagnosticarse a los 10-15 años del diagnóstico de diabetes con aparición de microalbuminuria persistente. Es una complicación muy severa, que una vez instaurada (fase de ND establecida), es irreversible y progresa hacia la insuficiencia renal terminal (IRT), cursando con una alta morbimortalidad cardiovascular<sup>2</sup> que no se detiene tras el trasplante renal, siendo las complicaciones cardiovasculares la primera causa de muerte en pacientes trasplantados diabéticos<sup>3</sup>.

La mejor intervención sería prevenir el desarrollo de la propia diabetes, al menos la tipo 2, que en la actualidad es la más frecuente<sup>4</sup>. Sin embargo una vez establecida, habría que actuar sobre los factores de riesgo que conducen a sus complicaciones y en especial a la ND<sup>5</sup>, ya que ésta es responsable del 84 % de los nuevos casos de insuficiencia renal<sup>6</sup>.

En la actualidad existe suficiente evidencia que demuestra que se puede actuar para retrasar el desarrollo de la DM tipo 2, y por consiguiente retrasar la ND en los pacientes predispuestos<sup>5</sup>. Sin embargo estudios epidemiológicos, tanto americanos como europeos, ponen de manifiesto importantes deficiencias en el cuidado de pacientes con IR preterminal<sup>7</sup>.

Se admite que la eficacia y duración del tratamiento de la hiperglucemia<sup>8</sup>, el control de la tensión arterial (TA)<sup>9,10</sup>, y los factores genéticos<sup>11,12,13,14,15</sup>, son importantes en la evolución de la ND. Sin embargo, aunque posiblemente existe cierta influencia genética, son los factores no genéticos relacionados con la propia diabetes y otros influenciados médicamente los que constituyen la patogenia fundamental de la ND<sup>16</sup>.



---

## EPIDEMIOLOGIA DE LA NEFROPATÍA DIABÉTICA

En los países desarrollados, la DM es no solo la principal causa de insuficiencia renal crónica (IRC), sino la que tiene un crecimiento más acelerado en la última década, siendo uno de los principales problemas de salud del mundo con un gran impacto socioeconómico. En 1998 los costes anuales asociados con la IRT en los Estados Unidos alcanzaron 12 mil millones de dólares y se espera que supere 28 mil millones en 2010<sup>17</sup>. En 1998, el coste estimado del cuidado para un paciente diabético que requiere diálisis era 51,000 dólares por año, aproximadamente 12,000 más que el coste para un paciente no diabético<sup>18</sup>.

El espectacular incremento de la diabetes como causa de insuficiencia renal ha hecho que sea considerado por muchos autores como un proceso con características epidémicas, y no parece presentar tendencia a la estabilización. Ello es debido a que, aunque la prevalencia de la DM tipo 1 continúa sin grandes variaciones, está en constante aumento en la diabetes tipo 2 por distintos motivos<sup>7,18</sup>:

- Factores ambientales, tales como las dietas hipercalóricas, vida sedentaria, obesidad,
- Envejecimiento de la población, con lo que la DM tipo 2 se hace más prevalente
- Aumento de la supervivencia de pacientes con DM tipo 2,
- Mayor disposición de recursos humanos y materiales que hace más accesible el tratamiento con diálisis a pacientes con más factores de comorbilidad, como son los diabéticos; dejando de ser la edad o la enfermedad cardiovascular concomitante criterios de exclusión<sup>6</sup>

La epidemiología de la ND fue mejor estudiada durante años en pacientes con DM tipo 1, ya que el tiempo de comienzo es habitualmente conocido. Se ha comprobado que existe una relación estricta entre la duración de la DM tipo 1 y la presencia de ND<sup>19</sup>. El riesgo se inicia a los 5 años del comienzo de la enfermedad, aumenta un 2,5% anual hasta la segunda década y a partir de entonces disminuye a un 1% anual<sup>19,20,21,22</sup>. La máxima incidencia de la nefropatía en los diabéticos tipo 1 se

---

sitúa entre los 10 y los 15 años de evolución de la enfermedad, con un pico a los 15 años, siendo la incidencia acumulada a los 30 años de evolución del 45 al 50%<sup>23</sup>.

En la DM tipo 2 ocurre algo similar, pero más difícil de evaluar, dado el desconocimiento de la etapa que precede a su diagnóstico clínico, pudiendo detectarse microalbuminuria o fracaso renal en el momento del diagnóstico<sup>24</sup>.

La prevalencia de la microalbuminuria puede variar en las diferentes zonas geográficas, debido probablemente a la predisposición genética y a condicionantes ambientales. En los EEUU la población de nativos americanos, hispanos y de raza negra tienen un riesgo notablemente superior al de la raza blanca de desarrollar una nefropatía<sup>25</sup>. Este aumento de la incidencia de nefropatía también ha sido descrito en otros grupos étnicos (nigerianos<sup>26</sup>, indios pima<sup>27</sup>). Por ello, para poder efectuar una planificación sanitaria adecuada, es importante determinar la prevalencia de la ND en cada área geográfica, con el fin de evitar errores en la extrapolación de los datos obtenidos en otros países<sup>28</sup>.

En España se realizaron estudios epidemiológicos en los años noventa para valorar la prevalencia de nefropatía tanto en la DM tipo 1<sup>28</sup>, como en DM tipo 2<sup>29</sup>. En la DM tipo 1 la prevalencia de nefropatía fue del 22-26% (13-14% de microalbuminuria y 9-12% de nefropatía establecida) y en DM tipo 2 del 31-35% mayoritariamente a expensas de los pacientes en fase de microalbuminuria. En otros estudios los datos obtenidos son similares<sup>22</sup>.

Se ha constatado un incremento de la ND como causa de ERT en la mayoría de los países<sup>7</sup>. En Canadá, en 1996 el número de pacientes con IRT ascendía a 17.807 calculándose un incremento anual 5.8%<sup>30</sup>. En EE.UU. en 1985<sup>31</sup> el 10% del total de pacientes en tratamiento renal sustitutivo (TRS) eran diabéticos, pasando a ser el 40% en 1998<sup>32</sup> y el 50% en 2001<sup>18</sup>. En el año 2003 se publicaron los datos de la evolución de la incidencia de TRS en Europa durante los años 1990-1999<sup>33</sup>, constatándose un incremento anual del 4,8%, siendo el incremento claramente mayor en hombres que en mujeres y relacionado con la edad, siendo la ND la primera causa de IRT. En España también es la primera causa de insuficiencia renal, habiendo pasado en los diez últimos años del siglo pasado de 11,9 casos por millón de habitantes a 22,4 casos en 1998-1999<sup>33</sup>. Datos similares han sido publicados en otros estudios<sup>6</sup>.

Desde hace tiempo se conoce que la ND es la causa principal de muerte en los pacientes con DM tipo 1<sup>34,35</sup>. En la diabetes tipo 2, existen otras complicaciones sistémicas que predominan sobre la enfermedad renal como causas de muerte<sup>20</sup>.

El pronóstico de los pacientes diabéticos en TRS ha mejorado pero sigue siendo peor que en el resto de los enfermos con insuficiencia renal<sup>36,37</sup>. Entre los pacientes que requieren diálisis, aquéllos con diabetes tienen una mortalidad al año y a los 5 años del 22% y del 15 % respectivamente, más alta que los pacientes sin diabetes<sup>32</sup>.

---

## FACTORES DE RIESGO EN EL DESARROLLO DE NEFROPATIA

Existen varios mecanismos implicados en la etiopatogenia de la ND, habiéndose descrito múltiples situaciones de riesgo para su desarrollo, entre los que cabe destacar: Factores genéticos, anomalías en el sistema renina-angiotensina-aldosterona, hiperglucemia, hipertensión arterial, proteinuria, dislipemia y el consumo de tabaco.

### 1. FACTORES GENÉTICOS.

Hay trabajos publicados que relacionan la aparición de ND con una determinada base genética<sup>11,12,13,14,15,38</sup>. La susceptibilidad genética individual y étnica, condicionan no solo la incidencia, sino la gravedad de la ND<sup>39</sup>. Dicha susceptibilidad puede explicar por qué un porcentaje de pacientes normotensos y con buen control de la diabetes desarrollan ND temprana, mientras que otros con un mal control de ambos factores no la desarrollan, y explica también la agregación familiar<sup>40</sup> y étnica<sup>41</sup> observada en la incidencia de la ND. Por tratarse de un proceso poligénico, los numerosos estudios realizados para encontrar genes candidatos o determinados polimorfismos son todavía poco concluyentes<sup>42</sup>. Los más estudiados han sido los polimorfismos genéticos que codifican el sistema renina-angiotensina-aldosterona, en especial el gen de la enzima convertidora de la angiotensina I (ECA), el del angiotensinógeno y el del receptor de la angiotensina II (A II). Los polimorfismos del gen de la ECA homocigotos para el alelo D se han asociado a la presencia de ND desde los trabajos iniciales de Marre et al<sup>43</sup>, aunque algunos estudios posteriores no han confirmado la asociación<sup>44</sup>. En cuanto a los estudios de ligamiento genético en familias con varios miembros afectados de ND, se ha evidenciado un *locus* de susceptibilidad para la ND en el cromosoma 10 en individuos caucásicos<sup>45</sup>, mientras que entre los indios pima se han descrito ligamientos en otros cromosomas<sup>46</sup>. Con respecto a la progresión de la ND, los resultados de los estudios del gen de la ECA parecen más homogéneos, por lo menos en la DM tipo 1. Así, el grupo de Marre<sup>47</sup> ha seguido a una cohorte de pacientes con DM tipo 1 durante 6 años y ha demostrado que la progresión de la ND se ve influida negativamente por el polimorfismo de delección DD en el gen de la ECA respecto a otros. Además, la coexistencia de este genotipo DD junto a variantes genotípicas asociadas a la

---

insulinorresistencia o a determinados polimorfismos del gen del angiotensinógeno lleva a una progresión más rápida de la ND<sup>48,49</sup>. En pacientes con DM tipo 2, estudios semejantes también han asociado la presencia de un genotipo del gen de la ECA DD con una rápida evolución de la ND<sup>50,51</sup>, aunque para confirmar estos hallazgos sería preciso el seguimiento de cohortes con un diagnóstico de ND comprobado por biopsia, ya que hasta un 35% de los pacientes proteinúricos con DM tipo 2 presentan nefropatía no diabética<sup>52</sup>. Por último, los polimorfismos del gen de la ECA se han relacionado con los efectos renoprotectores del tratamiento con inhibidores de la ECA (IECA), aunque con resultados contradictorios. También se han estudiado los genes relacionados con los lípidos en relación con la ND, como los polimorfismos del gen de la apolipoproteína B, en el contexto de microalbuminuria en DM tipo 1<sup>53</sup>. En pacientes con DM tipo 2, hipercolesterolemia y microalbuminuria, la ND parece tener un curso más acelerado en los homocigotos para algunos alelos del *locus* de la lipoproteinlipasa, que a su vez se asocian a enfermedad coronaria<sup>54</sup>.

## 2. SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA-ALDOSTERONA

Dentro de los factores hemodinámicos que intervienen en el desarrollo y progresión de la ND, es sin duda el sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) el más importante y sobre el que existen más publicaciones

El SRAA es activado por diferentes estímulos, como el estrés, la ingesta elevada de sodio o la actividad simpática. Estos estímulos se traducen en un aumento de los niveles de renina plasmática, con el consiguiente incremento de angiotensina I (A I). Este decapeptido inactivo es modificado por la ECA, transformándose en un octapeptido activo, la A II. Además de catalizar esta conversión, la ECA regula la degradación de la bradiquinina y otros péptidos vasoactivos<sup>55</sup>

La generación de A II por vías enzimáticas no dependientes de la ECA es especialmente relevante en varios tejidos, como el miocardio disfuncionante, el riñón o las grandes arterias de resistencia<sup>56</sup>. Tanto la quinasa como la catepsina contribuyen a la conversión de A I en A II y se ha descrito su activación en trastornos que cursan con un incremento del estrés oxidativo, como los procesos proinflamatorios vasculares, la aterogénesis y la diabetes mellitus<sup>57</sup>. En estos casos, entre el 60-70 % de la A II circulante puede ser producida por estas vías alternativas<sup>58</sup>.

En humanos casi todos los efectos clínicos conocidos de la A II están mediados por el receptor AT1. El receptor AT2, menos conocido, podría jugar un papel en los procesos de apoptosis y fibrosis glomerular y puede favorecer la vasoconstricción y el aumento de la producción de aldosterona<sup>59</sup>.

La A II es un potente vasoconstrictor que actúa regulando la hemodinámica sistémica, produciendo un aumento de los niveles de presión arterial como consecuencia de una vasoconstricción directa y de un incremento de la síntesis de aldosterona, que se acompaña de una retención de sodio y un aumento del volumen circulante. Además, la A II generada localmente a nivel renal, produce constricción de las células mesangiales, de la arteriola aferente y sobre todo de la arteriola eferente, lo que conduce a la hipertensión glomerular, que aparece en las fases precoces de la enfermedad diabética y que se ha considerado un importante factor en su desarrollo<sup>60</sup>. Además de esta acción hemodinámica, la A II también actúa como factor de crecimiento para las células renales, induciendo la expresión y síntesis de factores autocrinos y citoquinas que incluyen el Factor Transformador de Crecimiento  $\beta$  (TGF- $\beta$  1)<sup>61</sup> que actúan estimulando la producción de matriz extracelular por las células mesangiales, epiteliales y por los fibroblastos, lo que conduce al desarrollo de fibrosis glomerular e intersticial contribuyendo al progresivo daño renal<sup>62</sup>. Estudios en animales y humanos han demostrado una alta expresión del TGF- $\beta$  en la ND<sup>63</sup>; por lo que, conocido el papel fundamental del TGF- $\beta$  en la inducción de producción de matriz extracelular y fibrosis, se ha sugerido como un objetivo terapéutico suplementario en esta enfermedad<sup>64</sup>. Por otra parte, la A II produce aumento en la permeabilidad de la membrana basal lo que estimula más la pérdida urinaria de proteínas<sup>65</sup>.

### **3. HIPERGLUCEMIA**

Se considera que la hiperglucemia es un factor de riesgo para la ND<sup>66</sup>. En los pacientes con ND, el nivel medio de hemoglobina glicosilada se pone en correlación con la pérdida de función renal.

El mecanismo por el que la hiperglucemia podría afectar el flujo renal no está totalmente establecido. La glucosa puede reaccionar con diversas proteínas de manera pasiva (no enzimática por su grupo carbonilo), produciendo productos de glicosilación avanzada (AGEs). Se ha demostrado el acumulo de AGEs en los glomérulos de

pacientes con DM<sup>67</sup>. Entre las consecuencias biológicas de los AGEs encontramos: disminución de la actividad del óxido nítrico, aumento de la permeabilidad vascular, activación de receptores específicos (RAGES) en macrófagos, células endoteliales, células del músculo liso y células mesangiales; estimulación de factores de crecimiento (TGF- $\beta$ 1, IGF1, PDGF, TNF $\alpha$ , FGF), aumento de la síntesis de colágeno tipo IV, activación de la proteína quinasa C y formación de sorbitol

La alteración de la síntesis y metabolismo del colágeno<sup>68</sup>, así como la pérdida de proteoglicanos tipo heparan sulfato<sup>69,70</sup>, da lugar a, no sólo un cambio estructural de la membrana basal glomerular, sino a una disminución en su funcionalidad ya que al disminuir su carga eléctrica negativa se facilitará la filtración de moléculas aniónicas como la albúmina<sup>71</sup>.

#### **4. HIPERTENSIÓN ARTERIAL**

Tanto la hipertensión sistólica como diastólica están relacionadas con el desarrollo y evolución de ND. La existencia de hipertensión arterial (HTA) antes del desarrollo de la diabetes es un factor de riesgo para el desarrollo de ND en diabetes tipo 2<sup>72</sup>. En ambos tipos de diabetes la HTA favorece la progresión de microalbuminuria a nefropatía establecida<sup>73</sup> y acelera la pérdida de función renal en aquellos con ND<sup>74</sup>.

Casi dos tercios de los pacientes con diabetes tipo 1 y enfermedad renal establecida son hipertensos<sup>22</sup>. La hipertensión se diagnostica en aproximadamente el 50% de pacientes que tienen diabetes tipo 2 y es un mecanismo fisiopatológico mayor para el daño arterial que lleva a ND y enfermedad cardiovascular<sup>74</sup>. Además se ha demostrado que el retraso en el control de la HTA tiene un papel importante en la velocidad de la progresión de la nefropatía<sup>75</sup>, y por el contrario se ha descrito ampliamente que la disminución de la TA conlleva un efecto renoprotector<sup>76,77,78,79,80</sup>. Recíprocamente, una reducción inicial y sostenida en la albuminuria durante el tratamiento antihipertensivo esta asociada con una disminución del declive en la proporción de filtración glomerular y por consiguiente con un mejor pronóstico<sup>81,82</sup>.

---

## 5. PROTEINURIA

Desde que en 1986<sup>83</sup> Bertani y colaboradores sugieren que las proteínas filtradas a lo largo de la pared de los capilares glomerulares puede tener un daño renal intrínseco y contribuir a la progresión del daño renal, ha habido muchas publicaciones sobre este factor de riesgo.

El paso de macromoléculas y en particular proteínas a los túbulos y al mesangio como consecuencia de alteraciones en la permeabilidad glomerular constituye un factor determinante en el desarrollo de la esclerosis renal<sup>84,85</sup>.

En condiciones normales, las proteínas atraviesan la pared capilar glomerular en gran cantidad y vuelven a la sangre por un mecanismo transtubular en el que se ven implicadas las células tubulares proximales<sup>86</sup>. Los eventos bioquímicos asociados con la activación de las células tubulares en respuesta al stress proteico, incluyen una regulación al alza de los genes que codifican sustancias inflamatorias y vasoactivas, y la síntesis de los correspondientes productos proteicos, tales como la endotelina-1<sup>87</sup>, la proteína quimioactiva de monocitos (MCP-1)<sup>88</sup>, y RANTES (regulan la activación al alza de células T normales expresadas y secretadas)<sup>89</sup>.

La presencia de macromoléculas en el mesangio, determina un efecto lesivo para la célula mesangial, estimulando su proliferación y aumentando la producción y depósito de matriz mesangial, a la vez que conduce a la activación de mecanismos que van a dar lugar a la fibrosis presente en la IRC<sup>85</sup>.

Hay multitud de estudios que concluyen que la proteinuria es un predictor potente e independiente del resultado final de la ND<sup>90,91,92</sup>. En el estudio REIN<sup>92</sup>, la única variable basal que se relacionó significativamente con el declive de la tasa filtración glomerular y la progresión hasta ERT fue la excreción urinaria proteica. Así, los pacientes con excreción basal proteica menor de 2.5 g/24h tenían un menor descenso de la tasa de filtración glomerular después de 3 años de seguimiento, que aquellos con una proteinuria en rango nefrótico (>4.3g/24 h), en los que el filtrado glomerular disminuyó 10 ml/min/1.73 m<sup>2</sup> de superficie corporal por año y el fallo renal excedió en el 50 % a los 3 años<sup>93</sup>.



## 6. DISLIPEMIA

La asociación entre la albuminuria y la concentración sérica del colesterol y su fracción unida a lipoproteínas de baja densidad (LDL) se describió hace décadas, pero sigue siendo motivo de estudio. Así, uno de los últimos análisis de la cohorte NHANES III (17.702 individuos, población general) demuestra que los individuos con la mayor excreción urinaria de albúmina, tenían un mayor riesgo de presentar concentraciones elevadas de colesterol total y LDL, demostrándose un aumento continuo del riesgo a partir de cifras de albuminuria incluso dentro del intervalo normal<sup>94</sup>.

Diversos estudios de cohortes han demostrado una correlación entre la concentración de colesterol sérico y la progresión de la ND<sup>95, 96,97</sup>, considerándose que la dislipemia, además de factor de riesgo cardiovascular, es un factor determinante independiente de ND<sup>95</sup>.

En estudios experimentales se ha comprobado que la hipercolesterolemia produce glomerulosclerosis por lesión de células mesangiales y podocitos que se acompaña de lesión tubulointersticial<sup>98</sup>. Las vías fisiopatológicas por las cuales los lípidos desencadenan daño renal no están claras, si bien en trabajos experimentales se ha implicado a las LDL oxidadas, a la endotelina, al factor transformador del crecimiento tipo beta<sup>99</sup> y a modificaciones en el metabolismo del colesterol<sup>100</sup>, entre otros factores.

## 7. CONSUMO DE TABACO

Han sido publicadas evidencias epidemiológicas que relacionan el consumo de tabaco con la aparición y progresión de la ND<sup>32,101,102</sup>. El dejar de fumar por si solo, puede reducir el riesgo de progresión de la enfermedad en un 30 %<sup>101</sup>.

---

## HISTORIA NATURAL DE LA NEFROPATÍA DIABÉTICA

La historia natural de la ND es bien conocida. Con el desarrollo de la DM se inicia una larga fase silente, a menudo desde una etapa muy precoz en la evolución de la diabetes, en la que pueden detectarse en el riñón alteraciones tanto estructurales como funcionales, siguiéndose de una fase de afectación renal incipiente conocida como microalbuminuria, en la que solo se detecta un aumento subclínico de excreción urinaria de albúmina. Esta fase de microalbuminuria es clave ya que permite identificar a un grupo poblacional de riesgo sobre el que pueden plantearse determinadas opciones terapéuticas para modificar la evolución natural de la enfermedad renal<sup>28</sup>.

Existen múltiples clasificaciones posibles atendiendo a distintos datos clínicos y bioquímicos<sup>103</sup>. Nosotros vamos a seguir la clasificación de Mogensen et al<sup>104,105</sup>, quienes distinguen **5 fases en el desarrollo de la nefropatía diabética**:

**ESTADIO I:** *Hipertrofia renal-hiperfunción*. Clínicamente uno de cada tres pacientes presenta un aumento del filtrado glomerular en las fases iniciales junto con un aumento del tamaño de la nefrona. En esta fase la presión arterial es normal, con una prevalencia de HTA similar a la población general.

Uno de los fenómenos más importantes en la aparición y progresión de la ND es la hiperfiltración glomerular<sup>106</sup> y los factores que intervienen en su desarrollo, apareciendo una serie de fenómenos de adaptación hemodinámica que incluyen la vasodilatación preglomerular, el aumento del flujo plasmático por nefrona y de la presión intracapilar glomerular. Como factores mediadores de la hiperfiltración glomerular en la diabetes destacan<sup>107</sup>:

- Factores hormonales: hiperglucemia, aumento de los niveles de glucagon, hormona de crecimiento, de las prostaglandinas renales y del péptido natriurético atrial.
- Factores metabólicos: alteraciones del funcionamiento de diversas vías metabólicas (calcio, quininas,...), presencia de AGEs, aumento de los niveles de ácidos orgánicos (aminoácidos, lactato, cetoácidos).

- Otros: dietas hiperproteicas, expansión del volumen extracelular, pérdida del mecanismo de retroalimentación tubulointersticial, disminución de la respuesta de las arteriolas renales a hormonas presoras.

**ESTADIO II:** *Lesión renal sin signos clínicos.* Normoalbuminuria. En la Tabla 1 se definen los criterios para la clasificación de la excreción urinaria de albúmina (EUA)<sup>108</sup>. En esta fase los enfermos tienen eliminación de albúmina sólo con el ejercicio. La alteración más temprana consiste en un engrosamiento de la membrana basal glomerular, que aparece a partir del segundo año de evolución, y un aumento de la matriz mesangial que se detecta a partir de los 5-10 años<sup>109</sup>. Un 30-40% de los pacientes evolucionaran a fases más avanzadas.

**Tabla 1. Criterios para la clasificación de la excreción urinaria de albúmina<sup>108</sup>**

	Orina de 24 horas (mg)	Muestra aislada de orina* (mg/g o µg/mg)	Orina minutada (µg/min)
Normoalbuminuria	<30	<30	<20
Microalbuminuria	30-299	30-299	20-199
Macroalbuminuria	≥300	≥300	≥200

\* Índice albúmina/creatinina

**ESTADIO III:** *Nefropatía diabética incipiente* o fase de *microalbuminuria persistente en reposo*. Aparece después de 6-15 años de evolución de la diabetes. La microalbuminuria se define como un aumento de la excreción urinaria de albúmina en niveles que no son detectados con las técnicas habituales de laboratorio: 30-299 mg/24h<sup>108</sup> (Tabla 1). La medición de albúmina en las muestras de noche cronometradas, es la norma de oro, pero es arduo de llevar a cabo en poblaciones grandes. La proporción de albúmina/creatinina es más simple, debe obtenerse preferiblemente de una muestra de la mañana y se relaciona bien con la proporción de excreción de albúmina cronometrada<sup>110</sup>

Inicialmente la microalbuminuria es intermitente y puede estar precipitada por la presencia de otras alteraciones como la HTA, hiperglucemia, ejercicio físico,

---

infecciones urinarias, hipervolemia o aumento de la ingesta proteica. Esto, junto a su variabilidad, obliga a confirmar su aparición en tres determinaciones<sup>108</sup>

Histológicamente existe un engrosamiento generalizado de la membrana basal glomerular y un aumento de la matriz mesangial<sup>106,111</sup>. El filtrado glomerular aún aumentado inicialmente, disminuye al aumentar la EUA, retornando a cifras normales cuando la albuminuria es de unos 100mg/24h<sup>103</sup>. El 3-5% de los pacientes tienen una tensión arterial más elevada que la población general<sup>106</sup>. El 80% de los pacientes que presentan microalbuminuria persistente, desarrollan una ND si no se interviene adecuadamente, por lo que las medidas diagnósticas y terapéuticas en este periodo son de importancia crucial<sup>109</sup>.

La microalbuminuria es la primera manifestación clínica de daño renal funcional e histológico establecido, pudiendo aparecer mucho antes que otras alteraciones renales, e incluso antes de diagnosticar al paciente de diabetes<sup>112</sup>. Hoy se considera que la microalbuminuria es el primer marcador de nefropatía diabética, pero no tiene el mismo significado en la DM tipo 1 que en la DM tipo 2. Mientras que en la DM tipo 1 la microalbuminuria traduce una nefropatía glomerular debutante, en relación con la hiperglucemia crónica, que induce secundariamente una HTA que por un círculo vicioso agrava la alteración renal y puede conducir a la insuficiencia renal<sup>113</sup>. En la diabetes tipo 2 la microalbuminuria también tiene una significación de alteración renal funcional, pero ella es ante todo un marcador de riesgo cardiovascular<sup>109,114</sup>, considerándose que la microalbuminuria es un factor de riesgo cardiovascular independiente en la DM tipo 2, asociándose a una mayor mortalidad por causas extrarrenales<sup>34,115,116,117,118</sup>.

**ESTADIO IV:** *Nefropatía establecida*, macroalbuminuria (Tabla 1), al menos en dos ocasiones en un intervalo de tres meses, o mayor de 500 µg/min en una sola determinación. Aparece después de 15-20 años de evolución de la diabetes y en un plazo de 3-7 años desde el inicio de la microalbuminuria persistente. Las lesiones estructurales se generalizan, con la presencia de hialinosis arteriolar, expansión mesangial y glomeruloesclerosis difusa.

Las alteraciones más importantes que se producen en esta fase son: aumento de la proteinuria, hipofiltración glomerular, e hipertensión:

- La proteinuria es cada vez menos selectiva y es frecuente el desarrollo de síndrome nefrótico.
- El filtrado glomerular desciende un 10 % por año, el aclaramiento de creatinina disminuye en una proporción que varía ampliamente de un paciente a otro, con una media de reducción de 10-12 ml/min/año en los pacientes no tratados<sup>119,120</sup>. Los mecanismos hemodinámicos responsables de la reducción del índice de filtración glomerular en la nefropatía diabética establecida no han sido completamente definidos. La edad, sexo, inicio o duración de la diabetes, la tasa de aclaramiento de albúmina, la tasa de filtración glomerular inicial o el control de la glucosa en sangre no se relacionan con el deterioro del índice de filtración glomerular.
- La presencia de HTA es casi constante, y representa un factor determinante para la progresión de la ND<sup>121,122</sup>. En el desarrollo de la HTA pueden influir:
  - La expansión de volumen plasmático y extracelular secundaria al aumento de la presión osmótica extracelular por la hiperglucemia. El aumento del volumen plasmático podría actuar como estímulo temprano para incrementar el volumen minuto cardíaco lo que se reflejaría en una hipertensión sostenida<sup>123</sup>.
  - Aumento de la reabsorción renal de sodio, como consecuencia de presencia de niveles más elevados de glucosa<sup>124,125</sup> y de elevación en los niveles de insulina<sup>126,127</sup>. Por tanto los pulsos exógenos de insulina recibidos en la DM tipo 1 y las elevaciones de los niveles endógenos de insulina en la DM tipo 2 podrían determinar un incremento de la reabsorción de sodio, lo que se asociaría a una expansión adicional del volumen y en última instancia con el desarrollo de hipertensión sistémica<sup>128</sup>.
  - Además, en esta fase de la enfermedad renal se ha comprobado un incremento de la actividad del sistema renina-angiotensina, debido a un aumento de su actividad tisular y una mayor sensibilidad de la A-II<sup>129</sup>, lo que condiciona que se favorezca la retención tubular de sodio y agua.

En esta fase de ND establecida se produce un empeoramiento de las lesiones de retinopatía y neuropatía, junto a las manifestaciones clínicas de macroangiopatía: cardiopatía isquémica y enfermedad vascular periférica.

**ESTADIO V:** *Insuficiencia renal terminal.* Una vez iniciada la fase de proteinuria se produce un descenso progresivo de la tasa de filtración glomerular hasta llegar a la IRT con un filtrado glomerular menor de 10 ml/min, en un plazo de 5-7 años desde el comienzo de la proteinuria. La aparición de HTA suele ir paralela a la proteinuria y acelera la evolución de la enfermedad renal. Es una fase irreversible. Aparecen los síntomas de la uremia: anemia, HTA, edemas, hiperuricemia, hiperpotasemia, hiperlipemia, hiperparatiroidismo secundario y desnutrición secundaria a la pérdida proteica. Una vez en diálisis, el deterioro del paciente diabético es más rápido<sup>130</sup> y su supervivencia es menor del 50 % a los dos años, si no es trasplantado.

---

## TRATAMIENTO DE LA NEFROPATÍA DIABÉTICA

En el tratamiento de la ND vamos a considerar cada uno de los factores de riesgo que influyen en su aparición y desarrollo, deteniéndonos especialmente en la utilización de fármacos para el control de la TA que han demostrado un efecto sobre la microalbuminuria.

### HIPERGLUCEMIA

Como hemos comentado anteriormente, desde el mismo inicio de la diabetes, una buena parte de los pacientes presentan evidentes alteraciones en la hemodinámica renal, caracterizados fundamentalmente por un aumento del filtrado glomerular y del flujo plasmático renal<sup>131</sup>. Esta hiperfiltración glomerular está relacionada con el grado de control metabólico y se corrige al normalizar estrictamente la glucemia<sup>132</sup>, poniéndose en correlación el nivel medio de hemoglobina glicosilada (HbA1c) con la pérdida de función renal.

Los dos estudios que más información han aportado han sido el Diabetes Control and Complications Trial (DCCT)<sup>66</sup> y el United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS)<sup>133</sup>. El DCCT<sup>66</sup> comparó pacientes con DM tipo 1 con tratamiento intensivo para el control de la glucemia (HbA1c 7,3%) frente a tratamiento convencional (HbA1c 9,1%), disminuyendo el primer grupo el desarrollo de microalbuminuria en el 39% y de proteinuria clínica en el 56%. En pacientes con DM tipo 2 el UKPDS<sup>133</sup> observó que tras un seguimiento de 12 años los pacientes que siguieron un tratamiento intensificado, cuya HbA1c era un 0,9% inferior a la del grupo con tratamiento convencional, presentaron un 34% menos de progresión de la proteinuria. También se ha demostrado en DM tipo 2 la reducción de la proteinuria asociada al control glucémico obtenido mediante dieta hipocalórica<sup>134</sup>, tratamiento intensivo con metformina en el subgrupo de pacientes con sobrepeso<sup>135</sup>, así como con tratamiento intensivo con tres o más inyecciones de insulina por día<sup>136</sup>.

Por tanto, la primera intervención a realizar en los pacientes diabéticos es el control de la glucemia. La Asociación Americana para la Diabetes recomienda como objetivo terapéutico un HbA1c <7%<sup>137</sup>

## **HIPERLIPEMIA**

Un meta-análisis de 13 ensayos controlados (involucrando un total de 362 sujetos, 253 con diabetes) mostró que las estatinas disminuyeron la proteinuria y conservaron la proporción de filtración glomerular en los pacientes con enfermedad renal crónica, efectos que no se explican completamente por una reducción en el colesterol de sangre<sup>138</sup>. Aunque no se han diseñado estudios con estatinas específicamente para examinar su uso en los pacientes con enfermedad renal, los datos disponibles sugieren que estos fármacos no sólo puedan reducir el riesgo de enfermedad cardiovascular sino también endentecer la pérdida de función renal<sup>133</sup>.

## **OBESIDAD**

Se ha descrito una relación significativa entre la aparición de nefropatía diabética y la presencia de un índice de masa corporal (IMC) alto<sup>22</sup>; proponiéndose el IMC como un factor de riesgo de nefropatía<sup>139</sup>.

Existe suficiente evidencia de que la dieta de restricción calórica y el ejercicio físico son capaces de prevenir el desarrollo de diabetes en sujetos genéticamente predispuestos con intolerancia a la glucosa<sup>140</sup>. Así mismo, la pérdida de peso moderada en los pacientes con sobrepeso y nefropatía crónica induce una disminución significativa de los niveles de proteinuria<sup>141</sup>.

Sin embargo la realidad es que en los países desarrollados la obesidad y las complicaciones asociadas, entre ellas la diabetes tipo 2, es un problema de proporciones epidémicas con un crecimiento exponencial<sup>37</sup>.

## **RESTRICCIÓN PROTEICA**

La restricción de la ingesta proteica a 0.8 gr/Kg./día en pacientes con ND establecida da lugar a una reducción en la proteinuria y menor rapidez en la progresión de IR<sup>142</sup>. Las dietas más estrictas pueden añadir un riesgo adicional de malnutrición sobre todo en aquellos pacientes con importantes pérdidas urinarias de proteínas y por ello no parecen recomendables en base al conocimiento actual<sup>143</sup>.

En una revisión Cochrane reciente<sup>144</sup>, se concluye que la reducción de la ingesta proteica en los pacientes con IRC reduce la incidencia de muerte renal en un 31% de los



---

pacientes, en comparación con la mayor ingesta proteica o ninguna restricción aunque el nivel óptimo de la ingesta proteica no puede saberse a partir de los estudios incluidos en la revisión.

## **TABAQUISMO**

Además de la recomendación de no fumar para cualquier persona, sana o enferma, por las múltiples complicaciones que ocasiona el hábito tabáquico; en el paciente diabético existe una relación entre dicho hábito y la aparición y progresión de la ND<sup>32,101,102</sup>. La suspensión de fumar por si sola, puede reducir el riesgo de progresión de la enfermedad en un 30 %<sup>101</sup>. Por ello todos los documentos sobre las recomendaciones del tratamiento de la ND recogen el cese en el consumo de tabaco como medida fundamental<sup>108,137</sup>.

## **HIPERTENSIÓN ARTERIAL**

Los datos sobre la influencia de la HTA en el desarrollo de la ND, justifican la recomendación del control estricto de la TA (<130/85 mmHg)<sup>145</sup>, aunque este objetivo es difícil de conseguir en algunos pacientes<sup>22</sup>.

El grupo de fármacos que parecen ser más efectivos en el tratamiento de la HTA en pacientes con DM son los bloqueadores del Sistema Renina Angiotensina (SRA)

### **A. Tratamiento con bloqueadores del Sistema Renina Angiotensina**

En la patogenia de la ND uno de los factores más importantes es la existencia de un aumento de la presión intraglomerular, determinado fundamentalmente por la acción de la AII sobre la arteriola eferente.

El mecanismo de renoprotección por agentes que bloquean la acción de A-II puede ser complejo, involucrando factores hemodinámicos que bajan la presión intraglomerular<sup>146</sup>, los efectos beneficiosos de la disminución de la proteinuria<sup>89</sup>, y disminución de la formación de colágeno<sup>147</sup> que puede relacionarse con la disminución del estímulo del TGF- $\beta$  por la A-II<sup>148</sup>. Andersen<sup>149</sup>, encuentra que la disminución en la tensión arterial y de la albuminuria ocurren paralelamente al iniciar el tratamiento con losartán en pacientes con nefropatía debida a diabetes tipo 1, sugiriendo que los

---

mecanismos hemodinámicos sistémicos y renales son importantes en la reducción de la albuminuria.

El estímulo de la A-II en la producción de TGF- $\beta$ , se ha demostrado que decrece durante el tratamiento con IECA o ARA<sup>64</sup>. Un estudio en ratas Sprague-Dawley con enfermedad renal proteinúrica no diabética y alta expresión de TGF- $\beta$ <sup>150</sup>, demuestran una reducción adicional del TGF- $\beta$  independiente de la TA durante el tratamiento con altas dosis de losartán y enalapril.

Se han publicado muchos trabajos que han demostrado el efecto beneficioso significativo en la progresión de la ND y no diabética con el uso de IECA<sup>80,92,122,151,152,153,154,155,156,157</sup> y ARA-II<sup>17,9,76,158</sup>, algunos de los cuales pasamos a comentar.

En pacientes con DM tipo 1 la mayoría de los trabajos se centran en IECA y especialmente en captopril<sup>122,151,153,156</sup>, aunque se han publicado estudios con otros fármacos<sup>80,157</sup>. En todos ellos el tratamiento con IECA disminuyó significativamente la proteinuria y redujo el riesgo de progresión a IR, sin diferencia entre pacientes hipertensos y normotensos. En los pacientes hipertensos el efecto era independiente del efecto antihipertensivo.

En pacientes con DM tipo 2 aunque hay algunas publicaciones con IECA<sup>155,79</sup>, se dispone de mucha mayor información sobre el tratamiento con ARA II. Desde que en 2001 se publicaron tres grandes ensayos clínicos con irbesartán<sup>9,76</sup> y losartán<sup>17</sup>, han aparecido múltiples publicaciones con estos<sup>159</sup> y otros fármacos del mismo grupo (valsartán<sup>158,160</sup>, omesartán medoxomil<sup>161,162</sup>) con resultados similares.

En el Irbesartán Microalbuminuria in Hypertensive Patients with Type 2 Diabetes (IRMA 2)<sup>76</sup>, se evaluó el efecto del irbesartán frente a placebo, en la proporción de progresión a ND abierta, en los pacientes con HTA, diabetes tipo 2, microalbuminuria y función renal normal; observándose una reducción significativa del riesgo relativo de desarrollo de proteinuria clínica en los pacientes que recibieron irbesartán.

En el estudio de Lewis et al<sup>9</sup> realizado en diabéticos tipo 2 con ND, el riesgo combinado de doblar el nivel de creatinina en suero, ERT, o la muerte de cualquier causa era 20 % más bajo en pacientes tratados con Irbesartán que en aquéllos tratados

---

con la terapia convencional y 23 % más bajo que en aquéllos tratados con el amlodipino.

El estudio RENNAL<sup>17</sup>, realizado en pacientes con diabetes tipo 2 y nefropatía, mostró que comparado con el tratamiento convencional solo (es decir, tratamiento sin los inhibidores de ECA), losartán combinado con el tratamiento antihipertensivo convencional disminuyó el nivel de excreción de proteínas urinarias en un 35 % y redujo el riesgo de enfermedad renal terminal en un 28 %.

El efecto renoprotector de ARAII comparado con IECA parece ser similar. Los estudios realizados en pacientes con DM tipo 2 que comparan enalapril con losartán<sup>163</sup>, irbesartán<sup>164</sup>, o con termisaltán<sup>165</sup>, o la primera parte del estudio CALM que compara lisonipril con candesartán<sup>166</sup>, no muestran diferencias en el efecto renoprotector entre IECA y ARA II.

Se han publicado estudios en los que se sugiere que el bloqueo dual del SRA utilizando IECA y ARAII pueden tener efectos mas beneficiosos que su uso por separado<sup>167,168</sup>. El estudio CALM<sup>166</sup> realizado en pacientes con DM tipo 2, HTA y microalbuminuria evaluó el efecto de 20 mg/día de lisonipril, 16 mg/día de candesartán o ambos en combinación, siendo el tratamiento combinado más efectivo. En el estudio CALM II<sup>169</sup>, se pretendió valorar el efecto a largo plazo, con los mismos fármacos pero aumentando la dosis de lisonipril a 40 mg/día, observándose que la utilización del IECA a dosis plena obtiene los mismos resultados sobre TA y excreción urinaria de albúmina, que utilizando este fármaco a dosis más baja en combinación con candesartán.

La hiperkaliemia es un riesgo reconocido de los antagonistas del sistema renina-angiotensina, pero agrupando los datos de los ensayos clínicos grandes sugieren que el riesgo es bajo<sup>9,17,92,151</sup>. Sólo 1.5% de pacientes tratados con IECA o ARA II que se retiraron de los ensayos fue debido al hiperkaliemia, y no se informó ninguna muerte en asociación con hiperkaliemia en cualquier grupo de tratamiento<sup>9,17,92,151</sup>. El riesgo de hiperkaliemia puede ser minimizado si se excluyen pacientes con enfermedad renovascular.

---

## B. Tratamiento con otros fármacos

- **Betabloqueantes.** Existen estudios contradictorios, mientras en algunos se concluye que no parecen ejercer ningún efecto antiproteinúrico independiente de su efecto sobre la presión arterial y no parecen retrasar su evolución hacia la insuficiencia renal<sup>170</sup>, otros autores han encontrado que los beta-bloqueantes también pueden ser beneficiosos en el tratamiento de nefropatía diabética. En el United Kingdom Prospective Diabetes Study, los beta-bloqueantes y los IECA eran igualmente eficaces bajando la incidencia de microalbuminuria y macroalbuminuria en los pacientes con diabetes tipo 2<sup>78</sup>. En el estudio de RENAAL, el losartán no ofreció protección renal adicional en pacientes que ya estaban en tratamiento con beta-bloqueantes<sup>17</sup>.

Ningún estudio con un número de pacientes suficientemente grande, ha comparado los efectos de diuréticos, beta-bloqueantes, o bloqueantes de los canales del calcio con los efectos de IECA o ARA II en los pacientes con diabetes que tiene nefropatía manifiesta<sup>32</sup>.

- **Bloqueantes de los canales del calcio.** Inhiben el efecto vasoconstrictor de la AII a través del bloqueo de los mecanismos del calcio-dependientes, pero se ha cuestionado su efecto antiproteinúrico y su capacidad para prevenir la progresión del daño renal debido a su efecto vasodilatador sobre la arteriola aferente, que impide la caída de la presión intraglomerular a pesar del control de la presión arterial sistémica<sup>171</sup>. Los estudios experimentales con calcio-antagonistas dihidropiridínicos como el nifedipino no han sido capaces de demostrar un efecto beneficioso sobre la progresión de la glomeruloesclerosis debido a su efecto inhibitorio de la autorregulación renal<sup>172</sup>. Este efecto negativo sobre la hemodinámica renal puede ser el responsable de que los calcio antagonistas dihidropiridínicos de primera generación no hayan sido capaces de retrasar la progresión del daño renal a pesar de un adecuado control tensional<sup>173,174</sup> e incluso puede empeorar la proteinuria y acelerar la progresión de enfermedad en los pacientes con nefropatía no diabética o diabética<sup>175,176,177</sup>. Según un meta-análisis, a cualquier nivel de control de TA, los pacientes con diabetes que fueron tratados con antagonistas del calcio dihidropiridínicos tenían proteinuria más severa y un declive más rápido en la tasa de filtración glomerular que aquéllos tratados con otros agentes antihipertensivos<sup>178</sup>. Sin embargo, en el estudio RENAAL, el efecto de losartán

reduciendo el riesgo de eventos renales no fue disminuido por el uso concomitante de antagonistas del calcio, que se utilizaron en aproximadamente el 90% de los pacientes, en los que dos terceras partes fue una dihidropiridina<sup>17</sup>. Se han mostrado que los antagonistas del calcio aumentan la producción de angiotensina II<sup>179</sup>, una respuesta que puede neutralizarse por el bloqueo del receptor de la angiotensina-II. El resultado del estudio RENAAL acaba con la leyenda de los efectos renales negativos de los calcioantagonistas, siempre y cuando vayan asociados a un fármaco que bloquee los efectos de la angiotensina II<sup>180</sup>

El efecto inhibitor de la autorregulación renal es menos evidente utilizando otros calcio antagonistas no dihidropiridínicos como el verapamil o el diltiazem que también parecen ejercer un efecto vasodilatador eferente<sup>172</sup>. De hecho, diversos autores han observado que el diltiazem y el verapamil pueden ser tan eficaces como los IECA en relación a su efecto antiproteinúrico y protector renal cuando se utilizan como fármacos antihipertensivos en la nefropatía diabética<sup>170,174,178,181,182</sup>

Estudios recientes observan que manidipino (nuevo antagonistas del calcio no dihidropiridínico) tiene un efecto favorable sobre la hemodinámica glomerular semejante a los ARA II y los IECA, con un mayor potencial nefroprotector y una mejor tolerancia<sup>183</sup>.

### **C. Combinación de drogas antihipertensivas**

Además de los resultados comentados anteriormente de la asociación de IECA y ARA II, se han publicado muchos estudios para observar los efectos de la asociación de IECA o ARA II a otras drogas.

En primer lugar, dado que una dieta rica en sodio activa el SRA, la asociación de un inhibidor del SRA junto con una dieta baja en sodio<sup>32</sup> potenciaría el efecto del fármaco.

La asociación de un diurético y un inhibidor del SRA ofrece ventajas<sup>184</sup>. En primer lugar el inhibidor del SRA anula el incremento en la actividad de renina plasmática inducido por el diurético, mientras que la pérdida salina causada por este último potencia el efecto inhibitor del SRA, efecto que se magnifica por con la ingesta

reducida de sal<sup>185</sup>. Así la asociación perindropil/indapamida se ha mostrado más efectiva en reducir la microalbuminuria que el enalapril, independientemente del efecto sobre la TA<sup>186</sup>

Los efectos antiproteinúricos de los inhibidores del SRA son aumentados, además de por la restricción de sodio y por la administración concomitante de diuréticos, por la asociación de bloqueadores de los canales del calcio no dihidropiridínicos<sup>32</sup>

La terapia continuada con IECA en algunos pacientes, no produce un descenso mantenido de los niveles de aldosterona, sino que esta permanece elevada o aumenta progresivamente a lo largo del tiempo (fenómeno de escape de aldosterona). En pacientes con ND incipiente con escasa-moderada reducción de la proteinuria la asociación a un IECA de un bloqueador de aldosterona (espironolactona) reduce de forma significativa la excreción de albúmina, sin cambios en los niveles de presión arterial<sup>187</sup>.

El tratamiento con espironolactona en ratas diabéticas, previno la aparición de glomerulosclerosis, depósitos de colágeno y la expresión del factor de crecimiento del tejido conjuntivo (CTGF)<sup>188</sup>. Estos resultados sugieren que el bloqueo de la aldosterona podría jugar un papel previniendo la progresión de ND vía un mecanismo antiinflamatorio y antifibrótico.

## ENZIMAS URINARIOS

### INTRODUCCION

La actividad enzimática urinaria se conoce desde comienzos del siglo XIX. Sus determinaciones relacionadas con distintos estados de salud y enfermedad han sido motivo de impacto y discusión en la medicina experimental y clínica en las últimas décadas. No obstante, los estudios epidemiológicos de las enfermedades nefrourológicas están limitados por la escasa sensibilidad y especificidad de los métodos de determinación que actualmente se usan. La determinación de proteinuria se ve dificultada por la excreción de proteínas que, de modo fisiológico, se produce con relativa frecuencia en individuos sanos.

La primera vez que se usó la determinación enzimática urinaria en el estudio de una enfermedad, fue en 1908 por Wolghemut<sup>189</sup>, que cuantificó la amilasa en la pancreatitis aguda. Posteriormente Rolaski y Wilkinson<sup>190</sup>, observaron aumentos de la actividad urinaria de glutámico-oxalacético y láctico-deshidrogenasa en los pacientes con enfermedad renal.

En los últimos años se han usado más de 50 enzimas urinarios con fines diagnósticos siendo los más útiles:

- Amilasa
- Pepsinógeno (derivado del suero)
- Lactico deshidrogenasa (LDH)
- Fosfatasa alcalina
- Leucín-aminopeptidasa
- Beta-glucosaminidasa
- Gamma-glutamyl-transferasa (GGT)
- N-acetil-beta-glucosaminidasa (NAG)

Existen múltiples **factores que influyen en la actividad enzimática urinaria**, de ellos vamos a analizar los más importantes:

- 1. pH.** La mayor parte de los enzimas tienen máxima actividad a pH próximo a la neutralidad, disminuyendo la misma con los cambios básicos o ácidos. Así enzimas como GGT o NAG tienen pH óptimo a 6,5, mientras que para la LDH es de 8<sup>191</sup>.
- 2. Urea.** La urea puede inactivar de forma irreversible determinados enzimas, por tanto su concentración y el tiempo de permanencia de las enzimas en orina es importante<sup>192</sup>.
- 3. Activadores e inhibidores enzimáticos.** Su presencia en orina se conoce desde hace varios decenios, aunque su significación es compleja. Se conocen bien algunos inhibidores, como el de la LDH<sup>193</sup>, peroxidasas<sup>194</sup> (ácido úrico y ascórbico) o los de la beta-glucuronidasa<sup>195</sup>. El sistema de activadores enzimáticos es menos conocido, aunque se sabe que la sucrosa activa la trehalasa urinaria<sup>196</sup>.
- 4. Volumen de orina.** La excreción de enzimas urinarias es directamente proporcional al flujo renal<sup>197</sup>.
- 5. Temperatura.** La temperatura influye en la actividad de enzimas urinarios<sup>198,199</sup>, habiéndose demostrado que es posible el almacenamiento de estos enzimas y sus isoenzimas durante un año a -20°, permaneciendo estables, salvo la GGT<sup>191</sup>, que es estable a 4°C.
- 6. Edad y sexo.** La actividad urinaria de NAG es significativamente menor en los tres primeros meses de vida, sin diferencia en cuanto al sexo<sup>200</sup>, habiéndose constatado un incremento con la edad<sup>201</sup>, aunque en otros estudios se han descrito descensos con la edad, no solo de la NAG sino también de alanino-



amino-peptidasa, fosfatasa alcalina y GGT<sup>202</sup>. también han sido descritas diferencias significativas en función del sexo<sup>203,204</sup>.

## FUENTES DE LOS ENZIMAS URINARIOS

### A. *CONDICIONES NORMALES*

En condiciones normales las fuentes de enzimas urinarios son: el suero, los riñones y las células epiteliales del tracto urogenital.

- **Suero.** En el glomérulo renal se produce la filtración de proteínas séricas de peso molecular menor de 70.000-80.000 daltons. Los enzimas de bajo peso molecular que son filtrados son reabsorbidos parcial o totalmente en los túbulos renales. El aclaramiento renal de esos enzimas solo es posible con aquellos que no se sintetizan simultáneamente a nivel renal. Los enzimas con elevado peso molecular como la NAG no son filtradas a nivel glomerular.
- **Riñones.** Las células tubulares, ricas en enzimas, son fuente principal de enzimas urinarios debido al recambio fisiológico que sucede en individuos normales. Las células descamadas y desintegradas contribuyen a la actividad enzimática de la orina.
- **Células epiteliales del tracto urinario.** La descamación fisiológica de las células epiteliales de la pelvis renal, uréter y vejiga urinaria contribuyen en mínimo grado a la actividad enzimática urinaria.
- **Secreciones glandulares del tracto urogenital.** La mayoría de las secreciones del tracto urogenital (secreción prostática en el varón y secreciones de las glándulas del cervix en la mujer) poseen un nivel de actividad enzimática alto, con lo que contribuyen en gran proporción, a la actividad enzimática de la orina

**B. CONDICIONES PATOLOGICAS**

En condiciones patológicas las fuentes de enzimas urinarios pueden ser el suero, los riñones, tumores urogenitales, células de infiltrados y exudados, hematíes, bacterias, etc.

- **Suero.** El aumento de la concentración de enzimas en suero aumenta su filtrado glomerular y por ende su actividad en orina, por ejemplo la amilasa en enfermedades pancreáticas
  
- **Riñones.** En condiciones patológicas el aumento de actividad enzimática en orina de origen renal se produce por desintegración y lisis de células tubulares y por una alteración de la permeabilidad de la membrana basal. Estos factores hacen posible la aparición en orina de enzimas que no se detectan habitualmente (arginina-ornitina-transaminidasa) o que lo hacían en pequeñas cantidades (NAG)<sup>205</sup>. La alteración de la excreción de enzimas depende de varios factores:
  - Intensidad del daño renal
  - Patrón enzimático de las zonas dañadas
  - Localización de los enzimas en las células afectadas
  - Estructuras a las que están unidas las enzimas
  - Propiedades físicas de los enzimas
  
- **Tumores urogenitales.** Las células tumorales poseen una gran batería enzimática con una elevada actividad, la descamación de sus células y posterior lisis producen un incremento de la actividad enzimática en orina, a lo que hay que sumar la dependiente de procesos inflamatorios, hemorragias o sobreinfecciones de la zona tumoral.

- **Células de infiltrados y exudados.** Los procesos inflamatorios se acompañan de infiltración leucocitaria, cuyo contenido enzimático contribuye al ascenso de la actividad enzimática en orina<sup>206</sup>.
- **Hematíes.** La presencia de hematíes en orina, y su posterior lisis da lugar a un aumento de la actividad enzimática de orina, especialmente de LDH<sup>206</sup>.
- **Bacterias.** La presencia de bacterias en orina aumenta la actividad enzimática de ésta, no solo por las enzimas procedentes de las bacterias, sino por la aparición de infiltrados inflamatorios secundarios a la infección.

## **N-ACETIL-BETA-GLUCOSAMINIDASA (NAG)**

Los enzimas lisosómicos se encuentran en sangre periférica y en todos los tejidos<sup>207</sup>. Son responsables de la escisión intracelular de macromoléculas complejas (glucoproteínas, glucolípidos y glucosaminoglicanos)<sup>208</sup>, pero también degradan glucoconjugados de la membrana endotelial<sup>209</sup>. Están presentes en el plasma, interviniendo en múltiples procesos fisiológicos<sup>210</sup>.

La NAG es una enzima lisosomal frecuente en las células del túbulo proximal renal que participa en la degradación de mucopolisacáridos y glucoproteínas<sup>202,211</sup>.

Por su elevado peso molecular, que oscila entre 130.000 y 140.000 daltons no es filtrado por el glomérulo<sup>212</sup>. Se sintetiza a nivel de las células del túbulo proximal<sup>213</sup>, excretándose por la orina.

Se han descrito varias isoenzimas de NAG que se distribuyen en los tejidos en proporciones diferentes (Tabla 2).

**Tabla 2. Actividad de los isoenzimas del NAG en tejidos<sup>214</sup>**

	<b>B</b>	<b>I</b>	<b>AS</b>	<b>A</b>
<b>RIÑÓN</b>	18,3%	2,7%	---	78,0%
<b>ORINA</b>	9,5%	4,0%	---	85,5%
<b>SUERO</b>	13,0%	15,4%	68,6%	---
<b>L.C.R.</b>	---	---	99,0%	---
<b>HÍGADO</b>	31,0%	20,0%	---	48,0%

La excreción urinaria de NAG varía a lo largo del día siguiendo un ritmo circadiano<sup>215</sup>, al igual que ocurre con otros enzimas lisosómicos<sup>216</sup>. Existen diferencias en este ritmo circadiano en función del sexo<sup>217</sup>, en las mujeres existe un pico de máxima secreción entre las 7-10 de la mañana y mínimo a las 20h, mientras que en el varón la secreción es casi homogénea a lo largo del día. Estas diferencias podrían ser debidas a la acción estabilizadora de la testosterona en los varones. Girolami y cols<sup>218</sup> demostraron que las hormonas sexuales masculinas influyen en la secreción tubular de diversos enzimas, entre ellos la NAG.

También se han descrito variaciones en la actividad urinaria de NAG en función de la edad, con un aumento progresivo en recién nacidos y lactantes hasta los seis meses<sup>202</sup>, y un posterior descenso con la edad<sup>219</sup>. Por encima de los 60 años, vuelve a producirse un aumento de NAG en orina como reflejo de una lesión tubular subclínica dependiente de la edad<sup>220</sup>.

Se admite que la concentración incrementada de NAG en la orina es propia de los estados de disfunción tubular proximal renal, incluso en fases incipientes y asintomáticas<sup>221</sup>. Así se han descrito variaciones de NAG tanto en situaciones fisiológicas como el embarazo no complicado, como patológicas que pasamos a comentar:

---

## EMBARAZO

Durante el embarazo no complicado se produce un aumento de NAG en todos los tejidos orgánicos, incluido la placenta<sup>222</sup>, incrementándose casi logarítmicamente conforme avanza el embarazo<sup>223</sup>, alcanzando su concentración máxima en el tercer trimestre<sup>224,225,226</sup>.

El estudio del NAG urinario durante el embarazo aporta mayor interés en los Estados Hipertensivos del embarazo, constituyendo un marcador de daño renal<sup>225,226</sup>.

En la HTA del embarazo se produce un aumento de la NAG que es mucho más importante en los casos de preeclampsia<sup>225,226,227,228</sup>. Esta elevación es consecuencia directa de la isquemia tisular por la endoteliosis glomerular, que es la lesión renal característica de este cuadro<sup>229</sup>. En la preeclampsia se ha descrito la existencia de una correlación entre los niveles urinarios de NAG y las concentraciones séricas de ácido úrico, de ahí que la determinación de este enzima pudiera tener utilidad en el diagnóstico temprano de esta entidad<sup>230</sup>.

Se ha utilizado la determinación de NAG en líquido amniótico para el diagnóstico de algunas enfermedades como mucopolisacaridosis tipo II<sup>231</sup> o en casos de retraso en el crecimiento intrauterino<sup>232</sup>.

Se han descrito elevaciones de este enzima en la leche materna en casos de mastitis<sup>233</sup>, así como en otros procesos inflamatorios de la mama provocados de forma experimental<sup>234</sup>.

## GLOMERULONEFRITIS

En la glomerulonefritis se produce un aumento de la actividad de NAG urinario, que sería secundario a la liberación de enzimas por la degranulación de leucocitos poliformonucleares durante el proceso inflamatorio glomerular que tiene lugar en estos cuadros clínicos<sup>235,236</sup>. A este aumento de actividad de NAG también contribuiría la disfunción de las células tubulares inducida por el incremento del tráfico de proteínas por la luz tubular<sup>237</sup>.

La determinación de NAG puede utilizarse para identificar precozmente los pacientes que desarrollaran un fracaso renal o para la remisión clínica en respuesta al

tratamiento en pacientes con glomerulonefritis (idiopática membranosa, glomeruloesclerosis focal segmentaria primaria, o con cambios mínimos)<sup>237</sup>.

### PIELONEFRITIS

La determinación de NAG en las infecciones del tracto urinario es de gran utilidad en niños, máxime cuando hay malformaciones asociadas<sup>238</sup> y aun más si se determinan sus isoenzimas<sup>239</sup>, ya que la isoenzima B aumenta respecto a la A cuando existe infección urinaria<sup>240</sup>.

Se ha descrito un aumento de NAG asociado a reflujo vesicoureteral sin infección<sup>238</sup>, probablemente en relación con la disfunción tubular asociada con el mismo<sup>241</sup>.

En casos de pielonefritis crónica se ha observado una disminución de NAG cuando se inicia tratamiento antibiótico, con un incremento al reaparecer bacteriuria y/o leucocituria<sup>242</sup>.

### SINDROME NEFROTICO

Se han descrito aumentos de NAG en el síndrome nefrótico<sup>243</sup>, especialmente de la isoenzima B<sup>244</sup>, similar a la que se encuentra en casos de infección urinaria.

### NEFROPATIAS TOXICAS

Wellwood<sup>245,246</sup>, fue el primero que realizó estudios enzimáticos urinarios en las nefropatías tóxicas, realizando la determinación de enzimas como: N-acetil-β-glucosaminidasa, beta-galactosidasa, GGT y alanina-aminopeptidasa.

Entre las sustancias nefrotóxicas más conocidas y estudiadas se encuentran los aminoglucósidos, que son eliminados por filtración glomerular, siendo reabsorbidos a nivel del túbulo proximal en un porcentaje mínimo<sup>247</sup>. Wiland y cols<sup>248</sup> estudian los cambios en los niveles de NAG tras la administración de gentamicina y amikacina, encontrando que en todos los paciente se produce un aumento de NAG en orina, siendo

máximo a los 7 días del tratamiento, aunque un mínimo grupo de pacientes desarrolla IR. Cuando se cesa el tratamiento se produce un descenso en los niveles de NAG<sup>248</sup>.

En pacientes que requieren administración frecuente de aminoglucósidos, u otros nefrotóxicos como la colistina, como ocurre en los pacientes con fibrosis quística, algunos autores<sup>249</sup> recomiendan medidas seriadas de NAG para identificar pacientes de alto riesgo de desarrollar enfermedad renal.

Los resultados obtenidos por Gibey<sup>250</sup>, concluyeron que la NAG es el marcador más efectivo de la nefrotoxicidad inducida por la gentamicina, en comparación con la alanina-aminopeptidasa y la  $\beta$ -2-microglobulina.

Se han detectado alteraciones en la excreción urinaria de NAG en pacientes que reciben tratamiento con antiinflamatorios no esteroideos<sup>251</sup> o con ciclosporina<sup>252,253</sup>, metotexate<sup>254,255</sup> así como en la intoxicación por hidrocarburos<sup>256,257</sup>, disolventes orgánicos<sup>258</sup>, metales pesados<sup>259,260</sup> y cadmio<sup>261,262</sup>.

### LITIASIS RENAL

La urolitiasis o nefrocalcinosis pueden dar lugar a un daño tubular proximal por la actividad de la enfermedad o por efecto mecánico del cálculo<sup>263</sup>. El mecanismo del daño celular no obstante no es totalmente conocido. Se ha descrito aumento de NAG en pacientes con litiasis con o sin hidronefrosis<sup>264</sup>.

Durante el tratamiento con litotricia extracorpórea por ondas de choque, se produce una agresión en el parénquima y cálices renales, que repercute en la excreción urinaria de NAG. Como marcador de daño renal inmediatamente tras la litotricia, algunos autores han demostrado aumento de los niveles sanguíneos de NAG<sup>265</sup> y sobre todo en su excreción urinaria<sup>266,267,268</sup>, normalizándose ésta a los 10–15 días del procedimiento terapéutico, y volviendo a los niveles de origen<sup>269</sup>.

### HIPERTENSION ARTERIAL

Existen multitud de indicadores bioquímicos de daño renal incipiente en la hipertensión arterial: hiperuricemia, microalbuminuria y excreción urinaria de beta-2-microglobulina y de NAG.

La alteración de la excreción urinaria de NAG en pacientes hipertensos fue descrita en 1978 por Mansell<sup>270</sup>: de los 137 enfermos que conformaron su grupo de estudio, encontró elevación de este enzima en el 64 % de los casos, que presentaban alteraciones renales evidentes, pero también observó aumento del NAG en pacientes hipertensos sin manifestaciones clínicas de afectación renal. Otros autores, sin embargo, observan elevaciones del NAG urinario, sólo en los pacientes hipertensos con nefropatía evidente, siendo su comportamiento normal en la hipertensión arterial leve<sup>271,272</sup>.

Cinco años más tarde, Alderman<sup>273</sup>, confirmó estos resultados y observó su evolución tras el tratamiento antihipertensivo, no encontrando diferencias en el comportamiento del NAG en relación con la edad, sexo o raza.

Se ha visto que la excreción urinaria del NAG se altera más precozmente que otros indicadores bioquímicos de lesión renal (ácido úrico y creatinina séricos y microalbuminuria). Esto sugiere la existencia de cambios histopatológicos tubulares en la nefropatía hipertensiva (atrofia tubular y estenosis estromal progresiva)<sup>274</sup>, aunque también puede reflejar una lesión del parénquima renal<sup>275</sup>.

Se ha descrito elevación del NAG urinario en la hipertensión por estenosis de la arteria renal<sup>276</sup>, normalizándose tras la cirugía<sup>277</sup>.

En el curso de la hipertensión renovascular experimental, la elevación de diferentes enzimas en la orina indica daño tubular renal<sup>278,279,280</sup>. Aunque el aumento de gamma-glutamyltranspeptidasa no muestra diferencias en relación al sexo o al peso del animal<sup>257</sup>.

En la hipertensión arterial primaria en niños, Zoch-Zwierz<sup>281</sup>, demuestra que la determinación del NAG puede ser de gran utilidad, reflejando un daño a nivel del túbulo proximal.

Estudios experimentales comprobaron que al administrar interferón a ratas hipertensas, se producía un descenso de los niveles de NAG urinarios con respecto a las no tratadas con dicho fármaco<sup>282</sup>.

En pacientes con hipertensión esencial y nefropatía hipertensiva sometidos a tratamiento con betabloqueantes o con antagonistas del calcio, Schmieler y cols<sup>283</sup>, observaron que junto con la disminución de la albuminuria, se producía un descenso de la actividad urinaria de NAG.



La concentración urinaria de NAG sigue un curso paralelo a la albuminuria o al péptido C urinario en los pacientes con hipertensión arterial juvenil<sup>284</sup>.

### NEFROPATIA DIABETICA

Pirart en 1978 observa un aumento de los niveles de NAG plasmático en la DM tipo 1, en aquellos pacientes con complicaciones de la misma, con respecto a los que aún no las han desarrollado<sup>285</sup>. En 1979 se encontraron valores elevados de NAG tanto en suero como en orina de pacientes adultos con DMID<sup>286</sup>.

Trabajos posteriores confirman el aumento de la excreción urinaria de NAG en pacientes con nefropatía, sin observar esta correlación con otros enzimas como la gamma-glutamyltranspeptidasa, fosfatasa alcalina, etc<sup>287</sup>.

Muchos trabajos desde entonces han confirmado un aumento de NAG en pacientes diabéticos<sup>288,289,290</sup> describiéndose una correlación entre los niveles de NAG y de HbA1c y de albuminuria<sup>291,292</sup>

En los recién nacidos de madres diabéticas, el NAG urinario es similar al que presentan los hijos de gestantes no diabéticas<sup>293</sup>.

### TRASPLANTE RENAL

La orina de pacientes trasplantados muestra una actividad urinaria de NAG similar a la existente en sujetos sanos en cuanto a las proporciones de sus isoenzimas A (85 %) y B (10 %) <sup>294</sup>. Cuando hay rechazo del riñón trasplantado, varía la proporción de estos isoenzimas y aparecen formas intermedias I1 e I2, descendiendo el componente A. Esta variación en los isoenzimas del NAG es lo que Tucker<sup>244</sup> ha denominado como orina patológica de los trasplantados.

En la necrosis tubular aguda y en el rechazo agudo postrasplante se produce un aumento de NAG, permitiendo diferenciarlos del normal funcionamiento del riñón trasplantado<sup>295,296</sup>. Corbett<sup>297</sup> ha señalado que la elevación del NAG es muy precoz, pudiendo comenzar 2-3 horas después de la cirugía, por lo que el NAG es considerado como el indicador más sensible del daño tubular renal<sup>244</sup> ante mínimos episodios de hipoxia.

La introducción de la ciclosporina en el tratamiento inmunosupresor tras el trasplante renal ha significado una mejora en el resultado del trasplante y supone la primera línea de inmunosupresión en receptores pediátricos, existiendo una fina línea que separa el nivel óptimo de inmunosupresión y la aparición de efectos secundarios<sup>298</sup>. En la crisis de rechazo aguda se produce un aumento de NAG muy superior al producido por nefrotoxicidad aguda por ciclosporina<sup>299</sup>: el aumento sobre los valores basales en el postoperatorio precoz es muy sugestivo de rechazo agudo.

Concluyendo, el incremento del NAG urinario y la detección de formas intermedias (isoenzimas I<sub>1</sub> e I<sub>2</sub>), es el mejor indicador de daño tubular renal en el riñón trasplantado que sufre rechazo; siendo un parámetro mucho más útil que la creatinina sérica y la biopsia renal<sup>300</sup>, por lo que se utiliza en el seguimiento de estos pacientes, para un diagnóstico precoz de rechazo.

## **OBJETIVOS**

Se conoce desde hace años que la presencia de microalbuminuria es un factor predictor de la evolución de una nefropatía diabética, como indicador de lesión renal. Cuando se hace presente el grado de nefropatía es ya evidente e irreversible.

Sin embargo desde que se empezaron a utilizar los IECA y posteriormente los ARA II se ha comprobado que estos fármacos son capaces de mejorar la función renal, y por tanto disminuir la excreción urinaria de albúmina

El Losartán es el primer fármaco comercializado dentro del grupo de los ARA II y se utiliza de referencia en todos los estudios

Antes de que aparezca una microalbuminuria patológica, existe daño renal histológico (nefropatía grado I y II), aunque no hay en la actualidad ninguna determinación de laboratorio para detectarlo.

La NAG es un enzima que se altera en las nefropatías de diversa etiología, utilizándose incluso como marcador de afectación renal precoz (intoxicaciones por metales, nefritis, etc.)

Basados en las afirmaciones anteriores nos proponemos los siguientes objetivos:

1. Comparación de los valores de NAG en pacientes con DM tipo 2 con y sin microalbuminuria frente a sujetos sanos.
2. Comparación de los valores de NAG en los pacientes con microalbuminuria positiva frente a los pacientes con microalbuminuria negativa.
3. El comportamiento de la NAG en relación a la microalbuminuria cuando se inicia el tratamiento con losartán en pacientes con microalbuminuria positiva.
4. Variaciones de la NAG en pacientes con microalbuminuria negativa con y sin tratamiento con losartán.
5. Valoración de la excreción en orina NAG como marcador de afectación renal más precoz que la microalbuminuria en pacientes diabéticos tipo 2.

## **MATERIAL Y METODOS**

## 1. MATERIAL

### 1.1. PLAN DE ESTUDIO

Se han estudiado de forma prospectiva un grupo de pacientes diagnosticados de DM tipo 2 con normo o microalbuminuria persistente, pertenecientes a un cupo de Atención Primaria constituido al azar entre todos los pacientes del CS de Maracena (Granada) y los pacientes que acudieron a la Consulta de Medicina Interna del Hospital Universitario San Cecilio (Granada).

Se ha realizado el mismo protocolo de estudio a un grupo de sujetos sanos, que no estuvieran tomando ninguna medicación o siguiendo alguna dieta especial que afectara a las determinaciones de laboratorio, pertenecientes al mismo cupo de Atención Primaria. Los valores de este grupo de sanos nos han servido de referencia como valor de normalidad en nuestra población.

A todos los participantes se les explicó el estudio y todos dieron su consentimiento por escrito.

Se incluyeron en el estudio un total de 159 individuos: 34 controles sanos y 125 pacientes con DM tipo 2. De todos los participantes se recogieron las variables siguientes:

- Datos de filiación
- Antecedentes personales incluyendo hábito tabáquico
- Tipo de diabetes y tiempo de evolución
- Tratamiento de la diabetes
- Otros tratamientos que pudieran influir tanto en la evolución de la nefropatía como en las determinaciones de laboratorio
- Determinación de TA e IMC
- Determinaciones de laboratorio en sangre:
  - Glucosa
  - Urea

- Creatinina
- Acido úrico
- Hemoglobina glicosilada
- Determinaciones de laboratorio en orina:
  - Sedimento
  - Microalbuminuria
  - Creatinina
  - NAG

## 1.2. PACIENTES

El estudio incluyó 125 pacientes con DM tipo 2, con o sin hipertensión arterial, con normo- o microalbuminuria.

La microalbuminuria se definió como una excreción de albúmina 30-299 mg/24h, en tres determinaciones<sup>108</sup>.

La hipertensión se definió como una tensión arterial sistólica de  $\geq$  de 135 mmHg o una tensión arterial diastólica  $\geq$  85 mmHg, o ambas.

Los criterios de exclusión fueron derivados de la presencia de alguna enfermedad o tratamiento que pudiera alterar las determinaciones de laboratorio:

- DM tipo 1
- Enfermedad renal no diabética
- Infarto agudo de miocardio (IAM) o cirugía cardiaca en el mes anterior
- Accidente vasculo-cerebral (AVC) en los 6 meses anteriores
- Indicación absoluta para IECA o ARA II
- Tratamiento con fármacos que puedan alterar los niveles de enzimas urinarios (aminoglucósidos, antiinflamatorios no esteroideos, ciclosporina o terapia hormonal sustitutiva)
- Infección tracto urinario activa

Durante las 4 semanas antes del inicio del estudio, los pacientes que estaban tomando tratamiento antihipertensivo, continuaron con su tratamiento habitual, salvo que tomaran IECA o ARA-II, en cuyo caso se reemplazaron por otros fármacos (calcio antagonistas, alfa o beta bloqueantes, etc. o una combinación de ambos). Así mismo, continuaron con el tratamiento para la diabetes que estuvieran siguiendo.

Los pacientes que no presentaban ningún criterio de exclusión se dividieron en 2 grupos según los valores de la microalbuminuria:

- **Grupo con microalbuminuria positiva:** los pacientes siguieron tratamiento con Losartán 100mg en una sola dosis diaria
- **Grupo con microalbuminuria negativa.** Los pacientes de este grupo se dividieron a su vez, en dos grupos:
  - **Grupo microalbuminuria negativa y tratamiento (microalbuminuria negativa –TT):** que siguieron tratamiento con 100mg de Losartán en una dosis diaria.
  - **Grupo microalbuminuria negativa y no tratamiento (microalbuminuria negativa – NOTT):** a los que no se les administró ninguna medicación adicional.

Todos los pacientes se siguieron durante 8 semanas y fueron visitados en la semana 0, 1, 2 y 8 del estudio:

- En la visita 0 y 8 se realizaron: exploración clínica con determinación de IMC y TA, encuesta sobre hábito tabáquico, y determinación analítica en sangre de glucosa, creatinina, urea, ácido úrico y hemoglobina glicosilada, y en orina sedimento, microalbuminuria, creatinina, N-acetil beta glucosaminidasa.
- En las visitas 0, 1, 2 y 8 se realizó control de TA y si fue necesario se les añadió otro fármaco antihipertensivo que no fuera IECA ni ARA II.



## 2. METODOS

Una vez incluidos en el estudio, a los participantes se les explicó verbalmente y por escrito, la forma adecuada de recoger la orina de veinticuatro horas: el día de inicio de la recogida debían rechazar la orina de la primera micción de la mañana, recogiendo a partir de esta, toda la orina de las 24 h siguientes, incluida la de la primera micción del día siguiente. Se les entregaba un frasco para la recogida, que permitiría conservar la orina en el frigorífico hasta su entrega. Debían anotar la diuresis total y tomar las muestras para las determinaciones analíticas.

Durante ese día se le recomendaba una actividad física normal y que se abstuvieran de tomar algún fármaco, salvo los indicados para el control de su hipertensión o su diabetes.

En la mañana de terminar la recogida de orina, se le realizaba al paciente la extracción de sangre para el control analítico antes mencionado.

### 2.1. DETERMINACIONES GENERALES DE LABORATORIO

Las muestras de sangre y orina de veinticuatro horas, eran enviadas para su análisis al laboratorio del Hospital Universitario San Cecilio para las determinaciones en sangre y orina de las distintas variables estudiadas, utilizando los siguientes test:

- Acido úrico: test enzimático colorimétrico<sup>301</sup> (UA plus Roche®) los resultados se multiplicaron por el factor de corrección 0,059, para expresarlo en mmol/l
- Urea: test cinético (UREA/BUM Roche®), los resultados se multiplicaron por el factor 0,1665, para expresarla en mmol/l.
- Creatinina sangre y orina se determinaron mediante un test cinético colorimétrico basado en el método Jaffé<sup>302</sup>. Los resultados de creatinina en sangre se multiplicaron por el factor de corrección 88,4 para expresarlos en  $\mu\text{mol/l}$ , y los de creatinina en orina por 8,84 para expresarlos en mmol/día.
- HbA1c: test inmunoturbidimétricos<sup>303</sup>, (Tina-quant  $\square$  Hemoglobina A1cII®)
- Microalbuminuria: test inmunoturbidimétricos (Tina-quant  $\square$  albúmina®)<sup>304</sup>.

- El aclaramiento de creatinina (Cr) se ha calculado según la versión simplificada<sup>305</sup> del MDRD<sup>306</sup> (Modification of Diet in Renal Disease).

## 2.2. DETERMINACIONES ESPECIALES

### 2.2.1. MANEJO DE LAS MUESTRAS DE ORINA

La muestra de orina de veinticuatro horas fue remitida inmediatamente tras su recepción, al Laboratorio de Investigaciones Médicas “Mora Lara” para la determinación de la NAG, donde se procedió a su posterior análisis.

La orina remitida al laboratorio, se divide en tres muestras que se colocan en otras tantas bolsas de diálisis (bolsas de celofán), que son sometidas a diálisis frente a agua corriente durante veinticuatro horas, quedando ya la orina en condiciones de practicar la determinación enzimática.

Tras la práctica de la diálisis se mide la cantidad de orina (suele ser superior a la que colocamos previamente a la diálisis), y tomamos un mililitro con el que haremos la determinación enzimática. Para expresar la actividad enzimática habrá que multiplicar por el factor de dilución de orina (fácil de calcular según una regla de tres, por ejemplo: si pusimos diez ml de orina y tras la diálisis hay doce, el factor será 1,2).

### 2.2.2. DETERMINACIÓN DE N-ACETIL- $\beta$ -GLUCOSAMINIDASA (NAG)

Para la determinación de la actividad de la NAG en orina de 24 horas, seguimos el método espectrofotométrico de Horak y cols<sup>307</sup>.

La NAG es separada de los inhibidores urinarios mediante filtración en columna cromatográfica de Sephadex G-25.

Posteriormente, se utiliza el sustrato p-nitrofenil-N-acetil- $\beta$ -D-glucosaminidasa y el citrato sódico a pH de 4,4. Tras un período de incubación de 15 minutos a 37°C, se produce la hidrólisis enzimática y la liberación del ión p-nitrofelinato. Se detiene la reacción al añadir 2-amino-2-metil-1-propanol (pH 10,25), y el producto de la reacción es medido por espectrofotometría a 405 nm de longitud de onda.

La actividad urinaria de NAG es proporcional a la absorbancia del ión p-nitrofelinato liberado.

### Equipo

Columna cromatográfica de 250 nm de longitud y 10 mm de diámetro. Contiene 5,6 ml de Sephadex 25-G (20-80  $\mu\text{m}$ ), suspendida en ClNa 0,15 M.

- Espectrofotómetro "Photometer aton-380 DATA" test.
- Semi-microcubetas de espectro visible de 1 cm de espesor.
- Centrífuga de mesa "Clino-Orto".
- Baño con termostato, graduado a 37°C.
- Cronómetro.
- Tubos de ensayo.

### Reactivos

- Solución de cloruro sódico al 0,15 M.
- Solución de ClNa 0,15 M +  $\text{NaN}_3$  3,1 M.
- Ácido cítrico 0,2 M (8,4 gr de monohidrato), en agua destilada (200 ml), guardada a 4°C.
- Citrato sódico 0,2 M (10,3 gr de citrato trisódico anhidro en 200 ml de agua destilada, almacenada a 4°C).
- Citrato-buffer pH 4,4 a 0,1 M. Deben ponerse 56 ml de solución de ácido cítrico más 44 ml de solución de citrato. Se ajusta el pH a 4,4 añadiendo ácido cítrico o bien citrato. Debe completarse después con agua destilada a 200 ml y guardar a 4°C.
- Substrato NAG: disolver 342 mg de p-nitrophenil-N-acetil- $\beta$ -D-glucosaminidasa (p-nitrophenil - 2 - acetimino - 2 - desoí -  $\beta$  - D - glucosapyranoxide cat N° 9376, *Sigma Chemical Co.*), en 100 ml de buffer citrato. Distribuir en tubos de 5 ml y congelar a -20°C.

- AMP buffer, pH 10,25; 0,75 M: 18,84 gr de AMP buffer disueltos en 50 ml de agua destilada, ajustando después a pH 10,25 con NaOH 6 M (guardar a 4°C).
- p-Nitrofenol estandar: 1 ml de nitrofenol 10 M en 100 ml ClNa 0,15 M. Esta solución debe ser preparada antes de su uso.

## Metodología

### a) Muestra de orina.

Deben centrifugarse 10 ml de orina reciente durante 10 minutos y decantar.

### b) Cromatografía.

Se deja salir la capa superior e inferior de la columna de Sephadex G-25. A continuación, lavar con ClNa y dejar escurrir completamente. Aplicar 1 ml de orina. Cuando se haya introducido totalmente, añadir 0,5 ml de ClNa como solución de lavado

Debe permitirse que la columna discurra totalmente y decantar el eluato (1,5 ml). Colocar un tubo colector bajo la columna y añadir 2 ml de ClNa, permitiendo que el eluato (2 ml), drene totalmente en ese tubo.

Se regenera la columna pasando 25 de ClNa-NaN<sub>3</sub> a su través. Posteriormente, se llena la columna de ClNa-NaN<sub>3</sub> reemplazando las capas superior e inferior. Se guardará a temperatura ambiente.

### c) Reacción enzimática.

Se utilizarán cuatro cubetas de espectrofotómetro que denominaremos:

- S: tubo estándar.
- RB: tubo blanco de reactivo.
- UB: tubo blanco de orina.
- U: tubo de orina diluida de proporción.

Se producen los siguientes pasos:

	<b>S</b>	<b>RB</b>	<b>UB</b>	<b>U</b>
<b>CINa</b>	–	0,5 ml	–	–
<b>p-nitrofenol</b>	0,5 ml	–	–	–
<b>Eluato de orina</b>	–	–	0,5 ml	0,5 ml
Debe incubarse a 37°C durante 3 minutos:				
<b>NAG substrato</b>	0,5 ml	0,5 ml	–	–
Incubar a 37°C durante 15 minutos:				
<b>AMP buffer</b>	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml
<b>NAG substrato</b>	–	–	0,5 ml	–

A continuación se mide la absorbancia de cada cubeta (colorimetrar), a 405 nm de longitud de onda. Si la absorbancia de la cubeta U es mayor de 1,8, se diluirá la orina a 1/5.

### Cálculos

La actividad de la NAG expresada en U/l ( $\mu\text{mol}/\text{min.}/\text{l}$ ), se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$\frac{A (U-UB) \times (100 \mu\text{mol}/\text{l}) \times \text{Factor de dilución}}{A (S-RB) \times (\text{tiempo de incubación})}$$

En resumen:

$$\text{Actividad NAG} = \frac{A (U-UB)}{A (S-RB)} \times 13,13$$

Sin embargo, para minimizar la variabilidad en la concentración de NAG en orina se expresa en unidades por gramo de creatinina<sup>308</sup>.

---

### III. ANALISIS ESTADÍSTICO

Para el estudio estadístico se ha utilizado el programa SPSS para Windows versión 14.0 realizando los siguientes análisis:

- Análisis descriptivo de los sujetos del estudio: los cálculos se han hecho globalmente y estratificado por grupo de microalbuminuria:
  - Para las variables cuantitativas que se distribuyen con normalidad, se han calculado medias, desviaciones típicas, máximos y mínimos; para las variables con mucha dispersión donde no se consideró la media como la mejor medida central se han calculado medianas y percentiles 25 y 75.
  - Para las variables cualitativas se han calculado frecuencias absolutas y relativas.
- En el análisis univariante, se han estudiado las relaciones entre las variables dependientes y las independientes dos a dos a través del test estadístico de correlaciones cuando éstas, tanto las dependientes como las independientes, eran cuantitativas. Aparte de describir la correlación entre variables numéricamente, para los casos en los que hemos obtenido una  $p < 0,05$  se ha hecho el Diagrama de Dispersión para así, observar la tendencia de las variables gráficamente. Cuando las variables independientes eran categóricas y la muestra no apareada se ha usado el test de la T-Student para comparación de medias. Cuando se han estudiado los posibles cambios significativos de las medias de las variables cuantitativas en el tiempo se ha aplicado la T-Student para muestras relacionadas.
- Se ha hecho un modelo de regresión lineal para estudiar si los cambios en los valores de la microalbuminuria son debidos a los cambios producidos por un grupo de variables independientes.

Se han tomado valores significativos  $p < 0,05$ .

#### **IV. METODO REVISION BIBLIOGRÁFICA**

Se ha realizado en las bases bibliográficas MEDLINE (1966-2007), EMBASE (1988- 2007), registro de ensayos del grupo renal de la Cochrane y registro central de ensayos controlados randomizados de la Cochrane

Utilizamos en la búsqueda las palabras clave: diabetic nephropathy, renin-angiotensin system, angiotensin converting enzyme inhibition, angiotensin II receptor antagonist, N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase, urinary enzymes.

## **RESULTADOS**



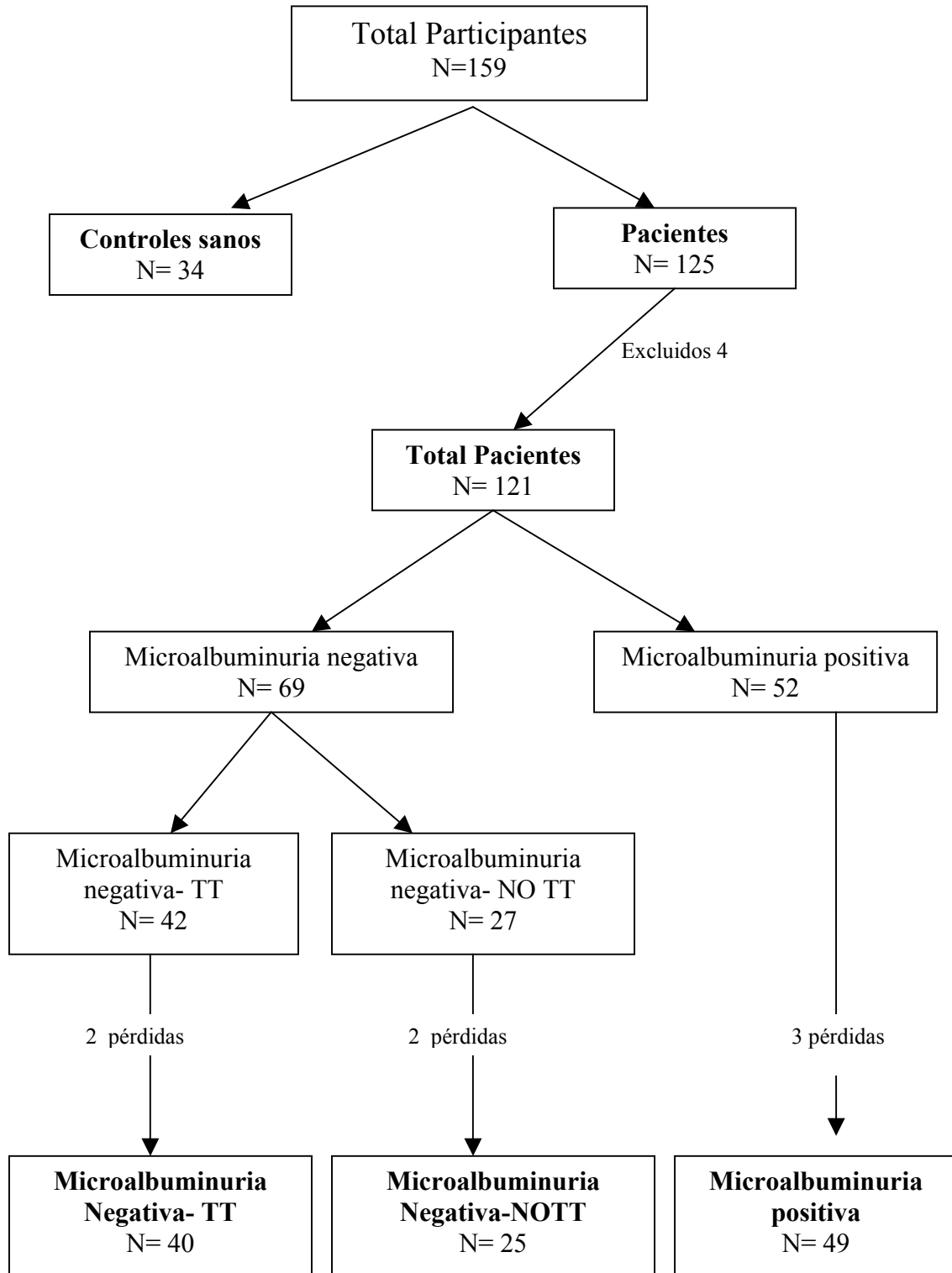
Un total de 159 individuos dieron su consentimiento para participar en el estudio: 34 controles sanos y 125 pacientes con DM tipo 2.

Del grupo de pacientes con DM, se excluyeron antes de empezar: 2 pacientes con IR de otra etiología, 1 con IAM reciente y 1 por seguir tratamiento farmacológico con inmunosupresores. Los 121 restantes fueron distribuidos en 2 grupos según la presencia o no de microalbuminuria:

- **Microalbuminuria positiva (microalb +):** 52 pacientes. Durante el tiempo de seguimiento se perdieron 3 pacientes: 1 por abandono, 1 por intolerancia al tratamiento, 1 por sufrir un AVC. Finalizaron el estudio 49 pacientes.
- **Microalbuminuria negativa:** 69 pacientes, que se dividieron en 2 grupos:
  - **Grupo Microalbuminuria negativa y tratamiento (microalbuminuria negativa –TT):** 42 pacientes. Durante el tiempo de seguimiento se perdieron 2 pacientes por intolerancia al tratamiento. Concluyeron el estudio 40 pacientes
  - **Grupo microalbuminuria negativa y no tratamiento (microalbuminuria negativa –NOTT):** 27 pacientes. Durante el tiempo de seguimiento se perdieron 2 pacientes: 1 por abandono del estudio y 1 por sufrir un coma hiperosmolar. Concluyeron el estudio 25 pacientes.

En la Figura 1 se esquematiza la distribución de los individuos que participan en el estudio en los diferentes grupos

Figura 1. Distribución de los sujetos incluidos en el estudio



## 1. ESTUDIO DESCRIPTIVO

### 1.1. ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LOS DATOS BASALES

#### 1.1.1. GRUPO CONTROL SANOS

En la Tabla 3 se describen las características clínicas y demográficas del grupo controles sanos

**Tabla 3. Características clínicas y demográficas del grupo controles sanos**

<b>VARIABLE</b>	<b>N= 34</b> (Media $\pm$ std ó %)
<b>Edad</b> (años)	61,3 $\pm$ 7,9
<b>Hombres</b>	47,1
<b>IMC</b> (Kgr/m <sup>2</sup> )	28,0901 $\pm$ 1,5640
<b>TA sistólica</b> (mmHg)	113,1002 $\pm$ 1,370
<b>TA diastólica</b> (mmHg)	75,2390 $\pm$ 8,3241
<b>Hábito tabáquico</b>	23,1

En la tabla 4 se muestran los valores basales de las determinaciones bioquímicas de laboratorio en el grupo control sanos

**Tabla 4 Determinaciones bioquímicas basales del grupo controles sanos**

<b>VARIABLE</b>	<b>N= 34</b> <b>(Media ± std ó %)</b>
<b>Ac. úrico</b> (mmol/l)	0,2207 ± 0,0813
<b>Urea</b> (nmol/l)	6,8968 ± 2,1059
<b>Creatinina sérica</b> (μmol/l)	87,5 ± 19,6
<b>Microalbuminuria</b> (mg/gr creatinina)*	3,2100 (0,200-6,4600)
<b>Aclaramiento creatinina</b> (ml/min)	105 ± 10,75
<b>Creatinina urinaria</b> (mmol/día)	7,3 ± 3,3
<b>HbA1c</b>	6,2 ± 0,7
<b>NAG urinario</b> (U/g creatinina)	10,01 ± 5,9

\* Mediana (P<sub>25</sub>-P<sub>75</sub>)

### 1.1.2. GRUPO MICROALBUMINURIA POSITIVA

En la Tabla 5 se muestran las características clínicas basales de los pacientes con microalbuminuria positiva. El total de pacientes incluidos en este grupo y que terminaron el estudio fue de 49, de ellos el 57% eran varones. La edad media era de 64 años, con un mínimo de 50 y máximo 86. El tiempo de evolución de la DM desde el diagnóstico era en el 50% de los pacientes < 9 años, con un mínimo de 1 año y un máximo de 25.

El 83,67% de los pacientes eran hipertensos, de los cuales el 78% seguían tratamiento antihipertensivo, y de estos, solo el 12,5% estaba controlado (TA<135/85).

**Tabla 5. Características clínicas basales del grupo microalbuminuria positiva**

<b>VARIABLE</b>	<b>MICROALBUMINURIA POSITIVA</b> <b>(N=49)</b> <b>(Media ± std ó %)</b>
<b>Edad</b> (años)	64,05 ±8,807
<b>Hombres</b>	57,1
<b>T. evolución de la Diabetes</b> (años)*	9,0000 (4,0000-13,0000)
<b>IMC</b> (Kgr/m <sup>2</sup> )	29,2380 ± 2,5314
<b>TA sistólica</b> (mmHg)	146,4490 ± 15,0818
<b>TA diastólica</b> (mmHg)	81,0204 ± 11,3642
<b>HTA</b>	83,67
<b>T° antihipertensivo</b>	78,05
<b>Hábito tabáquico</b>	20,4

\* Mediana (P<sub>25</sub>-P<sub>75</sub>)

En la Tabla 6 se muestran los valores basales de las determinaciones de laboratorio del grupo microalbuminuria positiva. Además del aumento de la HbA1c se observa una alteración de los principales parámetros de función renal (urea, creatinina sérica, aclaramiento de creatinina, microalbuminuria y NAG)

**Tabla 6. Determinaciones bioquímicas basales del grupo microalbuminuria****Positiva**

<b>VARIABLE</b>	<b>MICROALB. POSITIVA (N=49) ( Media <math>\pm</math> std ó Mediana (P<sub>25</sub>-P<sub>75</sub>))</b>
<b>HbA1c</b>	8,7204 $\pm$ 1,2785
<b>Urea (nmol/l)</b>	9,0308 $\pm$ 2,5723
<b>Urico (nmol/l)</b>	0,2543 (0,2018-0,3154)
<b>Creatinina sérica (<math>\mu</math>mol/l)</b>	109,2733 $\pm$ 26,5818
<b>Aclar. creatinina (ml/min)</b>	61,3653 $\pm$ 18,8580
<b>Creatinina orina (mmol/día)</b>	8,2212 (6,4532-9,9000)
<b>Microalbuminuria (mg/día)</b>	164,2000 (93,7000-236,4500)
<b>NAG ((U/gr creatinina)</b>	33,8144 (18,0085-60,6718)

**1.1.3. GRUPO MICROALBUMINURIA NEGATIVA – TRATAMIENTO**

En la Tabla 7 se muestran las características clínicas basales de los pacientes con microalbuminuria negativa y TT. El total de pacientes incluidos en este grupo y que terminaron el estudio fue de 40, de los cuales el 60% eran varones. La edad media era de 66 años (46-80). El tiempo medio de evolución de la DM desde el diagnóstico era en el 50% de los pacientes < 5 años, con un mínimo de 1 y un máximo de 28. El 67,5% de los pacientes eran hipertensos, de los cuales 70,37% seguían tratamiento antihipertensivo, y de estos, el 10,52 % estaban controlados (TA<135/85).

**Tabla 7. Características clínicas basales del grupo microalbuminuria negativa - TT**

<b>VARIABLE</b>	<b>MICROALB. NEGATIVA-TT</b> <b>(N=40)</b> <b>(Media ± std ó %)</b>
<b>Edad</b> (años)	66,78 ±8,364
<b>Hombres</b>	60
<b>T. evolución de la Diabetes</b> (años)*	5,0000 (1,2500-12,7500)
<b>IMC</b> (Kgr/m <sup>2</sup> )	29,8889 ±4,2758
<b>TA sistólica</b> (mmHg)	142,4250 ±13,0911
<b>TA diastólica</b> (mmHg)	78,5000 ±7,5277
<b>HTA</b>	67,5
<b>T° antihipertensivo</b>	70,37
<b>Hábito tabáquico</b>	22,5

\* Mediana (P<sub>25</sub>-P<sub>75</sub>)

En la Tabla 8 se muestran las determinaciones bioquímicas del grupo microalbuminuria negativa- TT, se observa un aumento de la HbA1c y de la NAG, así como un descenso del aclaramiento de creatinina, estando el resto de parámetros de función renal dentro de la normalidad

**Tabla 8. Determinaciones bioquímicas basales del grupo microalbuminuria negativa - TT**

<b>VARIABLE</b>	<b>MICROALB. NEGATIVA-TT (N=40) ( Media ± std ó Mediana (P<sub>25</sub>-P<sub>75</sub>))</b>
<b>HbA1c</b>	7,1475 ± 1,0760
<b>Urea (nmol/l)</b>	6,3605 ± 1,6561
<b>Urico (nmol/l)</b>	0,3304 (0,2744-0,3835)
<b>Creatinina sérica (μmol/l)</b>	86,7646 ± 20,5691
<b>Aclar. Creatinina (ml/min)</b>	76,0675 ± 18,1283
<b>Creatinina orina (mmol/día)</b>	8,9726 (6,851-12,265)
<b>Microalbuminuria (mg/día)</b>	4,1800 (3,8000-8,0425)
<b>NAG (U/gr creatinina)</b>	16,9726 (4,7964-34,8514)

#### **1.1.4. GRUPO MICROALBUMINURIA NEGATIVA – NO TRATAMIENTO**

En la Tabla 9 se muestran las características clínicas basales de los pacientes con microalbuminuria negativa y NO TT. El total de pacientes incluidos en este grupo y que terminaron el estudio fue de 25. La edad media era de 67 años ((51-85), de los cuales el 68% eran varones. El tiempo medio de evolución de la DM desde el diagnóstico era, en



el 50% de los pacientes < de 9,5 años (1-28). El 48% de los pacientes eran hipertensos, de los cuales el 66,67% seguían tratamiento antihipertensivo, y de estos el 16% estaban controlados.

**Tabla 9. Características clínicas del grupo microalbuminuria negativa - no TT**

<b>VARIABLE</b>	<b>MICROALB. NEGATIVA- NO TT (N=25) (Media ± std ó %)</b>
<b>Edad</b> (años)	67,88 ±9,426
<b>Hombres</b>	68
<b>T. evolución de la Diabetes</b> (años)*	8,0000 (2,5000-14,5000)
<b>IMC</b> (Kgr/m <sup>2</sup> )	30,2409 ±5,6771
<b>TA sistólica</b> (mmHg)	139,0400 ±14,65
<b>TA diastólica</b> (mmHg)	77,9200 ±9,2552
<b>HTA</b>	48
<b>T° antihipertensivo</b>	66,67
<b>Hábito tabáquico</b>	24

\* Media (P<sub>25</sub>-P<sub>75</sub>)

En la Tabla 10 se muestran las determinaciones analíticas de los pacientes con microalbuminuria negativa – no TT. Todos los valores se encuentran dentro de la normalidad, excepto un aumento de HbA1c y NAG, así como un descenso en el valor del aclaramiento de creatinina

**Tabla 10. Determinaciones bioquímicas basales del grupo microalbuminuria negativa – no TT**

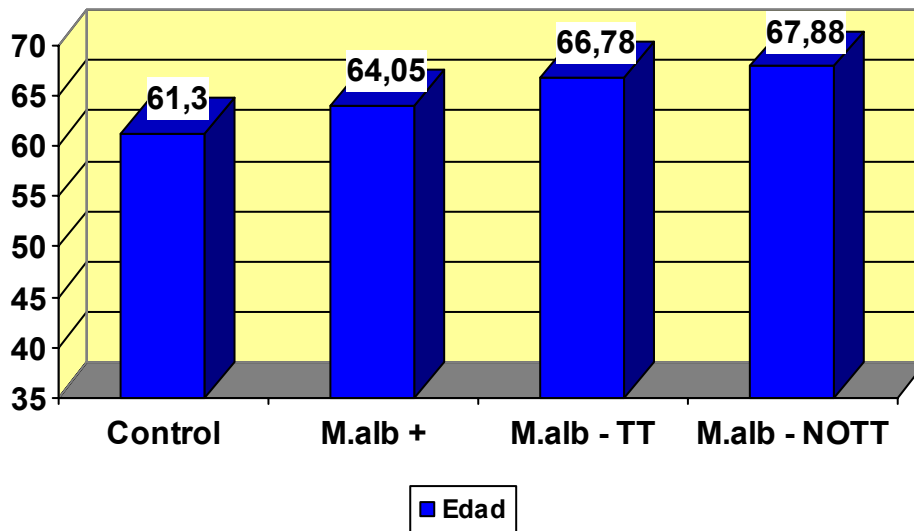
<b>VARIABLE</b>	<b>MICROALB. NEGATIVA –NO TT (N=25) ( Media ± std ó Mediana (P<sub>25</sub>-P<sub>75</sub>))</b>
<b>HbA1c</b>	8,4560 ± 2,2896
<b>Urea</b> (nmol/l)	6,2139 ± 0,9561
<b>Urico</b> (nmol/l)	0,3186 (0.2714-0,3776)
<b>Creatinina sérica</b> (μmol/l)	86,1723 ± 12,2971
<b>Aclar. Creatinina</b> (ml/min)	75,8160 ± 11,7744
<b>Creatinina orina</b> (mmol/día)	10,1100 (6,8068-14,7628)
<b>Microalbuminuria</b> (mg/día)	4,2000 (2,8250-8,2700)
<b>NAG</b> (U/gr creatinina)	18,9835 (6,0801-35,0405)

## **1.2. COMPARACION DE LOS VALORES BASALES DE LAS VARIABLES DE LOS DISTINTOS GRUPOS**

En los gráficos siguientes se comparan los valores medios basales de las variables estudiadas de los distintos grupos

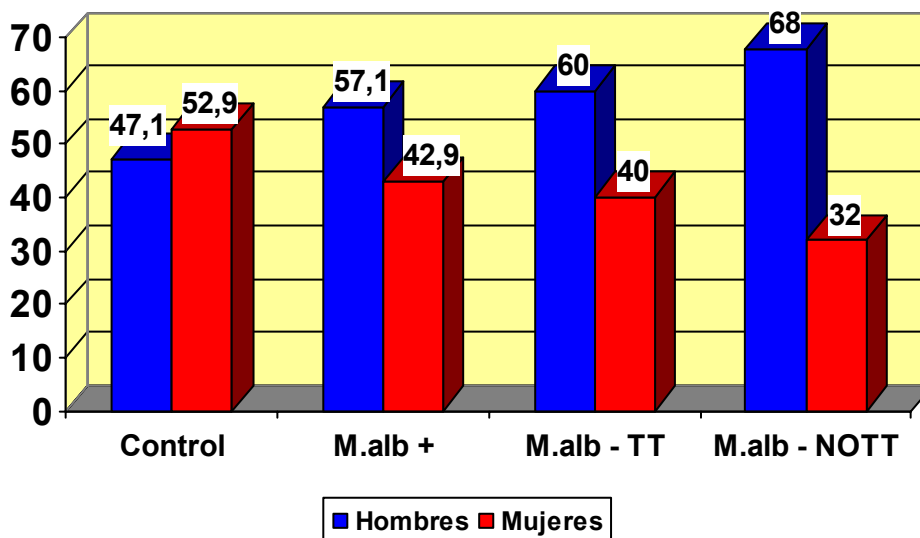
1.2.1. **Edad.** En el Figura 2 se representa la edad media del grupo control y de los tres grupos del estudio, no existiendo diferencias significativas entre ellos

Figura 2. Edad media



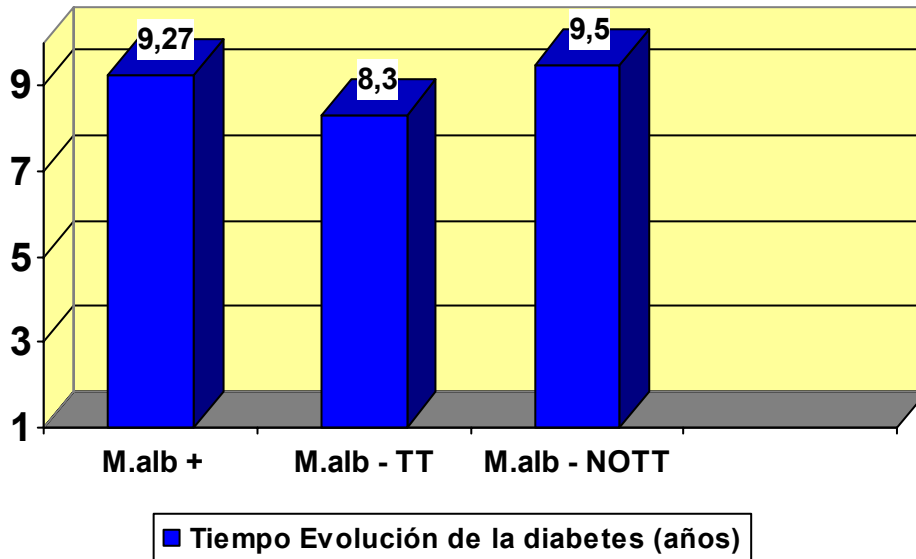
1.2.2. **Distribución por sexo.** En la Figura 3 se representa la distribución por sexo, no existiendo diferencias entre los distintos grupos

Figura 3. Distribución por sexo



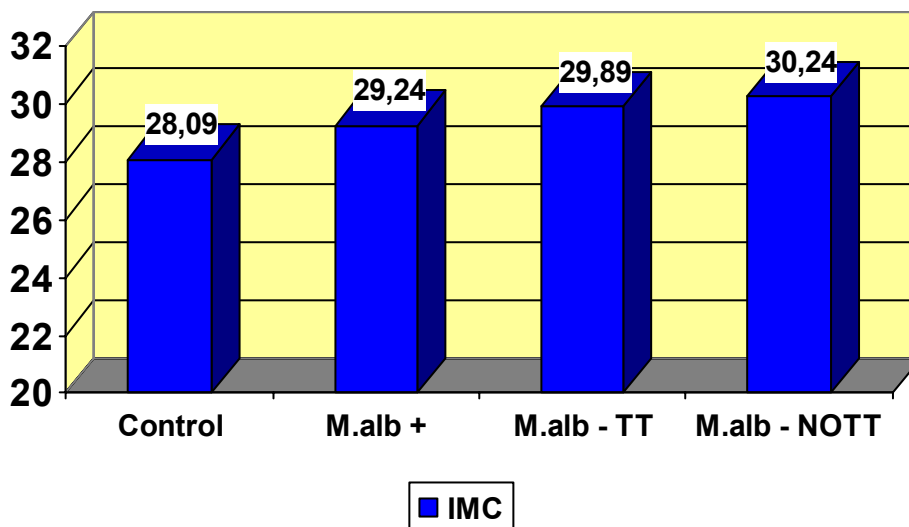
1.2.3. **Tiempo medio de evolución de la diabetes** (Figura 4). El tiempo desde el diagnóstico de DM tipo 2 era similar en los 3 grupos

**Figura 4. Tiempo medio desde el diagnóstico**



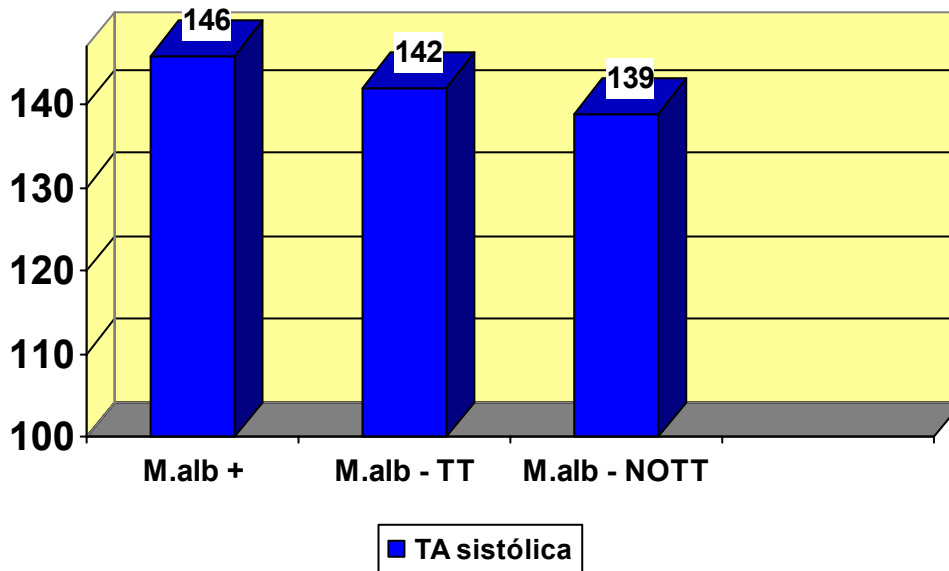
1.2.4. **Índice de masa corporal** (Figura 5). El valor del índice de masa corporal era similar en todos los grupos

**Figura 5. Índice de masa corporal**



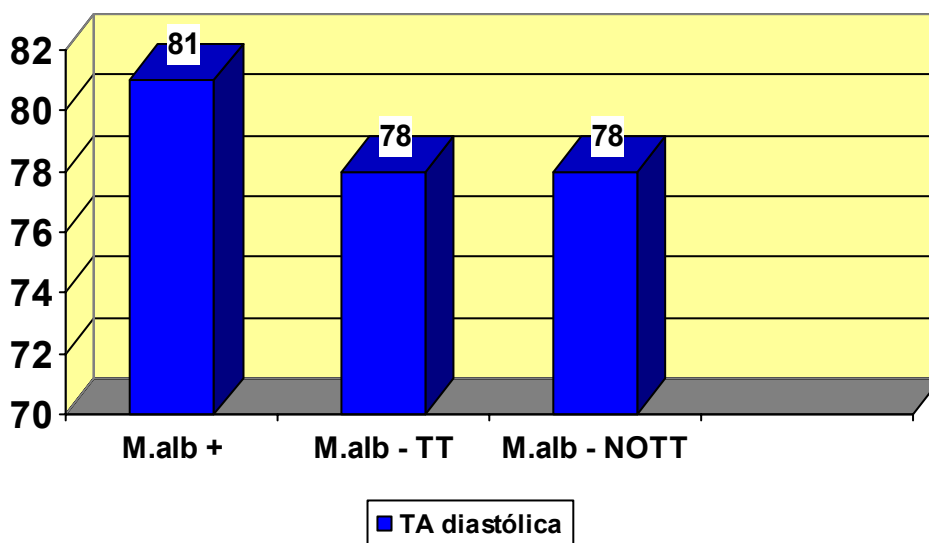
1.2.5. **Tensión arterial sistólica** (figura 6): el grupo microalbuminuria positiva tenía valores más elevados sin ser estadísticamente significativos

**Figura 6. Tensión arterial sistólica**



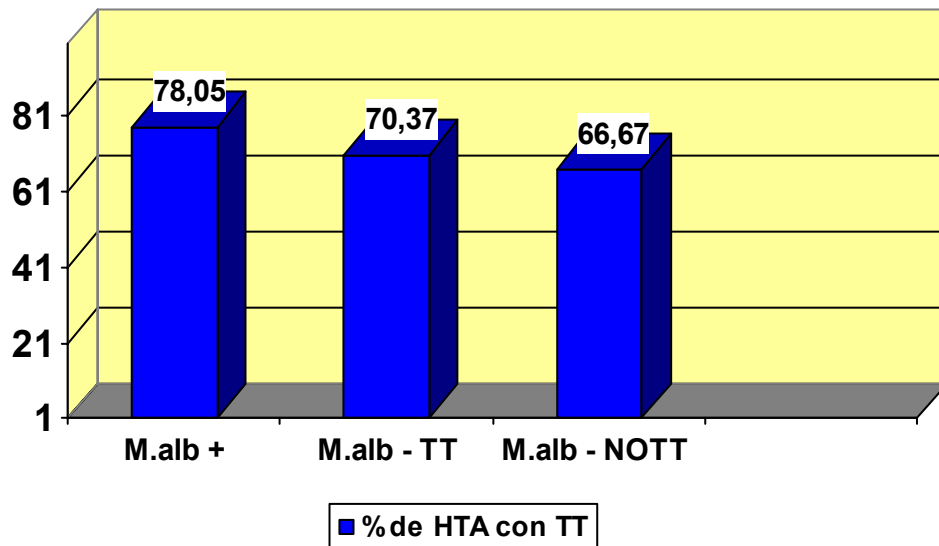
1.2.6. **Tensión arterial diastólica.** (Figura 7). Los valores eran similares en todos los grupos

**Figura 7. Tensión arterial diastólica**



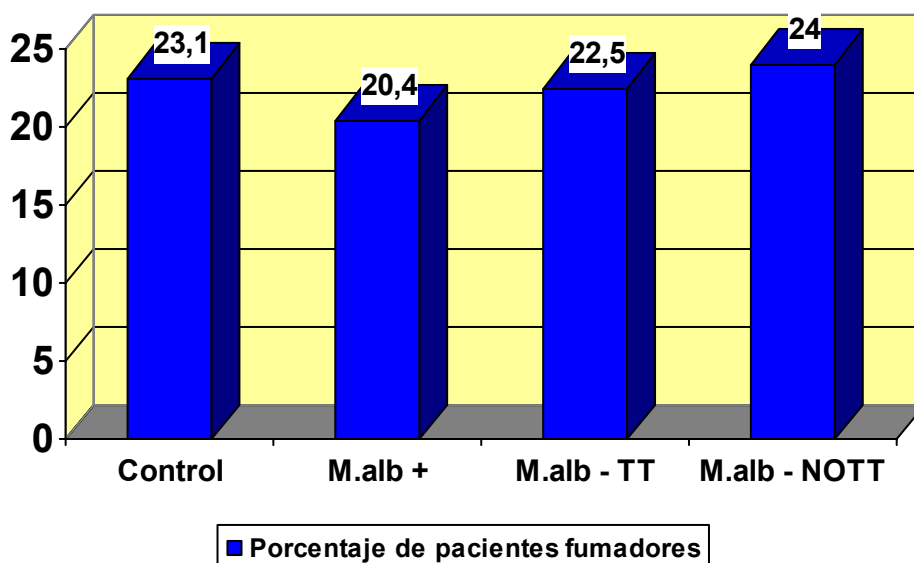
1.2.7. **Porcentaje de pacientes con HTA que siguen tratamiento antihipertensivo al inicio del estudio** (Figura 8). No se observan diferencias entre los grupos

**Figura 8. Porcentaje de pacientes en TT° antihipertensivo**



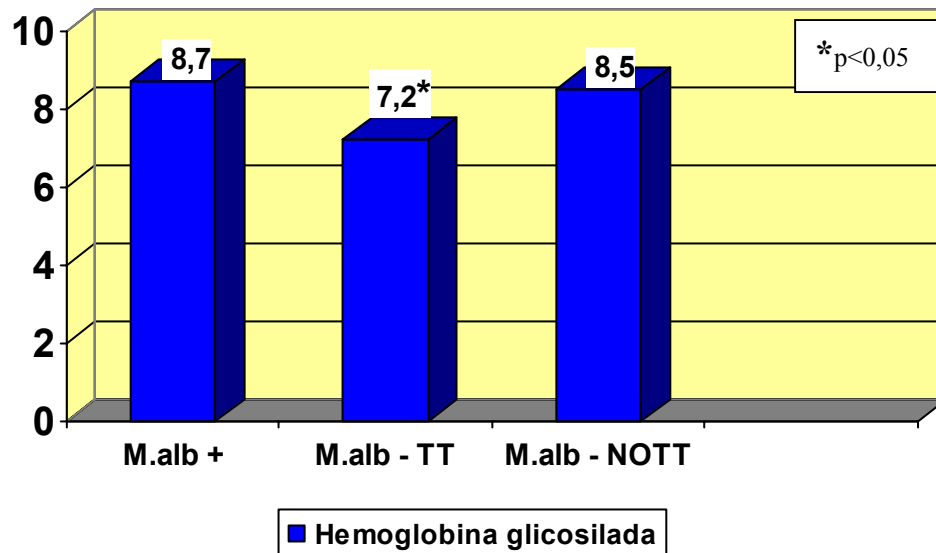
1.2.8. **Habito tabáquico** (Figura 9). El porcentaje de pacientes fumadores era similar en todos los grupos

**Figura 9. Porcentaje de pacientes fumadores**



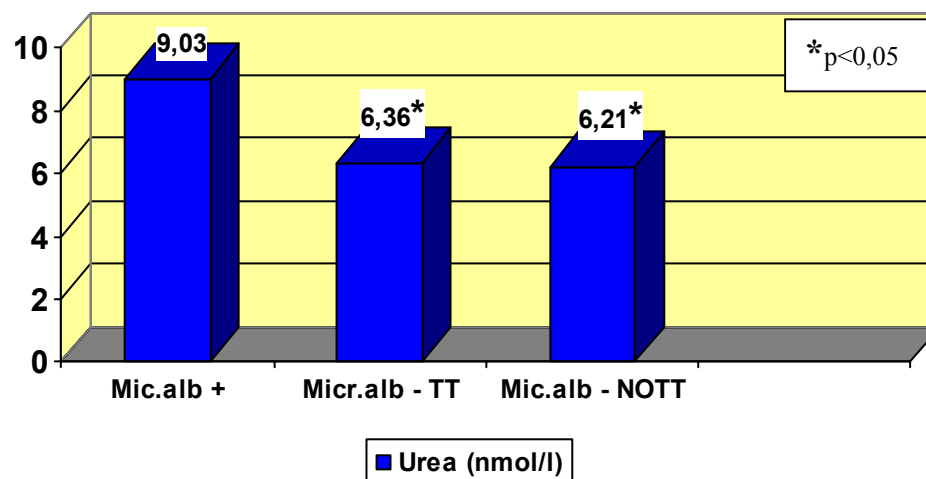
**1.2.9. Hemoglobina glicosilada** (Figura 10). El grupo Microalbuminuria negativa -TT presentaba cifras de HbA1c significativamente mas bajas que los otros 2 grupos ( $p<0,05$ )

**Figura 10. Hemoglobina glicosilada**



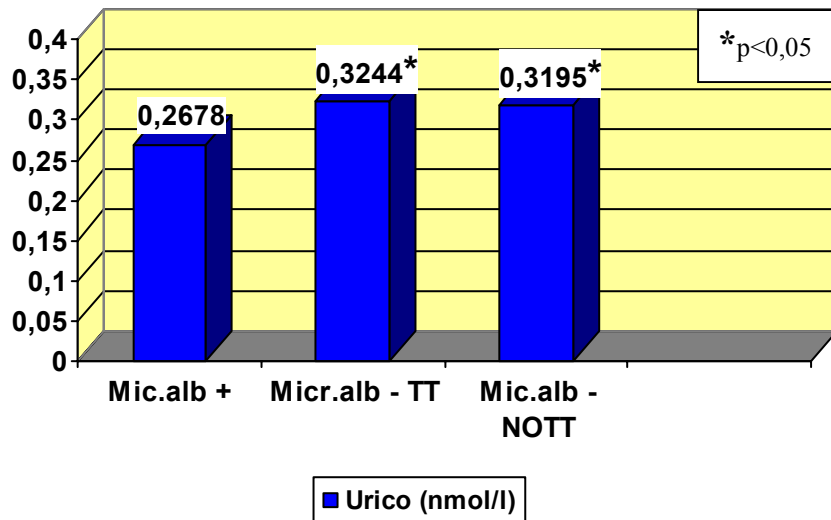
**1.2.10. Urea** (Figura 11). La determinación basal de urea muestra una diferencia significativa entre el grupo microalbuminuria positiva y los dos grupos de microalbuminuria negativa ( $p<0,05$ ).

**Figura 11. Urea**



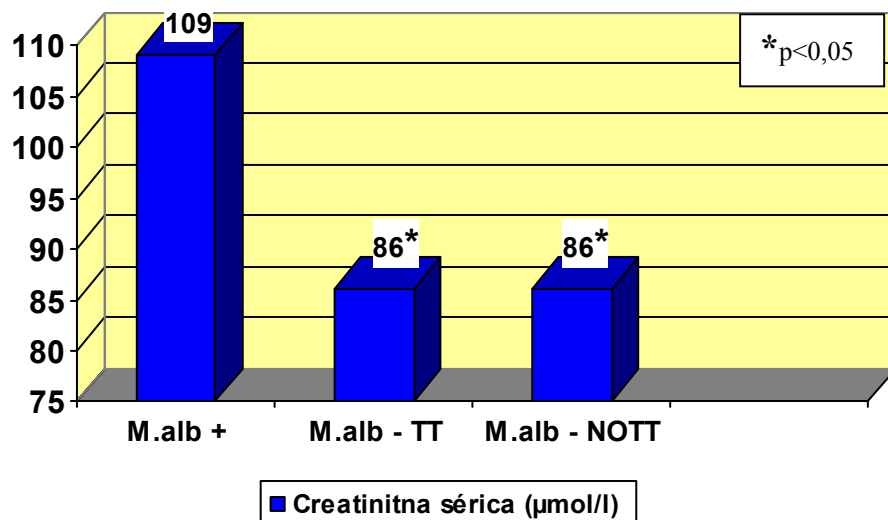
**1.2.11. Acido úrico** (Figura 12). Existía una diferencia significativa en el valor basal de ácido úrico entre el grupo microalbuminuria positiva y los otros dos grupos

**Figura 12. Acido úrico**



**1.2.12. Creatinina sérica** (Figura 13). Se observa una diferencia estadísticamente significativa entre los valores basales de creatinina sérica en el grupo microalbuminuria positiva y los grupos con microalbuminuria negativa

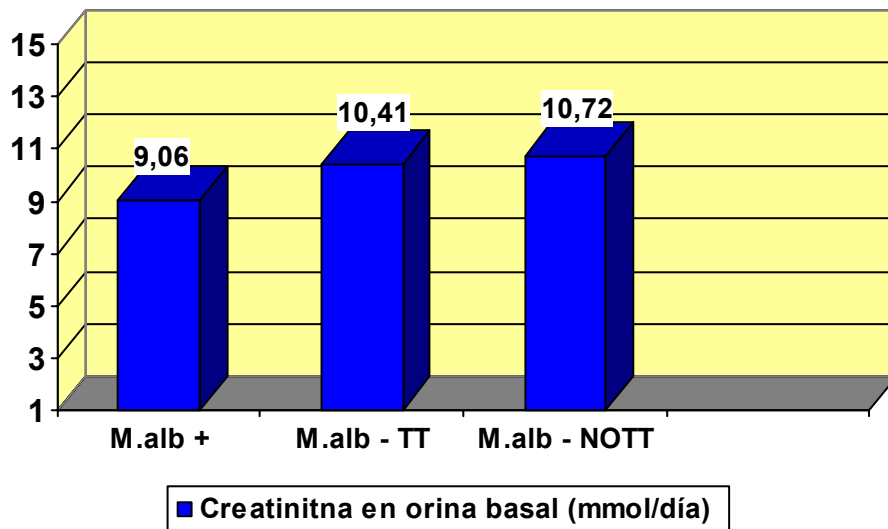
**Figura 13. Creatinina sérica**





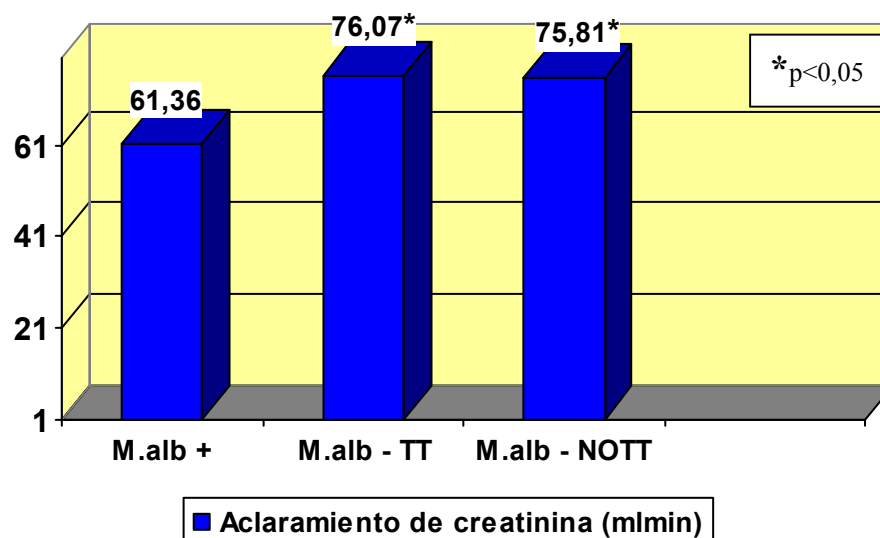
1.2.13. **Creatinina en orina** (Figura 14). No hubo diferencias significativas entre los distintos grupos.

Figura 14. Creatinina orina

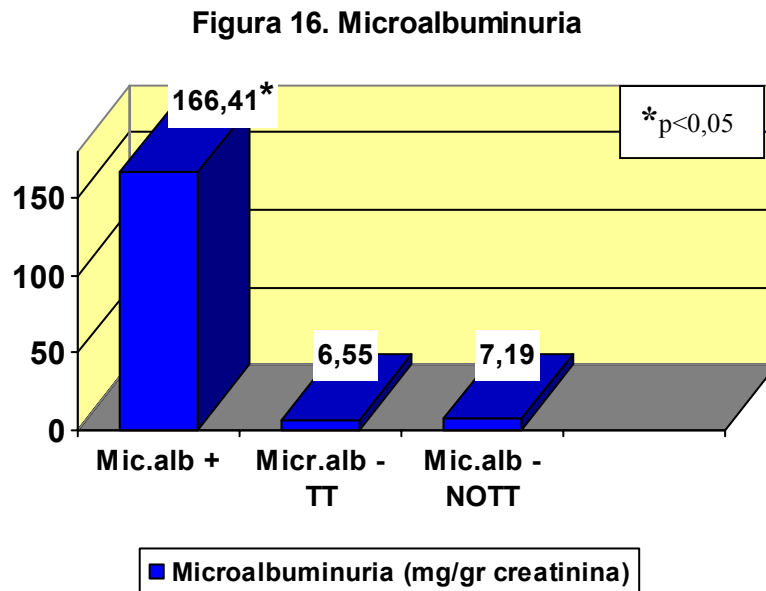


1.2.14. **Aclaramiento de creatinina** (Figura 15). El valor del aclaramiento de creatinina en el grupo microalbuminuria positiva es significativamente más bajo que en los otros dos grupos.

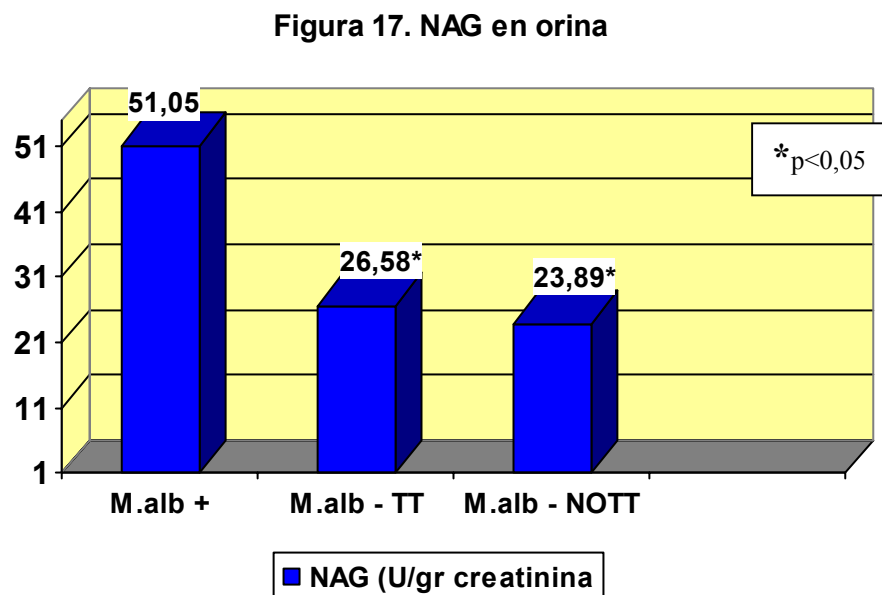
Figura 15. Aclaramiento de creatinina



**1.2.15. Microalbuminuria** (Figura 16). Los niveles de microalbuminuria, fueron significativamente más elevados en el grupo microalbuminuria positiva

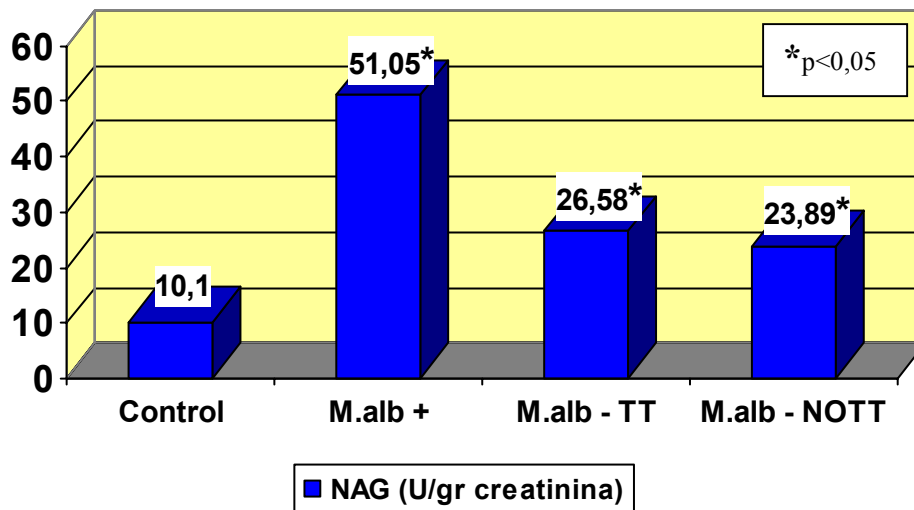


**1.2.16. NAG** (Figura 17). Existía una diferencia estadísticamente significativa en los niveles basales de NAG entre los grupos microalbuminuria positiva y negativa



Cuando se comparan los valores de NAG de los grupos de estudio frente al grupo control se observa una diferencia estadísticamente significativa en todos los grupos de pacientes con DM tipo 2 (microalbuminuria positiva  $p < 0,000$ , microalbuminuria negativa-TT  $p < 0,013$  y microalbuminuria negativa-NOTT  $p < 0,000$ ). (Figura 18)

**Figura 18. Valores de la NAG de los grupos de Estudio frente al Grupo Control**



## 2. ESTUDIO UNIVARIANTE

### 2.1. COMPARACION ENTRE LOS PARAMETROS BASALES Y FINALES DE CADA GRUPO

#### 2.1.1. GRUPO MICROALBUMINURIA POSITIVA

En la Tabla 11 se comparan los valores medios de los parámetros clínicos basales y finales en el grupo microalbuminuria positiva, observándose una reducción significativa de los valores de TA sistólica y TA diastólica al final del estudio

**Tabla 11. Comparación entre los parámetros clínicos basales y finales en el grupo microalbuminuria positiva**

VARIABLE <sup>1</sup>	MICROALBUMINURIA POSITIVA (N=49) (Media ± std)	
	BASAL	FINAL
	IMC (Kgr/m <sup>2</sup> )	29,2380 ± 2,5314
TA sistólica (mmHg)	146,4490 ± 15,0818	137,5510* ± 11,2325
TA diastólica (mmHg)	81,0204 ± 11,2325	76,0200* ± 9,6274

\* p<0,05

En la Tabla 12 se comparan los valores medios de laboratorio basales y finales en el grupo microalbuminuria positiva, observándose una disminución significativa de la microalbuminuria (p<0,000), NAG (p<0,000), HbA1c (p<0,000) y creatinina sérica (p<0,015) al final del estudio. Así mismo se observa un aumento no significativo del

aclaramiento de creatinina. Los cambios en urea y ácido úrico en sangre y creatinina en orina, no son significativos estadísticamente

**Tabla 12. Comparación entre los valores de laboratorio basales y finales en el grupo microalbuminuria positiva**

VARIABLE	MICROALBUMINURIA POSITIVA (N=49) (Media ± std)	
	BASAL	FINAL
	<b>Microalbuminuria</b> (mg/día)	166,4169 ± 89,4059
<b>NAG</b> (U/grcreatinina)	51,0457 ± 63,5413	27,2240* ± 27,6324
<b>HbA1c</b>	8,7204 ± 1,2785	7,8469* ± 1,2598
<b>Urea</b> (mmol/l)	9,0308 ± 2,5723	8,6388 ± 2,1106
<b>Ác. Úrico</b> (nmol/l)	0,2678 ± 0,8700	0,2629 ± 0,0984
<b>Creat.sérica</b> (μmol/l)	109,2733 ± 26,5818	102,2681* ± 26,0489
<b>Creatinina orina</b> (mmol/día)	9,0655 ± 4,2309	9,1262 ± 4,4229
<b>Aclaramiento creatinina</b> (ml/min)	61,3653 ± 18,8580	64,4959 ± 20,5139

\* p<0,05

### 2.1.2. GRUPO MICROALBUMINURIA NEGATIVA – TRATAMIENTO

En la Tabla 13 se comparan los valores medios de los parámetros clínicos basales y finales en el grupo microalbuminuria negativa- tratamiento, observándose una reducción significativa de los valores de TA sistólica y TA diastólica al final del estudio.

**Tabla 13. Comparación entre los parámetros clínicos basales y finales en el grupo microalbuminuria negativa - TT**

VARIABLE	MICROALBUMINURIA NEGATIVA - TT (N=40) (Media ± std)	
	BASAL	FINAL
<b>IMC</b> (Kgr/m <sup>2</sup> )	29,8889 ± 4,2758	29,5717 ± 29,5710
<b>TA sistólica</b> (Kgr/m <sup>2</sup> )	142,4250 ± 13,0911	136,7250* ± 15,0315
<b>TA diastólica</b> (Kgr/m <sup>2</sup> )	78,5000 ± 7,5277	75,3750* ± 8,0373

\*p<0,05

En la Tabla 14 se comparan los valores medios de laboratorio basales y finales en el grupo microalbuminuria negativa -tratamiento, observándose una disminución no significativa de NAG, al final del estudio. En el resto de parámetros no hay diferencias, salvo en el aclaramiento de creatinina que disminuyen significativamente (p<0,039)

**Tabla 14. Comparación entre los valores de laboratorio basales y finales en el grupo microalbuminuria - TT**

VARIABLE	MICROALBUMINURIA NEGATIVA - TT (N=40) (Media ± std)	
	BASAL	FINAL
<b>Microalbuminuria</b> (mg/día)	6,5531 ± 4,9399	6,2100 ± 4,4325
<b>NAG</b> (U/gr creatinina)	26,5813 ± 30,9620	19,8114 ± 17,9213
<b>HbA1c</b>	7,1475 ± 1,0760	7,3925 ± 1,3133
<b>Urea</b> (mmol/l)	6,3605 ± 1,6561	6,3751 ± 1,9567
<b>Ác. Úrico</b> (nmol/l)	0,3244 ± 0,0833	0,3276 ± 0,0844
<b>Creat.sérica</b> (μmol/l)	86,7646 ± 20,5691	89,6599 ± 17,4021
<b>Creatinina orina</b> (mmol/día)	10,4162 ± 6,1192	10,2119* ± 4,0225
<b>Aclaramiento creatinina</b> (ml/seg)	76,0675 ± 18,1283	71,9725* ± 14,1750

\* p<0,05

### 2.1.3. GRUPO MICROALBUMINURIA NEGATIVA – NO TT

En la Tabla 15 se comparan los valores medios de los parámetros clínicos basales y finales en el grupo microalbuminuria negativa- no tratamiento, observándose una reducción significativa de los valores de TA diastólica al final del estudio.

**Tabla 15. Comparación entre los parámetros clínicos basales y finales en el grupo microalbuminuria – NO TT**

VARIABLE	MICROALB. NEGATIVA NO TT (N=25) (Media ± std)	
	BASAL	FINAL
<b>IMC</b>	30,2409 ± 5,6771	30,2757 ± 5,7273
<b>TA sistólica</b>	139,0400 ± 14,6500	140,4000 ± 13,0639
<b>TA diastólica</b>	77,9200 ± 9,2552	75,8000* ± 8,5000

\* p<0,05

En la Tabla 16 se comparan los valores medios de laboratorio basales y finales en el grupo microalbuminuria negativa – no tratamiento, observándose un aumento significativo en los valores de microalbuminuria (p<0,024). En el resto de parámetros no hay diferencias durante el seguimiento.



**Tabla 16. Comparación entre los valores de laboratorio basales y finales en el grupo microalb. – NO TT**

VARIABLE	MICROALBUMINURIA NEGATIVA- NOTT (N=25) (Media ± std)	
	BASAL <sup>1</sup>	FINAL <sup>1</sup>
<b>Microalbuminuria</b> (mg/día)	7,1984 ± 7,1734	10,5416* ± 11,2816
<b>NAG</b> (U/gr creatinina)	23,8863 ± 21,7025	23,9487 ± 30,0682
<b>HbA1c</b>	8,4560 ± 2,2896	7,8560 ± 1,2203
<b>Urea</b> (nmol/l)	6,2139 ± 0,9561	6,0227 ± 1,3737
<b>Ác. Úrico</b> (nmol/l)	0,3195 ± 0,0814	0,3409 ± 0,1031
<b>Creatinina sérica</b> (μmol/l)	86,1723 ± 12,2971	88,7890 ± 13,2822
<b>Creatinina orina</b> (mmol/día)	10,7221 ± 4,6529	14,0338* ± 10,0420
<b>Aclaramiento creatinina</b> (ml/min)	1,0041 ± 0,1690	0,9763 ± 0,1717

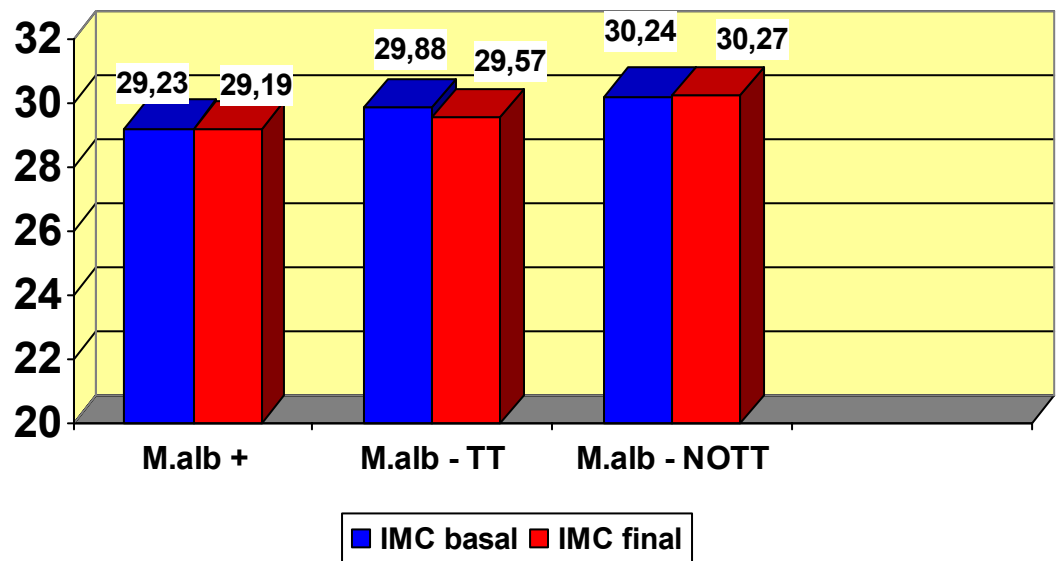
\* p<0,05

## 2.2. COMPARACIÓN ENTRE LOS PARÁMETROS BASALES Y FINALES DE LOS DISTINTOS GRUPOS

En las figuras 19 a 28 se comparan las variaciones de las variables en los tres grupos de estudio.

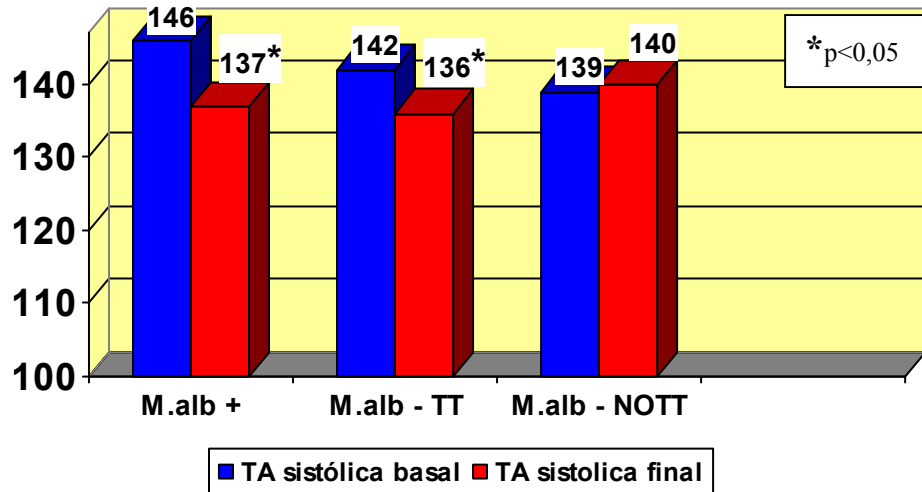
**2.2.1. Índice de masa corporal** (figura 19). No se observan cambios en ningún grupo.

**Figura 19. Valores basales y finales del Índice de masa corporal**



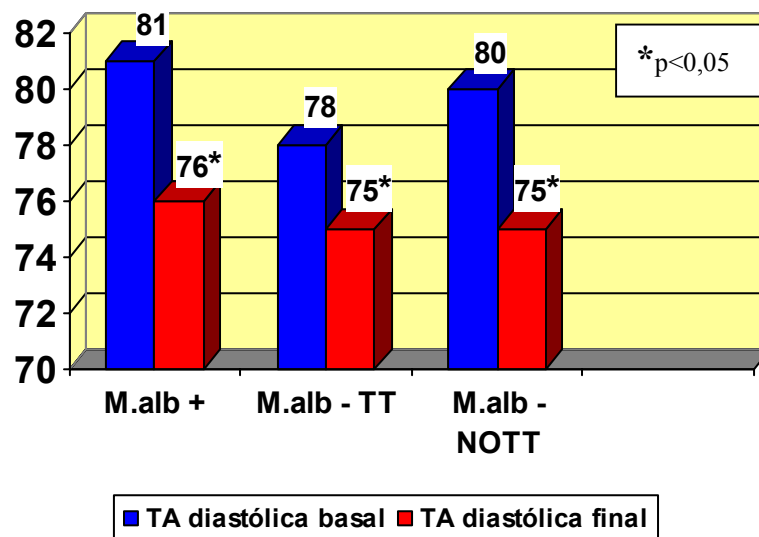
2.2.2. **Tensión arterial sistólica** (figura 20). Se observa una disminución significativa en el grupo microalbuminuria positiva y microalbuminuria negativa – tratamiento.

Figura 20. Valores basales y finales de la TA sistólica



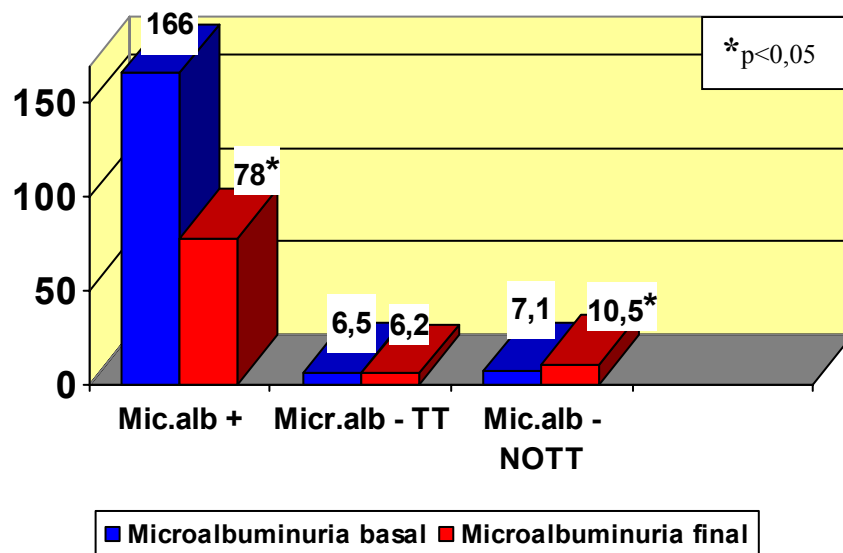
2.2.3. **Tensión arterial diastólica** (figura 21). Se observa una disminución significativa de todos los grupos.

Figura 21. Valores basales y finales de la TA diastólica



**2.2.4. Microalbuminuria** (Figura 21). Disminuye significativamente en el grupo microalbuminuria positiva, mientras que aumenta en el grupo microalbuminuria negativa y no tratamiento.

**Figura 21. Valores basales y finales de la Microalbuminuria**



En la Tabla 17 se resume la evolución de los valores de microalbuminuria a lo largo del estudio. Del total de pacientes con microalbuminuria positiva al inicio del estudio, el 28,6% normalizó las cifras al finalizar el mismo y ningún paciente había evolucionado a macroalbuminuria. Todos los pacientes, salvo en dos, se produjo una disminución de la excreción urinaria de albúmina con un descenso del 51% respecto al inicio del estudio.

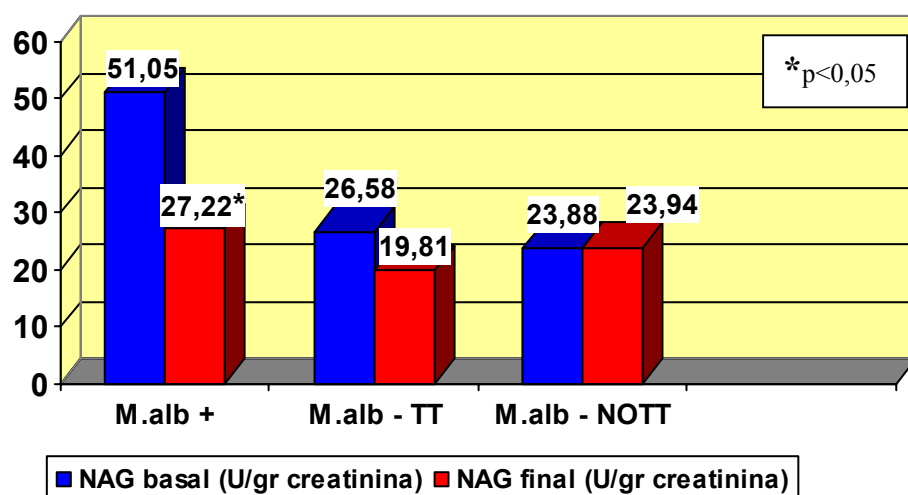
Ningún paciente con microalbuminuria negativa y TT evolucionó a microalbuminuria positiva, mientras que 3 pacientes (12%) del grupo sin tratamiento evolucionaron a microalbuminuria positiva al final del estudio

**Tabla 17. Evolución de la microalbuminuria en los 3 grupos durante el estudio**

	Microalbuminuria basal		Microalbuminuria final	
	Positiva	Negativa	Positiva	Negativa
Microalb + (49)	49 (100%)	0	35 (71%)	14 (28,6%)
Microalb – TT (40)	0	35 (100%)	0	40 (100%)
Microalb–NOTT (25)	0	25 (100%)	3 (12%)	22 (88%)

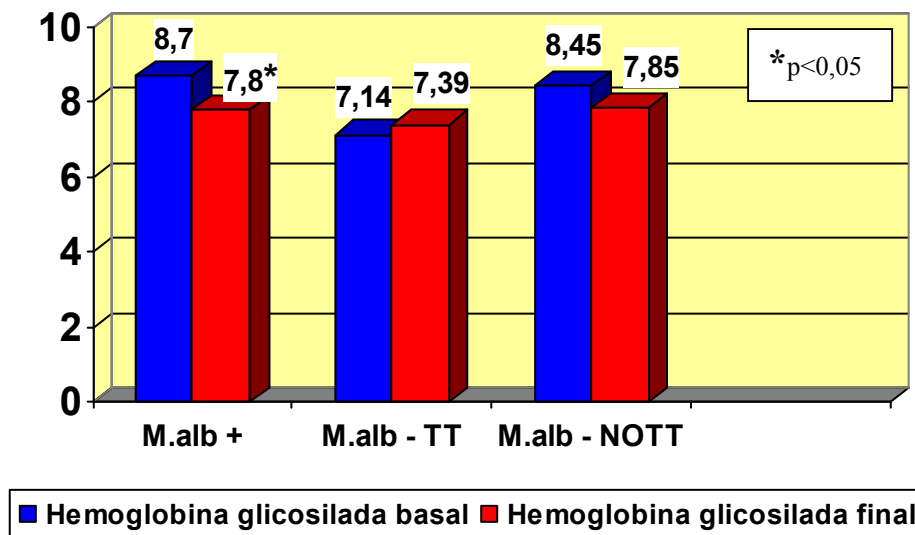
**2.2.5. NAG (Figura 23).** En el grupo microalbuminuria positiva se produce un descenso significativo en los valores de NAG. También desciende aunque sin llegar a la significación en el grupo microalbúmina positiva-TT.

**Figura 23. Valores basales y finales de NAG**



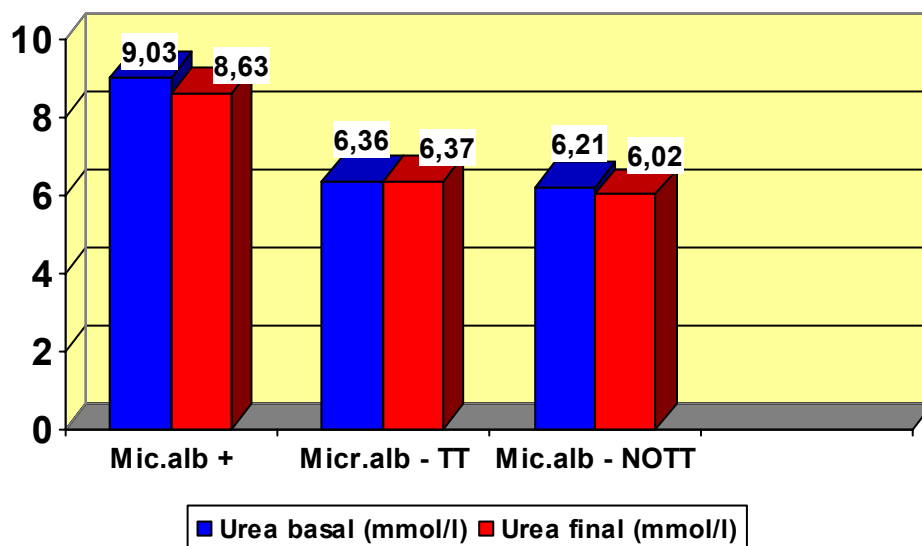
2.2.6. Hemoglobina glicosilada (Figura 24). Solo se observan cambios significativos en el grupo microalbuminuria positiva.

Figura 24. Valores basales y finales de Hemoglobina glicosilada



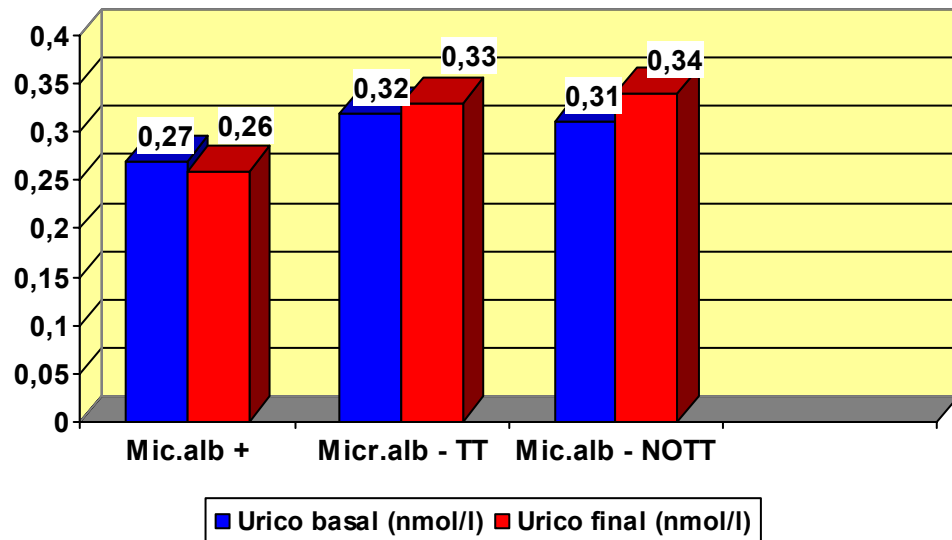
2.2.7. Urea (Figura 25). No se observan cambios significativos en ninguno de los grupos.

Figura 25. Valores basales y finales de Urea



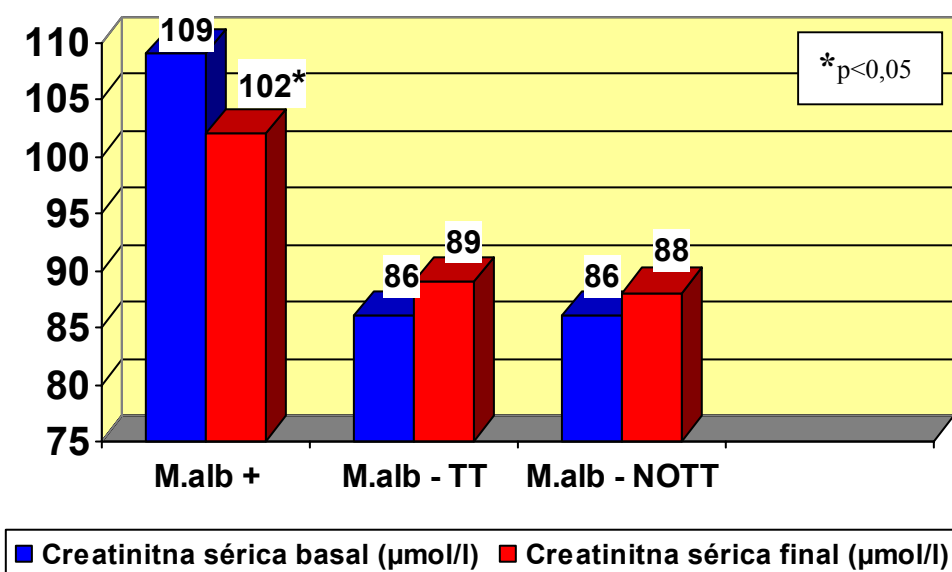
2.2.8. **Acido úrico** (Figura 26). No se observan diferencias en ninguno de los grupos.

Figura 26. Valores basales y finales de Acido úrico



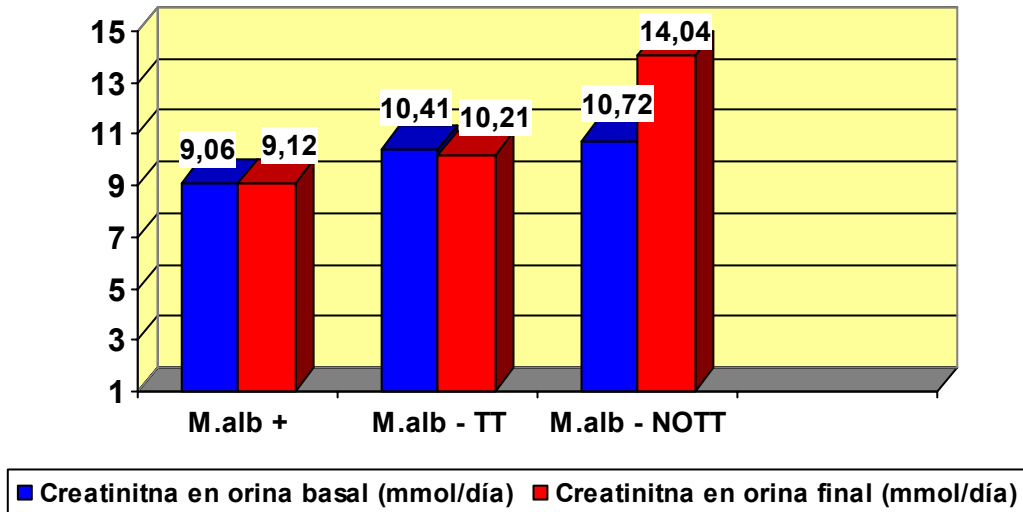
2.2.9. **Creatinina sérica** (Figura 27). Disminución significativa solo en el grupo microalbuminuria positiva.

Figura 27. Valores basal y final de Creatinina sérica



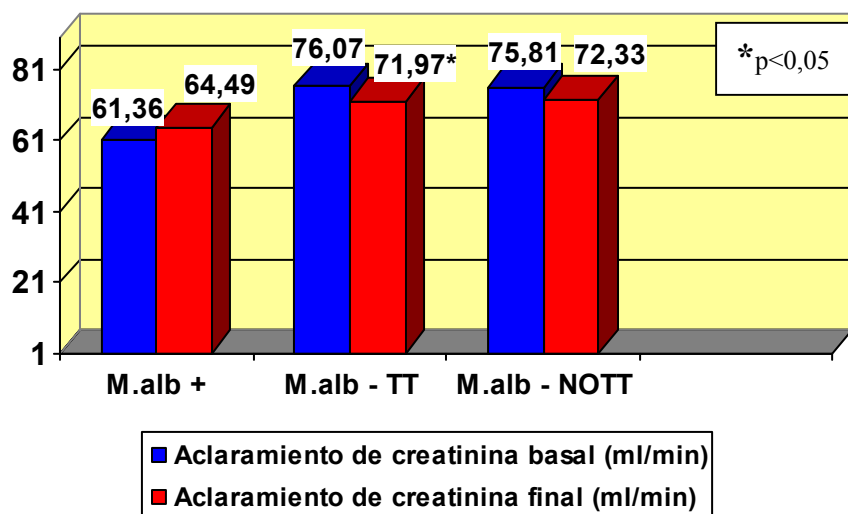
2.2.10. **Creatinina en orina** (figura 28). No se observan diferencias significativas en ninguno de los tres grupos.

Figura 28. Creatinina orina



2.2.11. **Aclaramiento de creatinina** (Figura 29). Se produce un aumento no significativo en el grupo microalbuminuria positiva. En los grupos con microalbuminuria negativa se produce una disminución que es significativa sólo en el grupo microalbuminuria negativa- tratamiento ( $p < 0,039$ ).

Figura 29. Aclaramiento de Creatinina basal y final





### 2.3. CORRELACIONES ENTRE LOS DISTINTAS VARIABLES

Se ha realizado un análisis univariable entre los valores de microalbuminuria y NAG respecto a las demás variables.

En el grupo microalbuminuria positiva (Tabla 17) se observa que los cambios en la microalbuminuria se vieron influenciados de forma significativa por los cambios en la TAd. Cuando esto se representa gráficamente se observa una gran dispersión en los valores de las variables (figura 30).

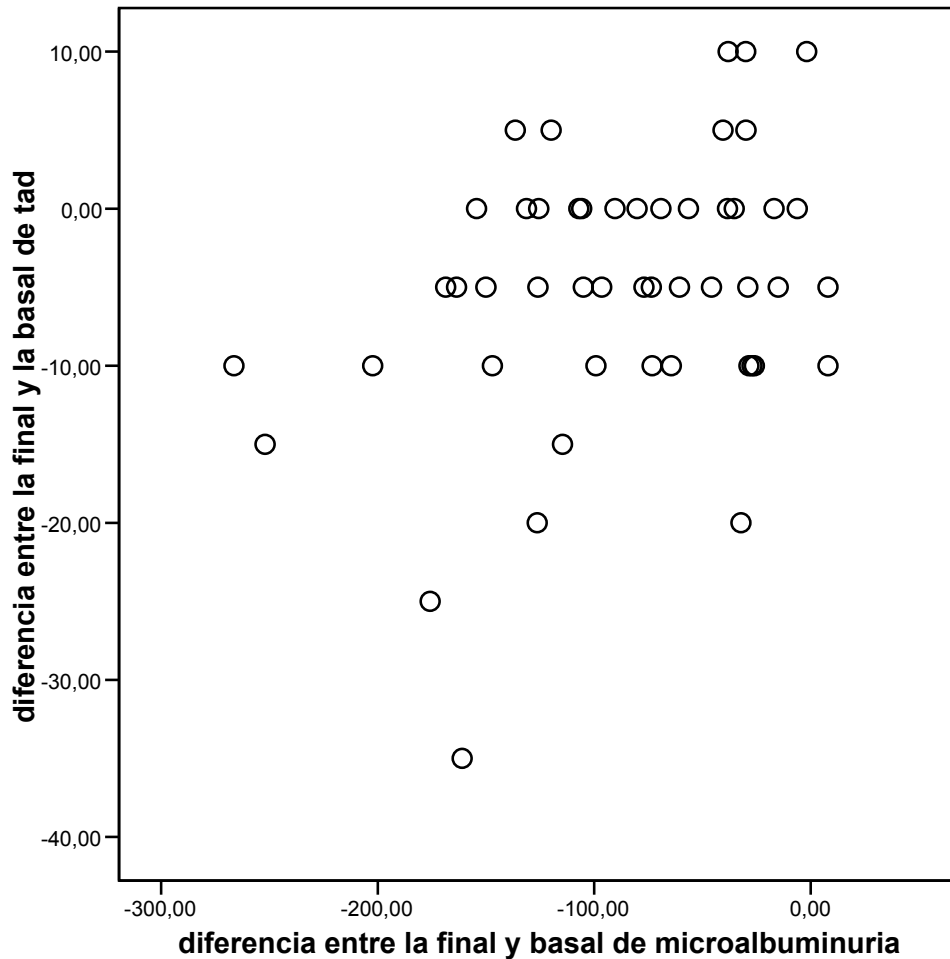
No se observan influencias de las demás variables en los cambios de NAG ni microalbuminuria ni entre ellas.

**Tabla 17. Grupo microalbuminuria positiva.** Correlación entre los cambios de la microalbuminuria y NAG con las demás variables

Variables*	Microalbuminuria* (p)	NAG* (p)
TA sistólica	<0,064	<0,399
TA diastólica	<b>&lt;0,012</b>	<0,565
HbA1c	<0,536	<0,304
Creatinina	<0,164	<0,783
Aclaramiento creatinina	<0,181	<0,273
NAG	<0,768	

\* Diferencia entre los valores basales y finales

Figura 30. Correlación entre los cambios de microalbuminuria y TAD (microalbuminuria positiva)



En los dos grupos con microalbuminuria negativa no se observó correlación entre la microalbuminuria y las demás variables. Sí existía una correlación significativa ( $p < 0,025$ ) entre los cambios en la HbA1c y la NAG en el grupo microalbuminuria negativa-TT, con una gran tendencia a la dispersión cuando se representan los valores gráficamente (figura 31).



## **DISCUSION**

---

La insuficiencia renal por nefropatía es la principal causa de muerte en los pacientes diabéticos<sup>32,309</sup>. Sobre todo en pacientes con DM tipo 1, se ha establecido una estrecha relación entre el tiempo de duración de la enfermedad metabólica y las manifestaciones clínicas de la nefropatía diabética<sup>310</sup>. Se estima que hasta el 50% de los pacientes desarrollarán la enfermedad en el transcurso de 10 a 30 años<sup>311</sup>. La diabetes se ha convertido en la causa más frecuente de ERT, así en EEUU entre 1995 y 2005 el número de pacientes con diabetes como causa de ERT ha crecido aproximadamente un 60%<sup>312</sup>. El 44,57% de los pacientes que iniciaron diálisis en 2005 eran diabéticos, siendo el coste del tratamiento un 25% mayor que el de los pacientes en diálisis por causa no diabética<sup>312</sup>.

La prevalencia de DM en España varía entre los múltiples estudios publicados, ello puede atribuirse en buena medida a la distinta edad de las personas estudiadas y a los diferentes criterios diagnósticos utilizados<sup>313</sup>. En Andalucía el estudio DRECA<sup>314</sup> (realizado en niños y adultos entre 5-59 años, aplicando los criterios diagnósticos de OMS de 1985), encontró una prevalencia del 4,8%, cercana a la informada en la Encuesta Nacional de Salud de 2003, en la que el 5% de los sujetos comunicó haber sido diagnosticado de diabetes<sup>315</sup>; sin embargo, estudios más recientes (realizados en personas entre 18-88 años aplicando criterios de la OMS de 1999) informan una prevalencia del 14,8%<sup>316</sup>. Los distintos estudios realizados en España indican un importante incremento en la prevalencia de DM en los últimos años, y se puede estimar actualmente en un 10-15%<sup>317</sup>, siendo el control de los enfermos diabéticos aún deficiente<sup>318</sup>, además de que el control de la HTA y factores de riesgo cardiovasculares es peor en los diabéticos que en los no diabéticos<sup>319</sup>.

---

El aumento de la prevalencia de diabetes, junto con el control deficiente de la misma y de otros factores de comorbilidad (HTA), contribuyen al aumento en la prevalencia de ND.

La prevalencia de pacientes con ND en España se estima en 900.000 a 1.500.000<sup>320</sup>. La prevalencia de pacientes diabéticos con IRT en tratamiento sustitutivo ha aumentado en las últimas décadas, pasando de 74 pacientes/10<sup>6</sup> habitantes en 1984 a 185 pacientes/10<sup>6</sup> habitantes en 2003<sup>321</sup>, siendo la supervivencia del 20% en los diabéticos dializados frente al 30% de los no diabéticos<sup>321</sup>.

Aunque un porcentaje de pacientes diabéticos (especialmente tipo 2 en los que llega a ser del 23%) con IR son normoalbuminúricos<sup>322</sup>, es la presencia repetida de microalbuminuria el parámetro utilizado para etiquetar a los pacientes de nefropatía establecida y que corresponde al Grado III de la clasificación de Mogensen<sup>105</sup>. En los últimos años se habla de un nuevo concepto: “albuminuria de bajo grado” o por debajo del umbral de microalbuminuria<sup>323</sup>. Se ha observado que sujetos **no hipertensos y no diabéticos** con niveles de microalbuminuria considerados normales en la actualidad (<30mg/gr. de creatinina), presentan un aumento de tres veces el riesgo de eventos cardiovasculares y muerte<sup>323</sup>, este aumento del riesgo se observa en hombres con excreción de albúmina  $\geq 3,9$ mg/gr creatinina y  $\geq 7,5$  mg/gr. creatinina en mujeres. Estos hallazgos sugieren que el umbral actual de la excreción urinaria de albúmina probablemente sea más alto de lo aconsejado y sea un reto el llevar los valores considerados como normoalbuminuria por debajo de 30 mg/gr. de creatinina.

Desde que acontecen las primeras alteraciones funcionales hasta que aparece microalbuminuria transcurre un periodo de tiempo sin que aparezcan manifestaciones clínicas (periodo de nefropatía incipiente). Desde hace muchos años los investigadores

---

tratan de encontrar algún hallazgo clínico o bioquímico que sirva para detectar lo más precozmente este periodo silente de la ND, que permitiera iniciar un tratamiento más precoz, de forma que prevenir o retardar la aparición de microalbuminuria es el objetivo principal del tratamiento para la renoprotección<sup>133,390</sup> y posiblemente para la cardioprotección<sup>324</sup>, ya que la presencia de microalbuminuria en pacientes diabéticos aumenta tres veces el riesgo de muerte por enfermedad cardiovascular comparados con los normoalbuminúricos<sup>325</sup>.

Cuando existe microalbuminuria es porque se ha alterado de forma permanente la membrana basal glomerular, aumentando el tamaño de sus poros. Para que este hecho se produzca han ocurrido anteriormente en el glomérulo una serie de cambios, primero funcionales, sobre todo el aumento de la presión capilar glomerular y posteriormente estructurales como la pérdida de la selectividad de carga a nivel de la membrana basal<sup>326</sup> que facilita que progrese la lesión glomerular.

La pérdida de la selectividad de carga de la membrana basal glomerular se debe a que existe una disminución de los glucosaminoglicanos (GAG), unos de los componentes fundamentales de esta<sup>327</sup>. Como consecuencia los GAG eliminados por la orina están aumentados<sup>328</sup>. En la degradación de los GAG intervienen de forma fundamental dos enzimas lisosómicos: N-acetil- $\beta$ -glucosaminidasa y  $\beta$ -glucuronidasa.

Resultados de medidas indirectas de la carga aniónica de la membrana basal glomerular, tal como la carga aniónica de los hematíes, están en concordancia con los resultados de estudios que muestran que las cargas negativas de la membrana de los hematíes están disminuidas y se correlacionan negativamente con la excreción urinaria de albúmina en pacientes con diabetes. En los pacientes diabéticos que toman losartán las cargas aniónicas de los hematíes se incrementaron tras el tratamiento con dicho

---

fármaco. Relacionado con esto, los GAG juegan un importante papel en la permeabilidad de la membrana basal glomerular. El incremento de la pérdida de GAG de la membrana basal se ha postulado que reduce la selectividad de la carga glomerular contribuyendo a la pérdida urinaria de albúmina<sup>329</sup>. Así en el estudio de Deyneli<sup>330</sup> se encuentra un incremento en la excreción urinaria de GAG en pacientes diabéticos, al igual que una reducción de las cargas negativas de los hematíes, con lo que ambos hechos pueden relacionarse. Estos resultados soportan la hipótesis que arguye que la pérdida del contenido aniónico de la membrana basal glomerular llevaría a la albuminuria en la diabetes, siendo la pérdida de los GAG la causa de la disminuida carga selectiva en los pacientes diabéticos<sup>331</sup>.

El beneficio del efecto de IECA y ARA II sobre la carga selectiva podría ser parcialmente relacionado con la disminución de la pérdida de los GAG de la membrana basal glomerular.

Otros componentes proteicos de la matriz extracelular como el colágeno tipo IV y la fibronectina se ven afectados por la hiperglucemia, habiéndose comunicado acumulación de ellos en el espacio extracelular y en la membrana basal glomerular de enfermos diabéticos. La eliminación urinaria de estas dos sustancias está incrementada en los pacientes diabéticos y ha sido reducida en los pacientes tratados con losartán pero sin alcanzar significación estadística<sup>330</sup>.

La administración de sulodexido, GAG oral a diabéticos tipo 1 con ND con albuminuria consigue mejorar la función vascular renal, disminuir la albuminuria y la excreción de NAG en orina, siendo el efecto en ésta última más importante en los pacientes que tenían cifras más elevadas de NAG en orina<sup>332</sup>. Este fármaco restauraría la permeabilidad glomerular y la producción de matriz en las células mesangiales, esto



---

último se lograría mediante una regulación a la baja de la expresión de genes del TGF- $\beta$  en las células tubulares y por ello los GAG pueden interferir favorablemente en el proceso de endocitosis a nivel del túbulo proximal. Este hecho reforzaría aún más el efecto positivo de los GAG y por tanto su existencia, a nivel de la membrana basal influiría en la prevención de la albuminuria en la ND.

La Angiotensina II actúa a través de dos grandes subtipos de receptores: los AT1 y los AT2. Los receptores AT1 participan en la mayor parte de las acciones fisiológicas de la Angiotensina II y contribuyen al daño tisular en enfermedades renales y cardiovasculares. Estos receptores activan señales intracelulares comunes a las citoquinas, como la movilización del calcio intracelular y la activación de proteincinasas, y la activación de factores de transcripción como NF- $\kappa$ B, AP-1 y Smad<sup>333</sup>. Los receptores AT2 están implicados en la inhibición del crecimiento celular, la vasodilatación y el control de la natriuresis, entre otras funciones<sup>334</sup>. La estimulación de estos receptores induce la liberación de CMPC y óxido nítrico.

La Angiotensina II regula el crecimiento celular e induce proliferación, hipertrofia o apoptosis dependiendo del balance intracelular entre los factores de crecimiento y el tipo celular sobre el que actúen. A través de PDFG (platelet-derived growth factor) y bFGF (basic fibroblast growth factor) induce proliferación<sup>335</sup>. La Angiotensina II también estimula la liberación de TGF- $\beta$  implicado en la hipertrofia y fibrosis de la matriz extracelular<sup>336</sup>. Se ha descrito otro factor profibrótico mediado por la Angiotensina II, que se expresa en respuesta al TGF- $\beta$ , el CTGF (connective tissue growth factor)<sup>337</sup>. En pacientes con HTA y DM tipo 1, losartán reduce la eliminación urinaria de CTGF<sup>338</sup>.

---

La Angiotensina II también está involucrada en la respuesta inflamatoria del riñón, pues induce la presencia de células inflamatorias y aumenta la expresión de factores proinflamatorios, como MPC-1 (monocyte chemoattractan protein-1), IL-6 y TNF- $\alpha$  (tumor necrosis factor-  $\alpha$ ) y activa el factor NF- $\kappa$ B<sup>339,340</sup>.

En pacientes con diabetes y enfermedad renal, la disminución de la TA y de los niveles de albúmina urinaria reducen el riesgo de ERT, IAM, fallo cardiaco y AVC<sup>341</sup>. Los IECA o ARA II parecen ser los agentes antihipertensivos más eficaces en pacientes diabéticos con microalbuminuria para disminuir el riesgo de desarrollo de proteinuria clínica y de la proporción de evolución a enfermedad renal terminal, independientemente de su efecto hipotensor<sup>9,17,76,80</sup>, sin que se observen diferencias entre ambos grupos de fármacos en el efecto renoprotector<sup>163,164,165,166</sup>.

Aunque hasta hace poco tiempo existía una diferencia significativa en la disminución de la microalbuminuria a favor de los inhibidores del SRA frente a antagonistas del calcio<sup>342</sup>, trabajos más recientes con los nuevos antagonistas del calcio no dihidropiridínicos (manidipino) observan que tienen un efecto favorable sobre la hemodinámica glomerular semejante a los ARA II y los IECA, con un mayor potencial nefroprotector y una mejor tolerancia<sup>183</sup>.

La acción de los ARA II, además del efecto hipotensor, puede ser secundaria a varios mecanismos, hemodinámicos y no hemodinámicos: 1) dilatación preferente de las arteriolas eferentes que reducen la presión intraglomerular<sup>343</sup> y llevan a una disminución de la proteinuria que es el factor más influyente en la lesión tubular<sup>344</sup>, 2) protección contra la hipoxia intrarrenal por la restauración de la vasodilatación renal mediada por óxido nítrico<sup>345</sup>, 3) antagonizando los efectos no hemodinámicos de la angiotensina II, principalmente la reducción local de factores de crecimiento, como el

---

TGF- $\beta$ 1 que es responsable de promover la fibrosis renal<sup>346</sup>, o disminuyendo la expresión de factores proinflamatorios.

Otro ARA II, como el Telmisartán redujo las concentraciones plasmáticas de proteína C reactiva y LDL oxidasas en paciente con DM tipo 2 sin enfermedad coronaria<sup>347</sup>. Por otra parte, el Olmesartán redujo las concentraciones plasmáticas de proteína C reactiva, MCP-1, IL-6 y TNF- $\alpha$  en paciente hipertensos que presentaban basalmente marcadores de inflamación elevados<sup>348</sup>.

Los IECA y ARA II han demostrado en distintos estudios que son efectivos en la prevención de eventos cardiovasculares en pacientes hipertensos, sin que ello se justifique por el control de la TA. Así la adición de valsartán al tratamiento convencional en pacientes con hipertensión y otra enfermedad cardiovascular disminuye los eventos cardiovasculares<sup>349</sup>. En el estudio PROGRESS<sup>350</sup> un IECA (perindopril) y en el estudio MOSES<sup>351</sup> un ARA II reducen el riesgo de recidiva después de un AVC

Además de los efectos señalados de los IECA y ARA II, en el tratamiento de la hipertensión de los pacientes diabéticos, presentan un perfil más favorable que otros fármacos antihipertensivos, como los diuréticos o betabloqueantes, que pueden agravar la diabetes<sup>352</sup>.

Hasta hace relativamente poco tiempo no se daba excesiva importancia a la alteración de la función tubular renal, especialmente proximal, de los pacientes diabéticos, aunque diversas publicaciones han enfatizado la posibilidad de que el daño tubular esté implicado tanto en la aparición de la hiperfiltración glomerular como en la progresión de la propia nefropatía<sup>353</sup>.

En la elaboración del protocolo de nuestro estudio se tuvieron en cuenta los trabajos aparecidos sobre la dosis óptima de losartán para la renoprotección y el tiempo

---

de aparición de dicho efecto desde el inicio del tratamiento. En el estudio de Andersen et al<sup>354</sup> en el que se comparan distintas dosis de losartán, se encuentra que la dosis óptima para renoprotección y reducción de la TA es 100 mg/día. En cuanto al tiempo de aparición del efecto antiproteinúrico y antihipertensivo se consideraba que era de 3 semanas para losartán<sup>355</sup>. Sin embargo en un estudio posterior diseñado para valorar el inicio del efecto antiproteinúrico y descenso de la TA<sup>149</sup> en pacientes tratados con losartán, ambos aparecieron a los 7 días de iniciar el tratamiento sin reducciones adicionales durante el periodo de seguimiento de 28 días.

En un estudio realizado en pacientes con glomerulonefritis primaria, diseñado para valorar el efecto de dosis bajas de losartán y enalapril, se encuentra que dosis de 25 mgr de losartán y 10 mgr de enalapril son capaces de disminuir la proteinuria sin modificar el nivel de TA, pero no modifican los niveles de NAG<sup>356</sup>. Sin embargo, losartán a dosis de 50 mg disminuye significativamente la proteinuria y la NAG, por lo que los autores consideran que la dosis mínima de losartán para disminuir los procesos inflamatorios del intersticio que influirían en el daño tubular serían 50 mg<sup>356</sup>.

Recientemente se han publicado descensos significativos en la microalbuminuria en pacientes con DM tipo 2 tratados con altas dosis de valsartán en comparación con las dosis convencionales, sin aumento de efectos secundarios<sup>357</sup>. También en modelos animales, se ha demostrado que altas dosis de enalapril pueden inducir la regresión de cambios inflamatorios del intersticio<sup>358</sup>. Sin embargo no se ha encontrado aumento del efecto renoprotector a dosis de 150 mgr/día de losartán comparadas con la dosis habitual de 100 mg/día

---

## 1. ESTUDIO DESCRIPTIVO

### 1.1 Características clínicas y demográficas

En nuestro estudio no había diferencias significativas entre los grupos en relación a la **edad** (64,5-67 años), siendo similar a la de otros estudios, así la edad media de los pacientes del estudio RENAAL era de 60 años<sup>17</sup> o de 61 en un estudio reciente realizado en nuestro país<sup>359</sup>.

Respecto a la **distribución por sexos**, el porcentaje de hombres era mayor que el de mujeres en los tres grupos de estudio, siendo similar al comunicado en otros trabajos<sup>9,17,76,359</sup>

El **IMC** era similar entre el grupo control y el grupo de pacientes diabéticos, siendo comparable a la de otras publicaciones, oscilando en todos ellos entre 29-30 (Kg/m<sup>2</sup>)<sup>9,17,76,359</sup>

Con respecto al **tiempo de evolución de la diabetes**, también era similar entre los grupos de estudio y otros trabajos publicados<sup>9,17,76,186</sup>.

El 23% de los sujetos del grupo control y el 21% de los pacientes eran **fumadores activos**, porcentaje similar al recogido en otros trabajos, como el de Parking et al en el que había entre el 16-21% de fumadores<sup>76</sup>. Este porcentaje se considera elevado teniendo en cuenta la clara relación entre el hábito tabáquico y la presencia<sup>29</sup> y progresión de la ND<sup>32,101,102</sup>, o el aumento de riesgo cardiovascular en diabéticos fumadores respecto a los no fumadores<sup>359</sup>. Así el tabaquismo lo padecían el 53% de los pacientes con nefropatía inicial comparado con el 32% de la población diabética general de Cataluña<sup>29</sup> y la prevalencia de enfermedad cerebrovascular era de 43% y 22% respectivamente<sup>359</sup>.

---

En el estudio de Flores et al<sup>360</sup> realizado en pacientes con DM tipo 1 se observa un incremento del estrés oxidativo con un aumento de TGF- $\beta$ 1 en plasma y en orina, en los pacientes fumadores respecto a los no fumadores; con una disminución significativa de dichos valores en los pacientes que dejan de fumar. Como se discutió anteriormente el TGF- $\beta$ 1 está implicado en el desarrollo del daño renal en la ND. El papel del estrés oxidativo se ve reforzado por estudios experimentales en ratas diabéticas en las que el tratamiento con melatonina producía un descenso de los niveles de NAG en orina, probablemente por la disminución del estrés oxidativo secundario al efecto antioxidante de la melatonina<sup>361</sup>.

**La prevalencia de HTA** en nuestros pacientes es similar a la descrita en otros trabajos<sup>362</sup>, así en los pacientes normoalbuminúricos la prevalencia de HTA era del 60%, aumentando al 83,67% en pacientes con microalbuminuria positiva.

Solo el 69,23% del grupo microalbuminuria negativa y el 78% del grupo microalbuminuria positiva seguían **tratamiento antihipertensivo**, cifras similares a las recogidas en otros estudios realizados en nuestro país, en los que el 77% de los pacientes con nefropatía era hipertenso y de ellos solo el 79% seguía tratamiento<sup>359</sup>. Por el contrario existen otros trabajos en que el porcentaje de pacientes hipertensos en tratamiento es mucho mas elevado llegando a ser del 93,5%<sup>17</sup>.

De los pacientes que seguían tratamiento, solo el 14,81% del grupo microalbuminuria negativa y el 12,5% del grupo microalbuminuria positiva, tenían cifras de TA dentro de los límites recomendados (<130/85 mmHg)<sup>145</sup>. Estos resultados son similares a los encontrados en pacientes de estudios realizados en nuestro país<sup>7,363,364</sup>. Así, en el estudio DIAPASON<sup>364</sup> realizado en centros de salud de toda la geografía española, en pacientes diabéticos, solo el 13,5% tenían cifras de TA <130/85

---

mmHg. En el estudio de Pérez-Malaver et al<sup>359</sup> comentado anteriormente, de los pacientes que seguían tratamiento el 21% estaban controlados, aunque hay que reseñar que los pacientes que participaron en este estudio, ya habían participado en otros estudios y podría haber condicionado una mayor concienciación en la toma de la medicación para el control de la hipertensión.

**Podríamos resumir que las características clínicas y demográficas de los pacientes objeto de nuestro estudio son similares a los estudios realizados en pacientes diabéticos tipo 2 dentro y fuera de nuestro país.**

### **1.2 Determinaciones bioquímicas**

Estudiamos los niveles de **ácido úrico** en plasma que estaban disminuidos de forma significativa en los pacientes con microalbuminuria positiva en comparación a los que tenían microalbuminuria negativa; esto podría deberse a un incremento de su aclaramiento renal descrito en pacientes con DM<sup>365</sup>. En algunos estudios el aumento de la uricosuria se ha relacionado con un aumento de la tasa de filtración glomerular<sup>366</sup> o con el nivel de glucosuria<sup>367</sup>; mientras que en otros no se ha encontrado relación entre la excreción fraccional de ácido úrico ni con la glucosuria<sup>368</sup> ni con la HbA1c o con la microalbuminuria<sup>369</sup>. También ha sido descrita una reducción de los niveles de ácido úrico en suero en pacientes tratados con antagonistas de la A II<sup>370</sup>.

Aunque en los trabajos más importantes publicados sobre el tratamiento de la ND en DM tipo 2<sup>9,17,76</sup> no recogen datos sobre los valores del ácido úrico en sangre o sus variaciones con el tratamiento renoprotector, nosotros lo incluimos en el protocolo dado que el aumento de ácido úrico en plasma se correlaciona con el de aumento de creatinina plasmática, considerándose un marcador de disfunción renal<sup>371</sup>, y el

---

seguimiento de los niveles de ácido úrico en plasma se ha utilizado como marcador de posibles eventos cardiovasculares en pacientes hipertensos<sup>372,373</sup>, reflejando una disminución del flujo sanguíneo renal y una nefrosclerosis hipertensiva precoz<sup>374</sup>; también se considera un marcador de la reducción de la funcionalidad del trasplante renal<sup>375</sup>.

**La urea y la creatinina sérica** estaban en rango normal en el grupo microalbuminuria negativa y elevadas significativamente en el grupo microalbuminuria positiva, lo que podría justificarse porque en estos pacientes existiría cierto grado de disfunción renal, aunque como es conocido ambos parámetros están sujetos a múltiples factores que limitan su utilización. Así el nivel de creatinina en sangre se ve influido por la masa muscular, la edad y sexo y modificaciones en la secreción y reabsorción tubulares por lo que resulta poco sensible a modificaciones iniciales del filtrado glomerular<sup>376</sup>. Además hay que tener en cuenta las interferencias producidas por los denominados “cromógenos”<sup>377</sup>, sustancias como la glucosa, cuerpos cetónicos, o proteínas plasmáticas que pueden producir una falsa elevación de la creatinina plasmática de hasta un 20%.

El nivel de creatinina sérica en el grupo microalbuminuria positiva era similar al de otros estudios realizados en pacientes diabéticos con microalbuminuria<sup>76,158</sup>.

El **aclaramiento de creatinina** aunque en los tres grupos estaba en valores por debajo del rango considerado normal, era significativamente más bajo en el grupo microalbuminuria positiva respecto a los dos grupos de microalbuminuria negativa, aunque estos resultados presenten restricciones en su interpretación.

Dadas las limitaciones existentes para el cálculo del filtrado glomerular (FG) mediante la determinación de métodos isotópicos se han desarrollado a partir de grandes



---

estudios epidemiológicos todo un conjunto de ecuaciones para estimar el FG a partir de la concentración de creatinina sérica y de algunas variables demográficas y antropométricas (edad, sexo, peso, talla y etnia) y que no exigen la recogida de orina total de 24h<sup>378</sup>. Todos los métodos presentan limitaciones importantes como la sobreestimación del FG entre un 10-20% respecto al obtenido mediante el aclaramiento de inulina, en individuos con función renal normal, debido a la secreción de creatinina en el túbulo proximal. Dicha secreción es además variable entre individuos y para un mismo individuo y aumenta a medida que disminuye el FG<sup>379</sup>. Las ecuaciones más conocidas y validadas en los distintos grupos de población son la ecuación de Cockcroft-Gault<sup>380</sup> y la ecuación del estudio MDRD<sup>306</sup> (Modification of Diet in Renal Disease). Aunque el comportamiento de estas ecuaciones es distinto en función del FG, se considera que para cualquier valor del FG, MDRD es más precisa que Cockcroft-Gault, por lo que es recomendada por la mayoría de las sociedades científicas<sup>378</sup>, y es por lo que nosotros la hemos utilizado en nuestro estudio (versión simplificada del MDRD<sup>305</sup>), asumiendo que sujetos sanos o en pacientes con ND incipiente que cursan con hiperfiltración, las ecuaciones (tanto el Cockcroft-Gault como el MDRD) infraestiman el valor real del filtrado glomerular<sup>378,376</sup>.

Respecto a la **HbA1c**, el grupo microalbuminuria negativa-TT tenía niveles de HbA1c significativamente más bajos que los otros dos grupos. En el grupo de microalbuminuria positiva, los niveles de HbA1c de nuestros pacientes eran similares (8,72%) a los de otros estudios realizados en pacientes con microalbuminuria positiva<sup>9,17,76,359</sup>.

**El nivel de microalbuminuria** fue el determinante para distribuir los pacientes en los grupos de estudio, por lo que existía una diferencia significativa entre el grupo

---

microalbuminuria positiva y negativa. El nivel de microalbuminuria en el grupo con microalbuminuria positiva era similar al comunicado en otros trabajos<sup>76,158</sup>.

En nuestro estudio todos los pacientes diabéticos presentaban valores de **NAG urinaria** significativamente más elevados que el grupo control, independientemente de la microalbuminuria, aunque los niveles de NAG eran significativamente más elevados en el grupo microalbuminuria positiva, tal como ha sido descrito en otros trabajos<sup>381,382</sup>.

La NAG es una enzima de la clase hidrolasa que se encuentra en los riñones, predominantemente en los lisosomas de las células del túbulo proximal, participando en la degradación de mucopolisacáridos y glucoproteínas<sup>202,211</sup>. Aunque hay varias isoenzimas de NAG que se distribuyen en los tejidos en proporciones diferentes<sup>214</sup>, la medida de NAG total se considera un método suficiente para evaluar la lesión tubular<sup>383</sup>.

En los estados de disfunción tisular proximal renal se produce un incremento de la concentración de NAG en la orina, incluso en fases incipientes y asintomáticas<sup>384</sup>. Así se considera que la detección de los cambios en la excreción urinaria de NAG es útil como marcador de daño renal en los estados de HTA durante el embarazo<sup>225</sup>, especialmente si existe preeclampsia<sup>225,226,227,228</sup>, administración de fármacos nefrotóxicos (aminoglucósidos<sup>248,249</sup>, ciclosporina<sup>253</sup>, metrotexate<sup>254,255</sup>, antiinflamatorios no esteroideos<sup>251</sup>, metales pesados<sup>260</sup>, etc.) o en casos de reflujo vesicoureteral sin infección<sup>241</sup>. Desde hace mucho tiempo se conoce que la excreción urinaria del NAG se altera más precozmente que otros indicadores bioquímicos de lesión renal en pacientes con HTA<sup>274,275</sup>.

---

La disminución de NAG en orina se ha utilizado como marcador de respuesta a tratamiento en la glomerulonefritis<sup>237</sup>, HTA<sup>283</sup>, pielonefritis crónica<sup>242</sup>, o durante el seguimiento de la nefrotoxicidad durante el tratamiento con aminoglicosidos<sup>248</sup>.

En la necrosis tubular aguda y en el rechazo agudo postrasplante se produce un aumento de NAG<sup>295,296</sup> de forma muy precoz<sup>297</sup>. Aunque el tratamiento con ciclosporina puede elevar la NAG, en el caso de crisis de rechazo agudo, la elevación de NAG es mucho más importante y precoz<sup>299</sup>. Por ello el NAG es considerado como el indicador más sensible del daño tubular renal<sup>244</sup> ante mínimos episodios de hipoxia.

El aumento de NAG en orina en pacientes diabéticos normoalbuminúricos ha sido descrita por otros autores<sup>385</sup> y parece indicar que la disfunción tubular puede estar presente en estadios precoces de la ND antes de que exista alguna evidencia clínica de nefropatía, considerando a la NAG como un marcador precoz de daño tubular renal en DM tipo 2<sup>386,387</sup> y tipo 1<sup>388</sup>. Esta alteración en estadio precoz de la función tubular probablemente este relacionada con factores genéticos y mal control metabólico<sup>388</sup>.

En pacientes con DM tipo 2 normoalbuminúricos, junto al aumento de NAG se ha observado un aumento de los niveles en suero de Cistatina C, mientras que en los microalbuminúricos existiría además una elevación de la lacticodeshidrogenasa y la fosfatasa alcalina en orina, siendo más sensibles que la creatinina en plasma para detectar disfunción glomerular y tubular en pacientes diabéticos<sup>387</sup>. También se ha comunicado un aumento de la captasina B que es paralelo al de la NAG desde la normoalbuminuria a la microalbuminuria y a la macroalbuminuria<sup>381</sup> y proteína ligadora de retinol<sup>389</sup>.

Desde hace años, se ha descrito un aumento de NAG en pacientes diabéticos<sup>288,289,290</sup> encontrando algunos autores una correlación entre los niveles de

---

NAG y de HbA1c y de albuminuria<sup>291,292</sup>. Nosotros estudiamos este punto, sin encontrar relación entre los niveles de NAG y HbA1c, como ha sido publicado en estudios realizados también en pacientes con Diabetes tipo 2<sup>381</sup>; sin embargo si parece existir en DM tipo 1<sup>382,389</sup>. Tampoco hemos encontrado correlación entre NAG y microalbuminuria.

**En resumen, las variables bioquímicas globalmente consideradas tienen valores similares a los principales trabajos realizados en pacientes diabéticos tipo 2, destacando un aumento de la NAG urinaria en todos los pacientes diabéticos con una diferencia significativa entre el grupo microalbuminuria positiva y negativa**

## 2. ESTUDIO UNIVARIANTE

### 2.1 Estudio de los cambios de las variables a lo largo del estudio.

No se observan variaciones en el **IMC** al final del estudio, esto se explica por el corto periodo de seguimiento (2 meses), además de no haber tenido una actuación específica al respecto (dieta, ejercicio,..).

Al finalizar el estudio en los grupos microalbuminuria positiva y microalbuminuria negativa- TT se produce un descenso significativo de la **TAs** (<140mmHg), mientras que en el grupo microalbuminuria negativa- no TT también se produce un descenso aunque sin llegar a la significación estadística. Aunque se consigue un descenso importante de la **TAs** no llega estar en los niveles recomendados<sup>145</sup>. Sin embargo la media alcanzada en el grupo microalbuminuria positiva (137,5mmHg) y en de microalbuminuria negativa – TT (136,7 mmHg), sí es

---

inferior a lo conseguido en otros estudios prospectivos (Parking et al<sup>76</sup>, Brenner et al<sup>17</sup>, UKPDS<sup>390</sup>, HOT<sup>391</sup>, INSIGHT<sup>392</sup>, IDNT<sup>343</sup>), en los que los valores de TAs al finalizar dichos estudios estaban por encima de 140 mmHg, más de 10 mmHg por encima de lo deseado para obtener el máximo beneficio.

En los tres grupos de estudio se produjo un descenso de **TAd** significativo ( $\leq 76$  mmHg) con valores en todos ellos por debajo de los límites recomendados<sup>145</sup>.

Aunque está demostrado el beneficio del descenso de la TA en los pacientes diabéticos, el rango óptimo de tensión arterial es incierto<sup>32</sup>. En el estudio UKPDS<sup>393</sup> se puso de manifiesto que descensos de 10 mmHg de la TAs en pacientes diabéticos hipertensos se traducían en una importante reducción de las complicaciones tanto macro como microvasculares. En un reciente estudio multicéntrico<sup>343</sup>, cifras de TAs  $>149$  mmHg aumentan el riesgo en 2,2 veces de doblar la creatinina basal sérica o la incidencia de ERT. Sin embargo, en éste<sup>343</sup> y otros estudios<sup>394</sup> encuentran que cifras  $<120$  mmHg aumentan el riesgo de eventos cardiovasculares y muerte. Con la TAd ocurre algo similar, cuando la tensión arterial diastólica es de 70 a 84 mmHg no se acompaña de ningún evento cardiovascular, frente a cuando era  $\geq 85$  mmHg<sup>74</sup>. Sin embargo, si la TAd es  $<70$  mmHg, las proporciones de eventos cardiovasculares aumentan un 11 % para cada reducción adicional de 5 mmHg, con un aumento acompañante en la mortalidad<sup>391</sup>. Basándose en los resultados anteriores, se recomienda mantener una TA de 120-130/80 mmHg<sup>343</sup>, para conseguir los beneficios de la renoprotección sin aumento de eventos cardiovasculares.

No observamos cambios en los niveles de **urea** en ningún grupo, aunque este parámetro ya prácticamente no se utiliza como seguimiento de la función renal, por

---

estar influenciado por multitud de circunstancias, por lo que no podemos comparar con otros trabajos.

Tampoco hay cambios en los niveles de **ácido úrico** en ninguno de los tres grupos. Se ha comunicado una disminución de los niveles de ácido úrico en plasma tras el tratamiento con losartán a dosis bajas (25 mg/día) en pacientes con glomerulonefritis primaria, probablemente por un aumento de su excreción urinaria<sup>395</sup>, datos no comparables a los de nuestros pacientes a los que se ha administrado 100 mg/día de losartán.

Se produce una disminución significativa del nivel de **creatinina sérica** en el grupo microalbuminuria positiva, lo que sería reflejo de una mejora en la función renal, como ya ha sido publicado en otro estudio con losartán<sup>17</sup>, aunque no ha podido ser reproducido con valsartan<sup>158</sup>. En los grupos microalbuminuria negativa se observa un aumento no significativo.

Se observa un aumento no significativo del **aclaramiento de creatinina** en el grupo microalbuminuria positiva, mientras que en el grupo microalbuminuria negativa-TT hay un descenso significativo. El descenso del aclaramiento de creatinina ha sido descrito en otros estudios con Irbesartan<sup>76</sup> de una forma más pronunciada en los tres primeros meses de tratamiento, que se debería a un efecto hemodinámica funcional del tratamiento antihipertensivo y que sería reversible al suspender el tratamiento. Igualmente existe una caída mucho más lenta tras este periodo<sup>76</sup> que reflejaría el efecto beneficioso del tratamiento en la progresión de la nefropatía diabética<sup>396</sup>.

Encontramos una disminución significativa de la HbA1c en el grupo microalbuminuria positiva. En los otros dos grupos los cambios no son significativos. En la literatura revisada no hemos encontrado referencias a cambios en la HbA1c en

---

pacientes tratados con losartán; en estudios realizados con valsartán no aparecen diferencias tras el tratamiento<sup>158</sup>; sin embargo telmisartán se ha mostrado como un agonista parcial de los receptores PPAR- $\gamma$ <sup>397</sup>, igual que la rosiglitazona, produciendo un incremento de la sensibilidad del hígado y de los tejidos grasos a la insulina y la disminución de la glucemia postpandrial, así como la reducción de las concentraciones de insulina y ácidos grasos, sin inducir la ganancia de peso que aparece con los agonistas convencionales de estos receptores, como las glitazonas, sino que atenúa el incremento de peso y grasa inducidos por la dieta<sup>397</sup>. Este efecto no parece común al resto de ARA II<sup>398</sup>.

En todos los pacientes del grupo microalbuminuria positiva, salvo en dos, descendió el valor de la excreción urinaria de albúmina, llegando a niveles de normoalbuminuria en el 28% de los pacientes, datos coincidentes con los publicados en la literatura<sup>17</sup>. Hay que destacar que durante el tiempo de seguimiento ningún paciente alcanzó valores de macroalbuminuria.

En el grupo microalbuminuria negativa-TT se produjo un descenso no significativo de la excreción urinaria de albúmina y ningún paciente evolucionó a microalbuminuria positiva. Mientras que en el grupo microalbuminuria negativa-no TT hubo un aumento significativo de la microalbuminuria porque 3 pacientes (12 %) positivizaron su nivel de microalbuminuria. Aunque en nuestro estudio no era objetivo evaluar la respuesta al losartán de la albuminuria siguiendo el actual concepto de “albuminuria de bajo grado”<sup>323</sup>, nuestros resultados en la evolución de la excreción urinaria de albúmina en los pacientes con microalbuminuria considerada en la actualidad normal, con y sin tratamiento con losartán, irían en la línea de lo aconsejado en la actualidad de bajar el umbral de albuminuria para disminuir los eventos

---

cardiovasculares y la aparición de ND; si bien de nuestros resultados no podemos sacar ninguna conclusión y este punto debe explorarse mediante nuevos estudios con diseño que permita evaluarlo correctamente.

El papel del losartán y otros ARAII sobre el riñón en pacientes diabéticos y no diabéticos ha sido ampliamente estudiado. El mecanismo renoprotector de los bloqueadores del SRA es complejo, y no se explica solo por la disminución de la TA<sup>17</sup>. Se ha descrito un aumento de los niveles de TGF- $\beta$ 1 en el glomérulo y en el tubulointersticio en diabetes experimental y humana<sup>399,400</sup>, considerando que esta citoquina se encuentra implicada en el desarrollo de la glomeruloesclerosis diabética. Por ello el bloqueo del TGF- $\beta$ 1 es considerado una estrategia en el tratamiento de la ND. Diversos trabajos han comprobado que el tratamiento con losartán disminuye los niveles séricos de TGF- $\beta$ 1. En pacientes con trasplante renal y nefropatía el tratamiento con losartán durante 8 semanas disminuye los niveles en plasma de TGF- $\beta$ 1<sup>401,402</sup>. Estos resultados son similares a los aparecidos recientemente, en los que el tratamiento con losartán disminuía los niveles de TGF- $\beta$ 1 frente a carvedilol. En pacientes con DM tipo 2 y microalbuminuria el tratamiento con losartán disminuye las niveles plasmáticos de TGF- $\beta$ 1 y albúmina, en pacientes que tenían niveles basales altos de TGF- $\beta$ 1<sup>403</sup>; sin embargo, y sin que existan diferencias en el control de la TA entre los dos grupos, en los pacientes con niveles normales de TGF- $\beta$ 1 no disminuyeron ni los niveles de TGF- $\beta$ 1 ni de albúmina, por lo que los autores creen que la determinación de TGF- $\beta$ 1 en plasma puede definir aquellos pacientes que mas se beneficiarían del bloqueo del SRA<sup>403</sup>.

Centrándonos en la **NAG**, en nuestro trabajo encontramos un descenso significativo de la actividad de NAG en el **grupo microalbuminuria positiva**, éste dato



---

está en consonancia con lo previamente publicado en otras nefropatías no diabéticas tratadas con losartán, así el tratamiento con losartán a dosis de 50 mg/día produce una disminución de NAG en pacientes con glomerulonefritis primaria<sup>356</sup>, sin embargo dosis menores (25 mgr/día) aunque producen disminución de la microalbuminuria no modifican la NAG<sup>356,395</sup>. En pacientes trasplantados renales normotensos<sup>404</sup> e hipertensos<sup>402</sup> con microalbuminuria, la administración de 25 mg de losartán disminuye la microalbuminuria, la excreción de NAG y la creatinina sérica. De lo anteriormente mencionado podemos decir que la dosis efectiva de losartán para disminuir la NAG puede variar dependiendo de la etiología de la enfermedad renal.

Otros fármacos también han demostrado disminuir la NAG en ND con microalbuminuria tanto de forma experimental (asociación de candesartán y enalapril en ratas diabéticas<sup>405</sup>) como en pacientes con ND, como la asociación de perindropil + indapamina<sup>406</sup> o con pentoxifilina<sup>290</sup>.

Nuestros resultados en pacientes con microalbuminuria positiva y los comentados anteriormente, sugieren que losartán y otros fármacos, tendrían un efecto beneficioso sobre el daño tubulointersticial de la enfermedad renal diabética.

Los **niveles de NAG en el grupo microalbuminuria negativa-TT** descendieron aunque sin llegar a la significación, mientras que en el grupo **microalbuminuria negativa- no TT** no hubo cambios. Estos datos podrían reflejar, que en pacientes en estadios precoces de ND (microalbuminuria negativa), la presencia de niveles elevados de NAG en orina como marcador de disfunción tubular, disminuiría tras el tratamiento con losartán, reflejando un efecto positivo sobre dicho daño renal incipiente. Aunque esta hipótesis no podemos afirmarla, ya que nuestros resultados no llegan a la significación estadística probablemente por el pequeño tamaño de la muestra,

---

si abre un camino para futuros estudios que confirmen esta hipótesis en pacientes con ND y microalbuminuria negativa.

### **2.2 correlación entre las distintas variables**

En el grupo microalbuminuria positiva los cambios en la microalbuminuria se vieron influenciados por los cambios en la TAd, el resto de las variables (NAG, TAs, HbA1c, creatinina) no influyeron.

En el grupo microalbuminuria negativa- TT los cambios en la NAG si se vieron influenciados significativamente por los cambios en la HbA1c.

### **3. ESTUDIO MULTIVARIANTE**

En el estudio multivariable se analizan las influencias de todas las variables en los cambios de microalbuminuria y NAG.

No se observan influencia de ninguna variable sobre la microalbuminuria en los grupos de microalbuminuria positiva y negativa- no TT. Sin embargo en el grupo microalbuminuria negativa-TT existe una influencia significativa de los cambios de HbA1c sobre los cambios de la microalbuminuria, de forma que el aumento de una unidad de HbA1c conlleva un aumento de 2,87 mg de albúmina en orina. Esto esta en consonancia con estudios previos en diabéticos tipo 2 en los que se observa una reducción de la proteinuria asociada al control glucémico obtenido mediante dieta hipocalórica<sup>134</sup>, tratamiento intensivo con metformina<sup>135</sup>, así como con insulina<sup>136</sup>.

No encontramos ninguna relación entre los cambios de NAG y los cambios de las demás variables estudiadas en ninguno de los grupos de estudio. Estos hallazgos son concordantes con los encontrados en estudios recientes, en los que también se observa

---

un descenso de NAG independientemente de las variaciones de la TA y del control glucémico, tras el tratamiento con perindopril más indapamida a dosis bajas<sup>406</sup>.

**En resumen, en pacientes diabéticos tipo 2 el tratamiento con losartán a dosis de 100 mg/día produce un descenso de NAG que es significativo en los pacientes con microalbuminuria positiva y sin significación en los normoalbuminúricos, que no se justifica por los cambios en la microalbuminuria, TA o control glucémico.**

## **CONCLUSIONES**

1. Hay un aumento significativo de la excreción urinaria de la NAG en los pacientes diabéticos respecto a los controles sanos
2. La excreción urinaria de NAG está significativamente más elevada en los pacientes con microalbuminuria positiva que en los normoalbuminúricos
3. Cuando se inicia tratamiento con losartán en pacientes con microalbuminuria positiva se produce un descenso significativo de la microalbuminuria y de la excreción urinaria de NAG, sin que los cambios de cada una de ellas se vean influenciados significativamente en la otra
4. En los pacientes con microalbuminuria negativa y tratamiento se produce un descenso no significativo de la NAG, mientras que los niveles de ésta no varían a lo largo del estudio en los pacientes del grupo microalbuminuria negativa sin tratamiento con losartán
5. La determinación de la actividad urinaria de NAG podría utilizarse como marcador de afectación renal más precoz que la microalbuminuria en pacientes diabéticos tipo 2.

## **BIBLIOGRAFIA**

- 1 **Shaw J.E., Zimmet P.Z., McCarty D., Courten M.** Type 2 diabetes worldwide according to the new claprince signification and criteria. *Diabetes Care.* 2000;23(Supl 2):S5-S10.
- 2 **Tuomihlto J., Borch-Johnsen K., Molarius A., Frosén T., Rastenyte D., Santi C., et al.** Incidence of cardiovascular disease in type 1 (insulin-dependent) diabetic subjects with and without diabetic nephropaty in Finland. *Diabetología.*1998;41:784-790.
- 3 **Ojo A.O., Hanson J.A., Wife R.A., leichtman A.B., Agodoa L.Y.,Port F.K.** Long-term survival in renal transplant respipients wit graft function. *Kidney Int.* 2000;57:307-313.
- 4 **Serrano M., Herrera J.L., Escobar F.** DM y enfermedad cerebrovascular. *Av. Diabetol.* 1999;15(Supl 1):S25-S28.
- 5 **Luño J., Valderrabano F.** ¿Se puede evitar la progresión de la insuficiencia renal terminal en la nefropatia diabetica ?. *An. Med. Int.* 1998;15:567-571.
- 6 **Pérez R., Rodríguez P., Dall'Anesse C., Gómez F., Valderrábano F.** Preocupante incremento de la diabetes como causa de insuficiencia renal terminal. *Evaluación del tratamiento renal sustitutivo.* *An Med Int* 2001;18:171-180.
- 7 **Gómez F.J., Luño J., García S., Valderrabano F.** 1999. ¿Por qué es necesaria la remisión precoz a la consulta del nefrólogo de los pacientes con nefropatía diabética?. *Rev. Clin. Esp.* 1999;199:410-411.
- 8 **DCCT Research Group.** The effect on intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent . *N. Engl. J. Med.*1993;329: 977-986.
- 9 **Lewis EJ, Hunsicker LG, Clarke WR, Berl T, Pohl MA, Lewis JB et al.** Renoprotective effect of the angiotensin-receptor antagonist irbesartan in patients with nephropathy due to type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2001;345:851-860.
- 10 **Mogensen C.E.** How to protect the kidney in diabetic patients. *Diabetes.* 1997;46 (Suppl 2).; S104
- 11 **Remuzzi G.** Abnonnal protein traffic through the glomerular barrier induces proximal tubular cell dysfunction and causes renal injury. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 1995;4: 339-342.
- 12 **Ruoslahti E.** Proteoglycans in cell regulation. *I. Biol. Chem.* 1989;264: 1369- 1372.
- 13 **Gambaro G, Baggio B.** Growth factors and the kidney in diabetes. *Crit. Rev. Clin. Lab.*1998;34:1-24.
- 14 **Giugliano N., Cerillo A., Paclisso G.** Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care.* 1996;19:257-267.
- 15 **Rippin J.D., Patel A., Bain S.C** Genetics of diabetic nephropathy. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 2001;15:345-358.
- 16 **Parving H.H.** Renoprotection in diabetes : genetic and non-gentic risk factors and treatment. *Diabetología .* 1998;41:745-759.
- 17 **Brenner BM, Cooper ME, de Zeeuw D, Keane WF, Mitch WE, Parving HH et al.** Effects of losartan on renal and cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes and nephropathy. *N Engl J Med* 2001;345:861-869.
- 18 **United States Renal Data System: USRDS-2001** Annual Data Report: Atlas of End Stage Renal Disease in the United States. Bethesda, MD, National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, 2001.
- 19 **Laffel LMB, Krolewski AS.** Epidemiology and clinical impact of diabetes late complications in IDDM. En: Mogensen CE, Standl E, eds. *Diabetes forum series: prevention and treatment of diabetic late complications.* Berlin-New York: Walter de Gruyter. 1989;2: 13-27.
- 20 **Borch-Johnsen K, Kreiner S.** Proteinuria value as predictor of cardiovascular mortality in insulin-dependent . *Br. Med. J.* 1987; 294: 1561-1564.
- 21 **Krolewski AS, Warram JH, Rand LI et al.** Epidemiologic approach to the etiology of type I and its complications. *N. Engl. J. Med.* 1987;317: 1390-1392.
- 22 **Renal involvement in type 1 (IDDM) diabetes in Spain.** Estudio Diamante. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 1997;38:129-137.
- 23 **Viberti GC, Yip-Messent J, Morocutti A.** 1992. Diabetic nephropathy. Future avenue. *Diabetes Care.* 1992;15.1216-25.
- 24 **Klein R.** : Late complications oculopathy. En: De Groot LF . *Endocrinology Philadelphia.* W.B. Saunders Company. 1995; 1522-1535.
- 25 **Elbert AE, Paglione AM, Bragagnolo JC, Mainetti HA, Banavita CD, Ruiz M.** Urinay heparan sulphate is increased in normoalbuminuric diabetic patients. *Medicina( B Aires).* 2000;60:195-201.
- 26 **Arije A. Akinsola W, Lapido G.** Renal function in adult nigerian diabetics. *Trp. Georg. Med.* 1988;40: 334-337.

- 27 Nelson RG, Knowler WC, Pettit DJ et al. Diabetic kidney disease in Pima Indians. *Diabetes Care*. 1993;16: 335-341.
- 28 Esmatjes E, Castell C, Godoy A, Montaya E, Pou JM, Salinas I et al. Prevalencia de la nefropatia en la tipo I. *Med Clin* 1998;110:6-10.
- 29 Esmatjes E, Castell C, Gonzalez T, Tresserras R, Lloveras G and The Catalan Diabetic Nephropathy Study Group. Epidemiology of renal involvement in Type II diabetics (NIDDM) in Catalonia. *Diabetes Res Clin Pract* 1996;32:157-163.
- 30 Schaubel DE, Morrison HI, Desmeles M, Parssons DA, Fenton SS. End-stage renal disease in Canada: prevalence projections to 2005. *Can Med Ass J*. 1999;160:155-63
- 31 FitzSimmons SC, Agodoa L, Striker L, Conti F, Striker G. Kidney disease of : NIDDK initiatives for the comprehensive study of its natural history, pathogenesis and prevention. *Am J Kidney Dis*. 1989;13:7-10
- 32 Remuzzi G, Schieppati A, Ruggenti P. Nephropathy in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2002;346:1145-1151.
- 33 Stengel B, Billon S, Van Dijk PCW, et al. Trends in the incidencia of renal replacement therapy for end-stage renal disease in Europe, 1990-1999. *Nephrol Dial Transplant*. 2003;18:1824-33
- 34 Borch-Johnsen K, Andersen AR, Deckert T. The effect of proteinuria on relative mortality in type I. *Diabetologia* 1985;28: 590-596.
- 35 Knowles HCJr. Magnitude of the renal failure problem in diabetic patients. *Kidney Int*. 1974; 6: 2-7.
- 36 Ruggenti P, Schieppati A, Remuzzi G. Progression, remission, regression of chronic renal diseases. *Lancet*. 2001;357: 1601-8.
- 37 Lippert J, Ritz E, Schwarzbeck A, Schneider P. The rising tide of end-stage renal failure from diabetic nephropathy type II. An epidemiological analysis. *Nephrol Dial Transplant* 1995;10:462-467.
- 38 Fujita H., Narita T., Meguro H., Ishii Thayu O., Suzuki K., Ito S. Lack of association between the heparan sulphate proteoglycan gene polymorphism and diabetic nephropathy in Japonase NIDDM with proliferative diabetic retinopathy. *Ren. Fail* . 1999;21:659-664.
- 39 Mogensen CE. Genetics and diabetic renal disease. *Diabetes Care*. 2003;26:1631-2.
- 40 O'Dea DF, Murphy SW, Hefferton D, Parfrey PS. Higher risk for renal failure in first-degree relatives of white patients with end-stage renal disease: a population-based study. *Am J Kidney Dis*. 1998;32:794-801.
- 41 Brancati FL, Whittle JC, Whelton PK, Seidler AJ, Klag MJ. The excess of incidence of diabetic end stage renal disease among blacks. A population based study of potential explanatory factors. *JAMA*. 1992;268:3079-84.
- 42 Salinas I, Romero R. Hipercolesterolemia y nefropatía diabética, una asociación multifactorial. *Med Clin*.2005;125:415-6
- 43 Marre M, Jeunemaitre X, Gallois Y, Rodier M, Chatellier G, Sert C, et al. Contribution of genetic polymorphism in the renin-angiotensin system to the development of renal complications in insulin-dependent diabetes. *J Clin Invest*. 1997;99:1585-95.
- 44 Tarnow L, Gluud C, Parving HH. Diabetic nephropathy and insertion/deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene. *Nephrol Dial Transplant*. 1998;13:1125-30.
- 45 Iyengar SK, Fox KA, Schachere M, Manzoor F, Slaughter ME, Covic AM, et al. Linkage analysis of candidate loci for end-stage renal disease due to diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2003;14:S195-S201.
- 46 Imperatore G, Hanson RL, Pettitt DJ, Kobes S, Bennett PH, Knowler WC. Sib-pair linkage analysis for susceptibility genes for microvascular complications among Pima Indians with type 2 diabetes. Pima Diabetes Genes Group. *Diabetes*. 1998;47:821-30.
- 47 Hadjadj S, Belloum R, Bouhanick B, Gallois Y, Guilloteau G, Chatellier G, et al. Prognostic value of angiotensin-I converting enzyme I/D polymorphism for nephropathy in type 1 diabetes mellitus: a prospective study. *J Am Soc Nephrol*. 2001;12:541-9.
- 48 De Cosmo S, Miscio G, Zucaro L, Margaglione M, Argiolas A, Thomas S, et al. The role of PC-1 and ACE genes in diabetic nephropathy in type 1 diabetic patients: evidence for a polygenic control of kidney disease. *Nephrol Dial Transplant*. 2002;17:1402-7.
- 49 Jacobsen P, Tarnow L, Carstensen B, Hovind P, Poirier O, Parving HH. Genetic variation in the renin-angiotensin system and progression of diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2003;14:2843-50.
- 50 Yoshida H, Kuriyama S, Atsumi Y, Tomonari H, Mitarai T, Hamaguchi A, et al. Angiotensin I converting enzyme gene polymorphism in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Kidney Int*. 1996;50:657-64



- 
- 51 Fava S, Azzopardi J, Ellord S, Hattersley AT.** ACE gene polymorphism as a prognostic indicator in patients with type 2 diabetes and established renal disease. *Diabetes Care.* 2001;24:2115-20.
- 52 Serra A, Romero R, Bayes B, López D, Bonet J.** Is there a need for changes in renal biopsy criteria in proteinuria in type 2 diabetes? *Diab Res Clin Pract.* 2002;58:149-53.
- 53 Dogra G, Watts GF.** Genes and diabetic nephropathy: what have we learnt so far? *Pract Diab Int.* 2000;17:84-90.
- 54 Solini A, Passaro A, Fioretto P, Nannipieri P, Ferrannini E.** Lipoprotein lipase gene variants and progression of nephropathy in hypercholesterolemic patients with type 2 diabetes. *J Intern Med.* 2004;256:30-6
- 55 Carretero OA, Scicli AG.** The kallikrein-kinin system as a regulator of cardiovascular and renal function. En: Brenner BM, Laragh JH, editores. *Hypertension: pathophysiology, diagnosis, and management.* New York: Raven; 1995. p. 983-99.
- 56 Balcells E, Meng QC, Johnson WH Jr, Oparil S, Dell'Italia LJ.** Angiotensin II formation from ACE and chymase in human and animal hearts: methods and species considerations. *Am J Physiol* 1997;273:H1769-74.
- 57 Ihara M, Urata H, Kinoshita A, Suzumiya J, Sasaguri M, Kikuchi M, et al.** Increased chymase-dependent angiotensin II formation in human atherosclerotic aorta. *Hypertension* 1999; 33:1399-405.
- 58 Hollenberg NK, Fisher ND, Price DA.** Pathways for angiotensin II generation in intact human tissue: evidence from comparative pharmacological interruption of the renin system. *Hypertension* 1998;32:387-92.
- 59 Segura de la Morena J, Campo Sien C, Ruipole Urioste LM.** Indicaciones del bloqueo doble de la angiotensina II. *Hipertensión* 2003;20(7):315-23
- 60 Brenner BM.** Hemodynamically mediated glomerular injury and the progressive nature of kidney disease. *Kidney Int* 1983;7-655
- 61 Iwano M, Kubo A, Nishino T, Sato H, Nishioka h, Akai Y, et al.** Quantification of glomerular TGF-Beta 1 m-RNA in patients with diabetes mellitus. *Kidney Int* 1996;49:1120-1126
- 62 Mezzano S, Droguett A, Burgos ME, Ardiles LG, Flores CA, Aros CA, et al.** Renin-angiotensin system activation and interstitial inflammation in human diabetic nephropathy. *Kidney Int* 2003(Suppl 86):S64-70.
- 63 Yamamoto T, Nakamura R, Noble NA.** Expression of transforming growth factor  $\beta$  is elevated in human and experimental diabetic nephropathy. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:1814-1818
- 64 Noble NA, Border WA.** Angiotensin II in renal fibrosis: should TGF rather than blood pressure be the therapeutic target? *Semin Nephrol* 1997;17:455-466.
- 65 Morelli E, Loon N, Meyer T, Peters W, Myers BD.** Effects of converting-enzyme inhibition on barrier function in diabetic glomerulopathy. *Diabetes* 1990;39: 76-82
- 66 The Diabetes Control and Complications Trial Research Group.** The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.* 1993;329: 977-986.
- 67 Horie K, Miyata T, Maeda K, Miyata S, Sugiyama S, Sakai H et al:** Immunohistochemical localization of glycoxidation products and lipid peroxidation products in diabetic renal glomerular lesions. Implication for glycoxidative stress in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *J Clin Invest* 1997;100:2995-3004
- 68 Cohen MP, Surma ML.** Renal glomerular basement membrane. In vivo biosynthesis and turnover in normal rats. *J. Biol. Chem.* 1980;255: 1766-1770.
- 69 Cohen MP, Surma ML.** Sulfate incorporation into glomerular basement membrane glycosaglycans is decreased in experimental diabetes. *J. Lab. Clin. Med.* 1981;98: 715-722.
- 70 Kanwar YS, Farquhar MG.** Anionic sites in the glomerular basement membrane. *J. Cell. Biol.* 1978;81: 137-153.
- 71 Stenberg M, Cohen-Forsterre L, Peyroux J.** Connective tissue in diabetes mellitus biochemical alterations of the intracellular matrix with special reference to proteoglycan, collagen and basement membranes. *Diabetes Metab.* 1985;11: 27-50.
- 72 Nelson RG, Pettitt DJ, Baird Hr, Charles MA, Liu QZ, Bennet PH et al.** Prediabetic blood pressure predicts urinary albumin secretion after the onset of type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus in Pima Indians. *Diabetologia* 1993;36:998-1001
- 73 Christensen CK, Mogensen CE.** Antihypertensive treatment: long-term reversal of progression of albuminuria in incipient diabetic nephropathy: a longitudinal study of renal function. *J Diabetes Complications.* 1987;1:45-52.

- 
- 74 **Bakris GL, Williams M, Dworkin L, Elliott WJ, Epstein M, Toto R et al.** Hsueh National Kidney Foundation Hypertension and Diabetes Executive Committees Working Group and J. Sowers, Preserving renal function in adults with hypertension and diabetes: a consensus approach. *Am J Kidney Dis* 2000;36:646-661.
- 75 **Bennett PH, Haffner S, Kasiske BL, Keane WF, Mogensen CE, Parving HH, et al.** Diabetic renal recommendations. *Am. J. Kidney Dis.* 1995;25:107-112.
- 76 **Parving H-H, Lehnert H, Bröchner-Mortensen J, Gomis R, Andersen S, Arner P.** The effect of irbesartan on the development of diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2001;345:870-878.
- 77 **Estacio RO, Jeffers BW, Gifford N, Schrier RW.** Effect of blood pressure control on diabetic microvascular complications in patients with hypertension and type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2000;23:Suppl 2:B54-B64.
- 78 **UK Prospective Diabetes Study Group.** Efficacy of atenolol and captopril in reducing risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes: UKPDS 39. *BMJ* 1998;317:713-720.
- 79 **Agardh CD, García Puig J, Charbonell B, Angelkört B, Barnett AH.** Greater reduction of urinary albumin excretion in hypertensive type II diabetic patients with incipient nephropathy by lisinopril than by nifedipine. *J Hum Hypoertens* 1996;10: 185-192.
- 80 **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.
- 81 **Rossing P, Hommel E, Smidt UM, Parving H-H.** Reduction in albuminuria predicts a beneficial effect on diminishing the progression of human diabetic nephropathy during antihypertensive treatment. *Diabetologia* 1994;37:511-516.
- 82 **De Jong PE, Navis GJ, de Zeeuw D.** Renoprotective therapy: titration against urinary protein excretion. *Lancet* 1999;354:352-353.
- 83 **Bertani T, Cuttillo F, Zoja C, Brogginì M, Remuzzi G.** Tubulo-interstitial lesions mediate renal damage in adriamycin glomerulopathy. *Kidney Int* 1986;39: 488-96
- 84 **Klahr S, Schreiner G, Ichikawa Y.** The progression of renal disease. *N Eng J Med* 1988;318: 1657-1666
- 85 **Rumuzzi G, Roggionenti P, Benigni A.** Understanding the nature of renal disease progression. *Kidney Int.* 1997;51:2-15
- 86 **Eppel GA, Osika TM, Pratt LM, Jablonski P, Howden BO, Glasgow EF, et al.** The return of glomerular-filtered albumin to the rat renal vein. *Kidney Int.* 1999;55: 1861-70
- 87 **Zoja C, Morigi M, Figliuzzi M, Bruzzi I, Oldroyd S, Benigni A, et al.** Proximal tubular cell synthesis and secretion of endothelin-1 on challenge with albumin and other proteins. *Am J Kidney Dis.* 1995;26: 934-41
- 88 **Wang Y, Chen J, Chen L, Tay YC, Rangan GK, Harris DC.** Introduction of monocyte chemoattractant protein-1 in proximal tubule cells by urinary protein. *J Am Soc Nephrol.* 1997;8: 1537-45.
- 89 **Abbate M, Zoja C, Corna D, Capitanio M, Bertani T, Remuzzi G.** 1998. In progressive nephropathies, overload of tubular cells with filtered proteins translates glomerular permeability dysfunction into cellular signals of interstitial inflammation. *J Am Soc Nephrol* 1998;9:1213-1224
- 90 **Peterson JC, Adler S, Burkart JM, Greene T, Hebert LA, Hunsicker LG, et al.** Blood pressure control, proteinuria, and the progression of renal disease. The Modification of Diet in Renal Disease Study. *Ann Intern Med.* 1995;123: 754-62
- 91 **Breyer JA, Bain RP, Evans JK, Nahman NS Jr, Lewis EJ, Cooper M et al.** Predictors of the progression of renal insufficiency in patients with insulin-dependent diabetes and overt diabetic nephropathy. The Collaborative Study Group. *Kidney Int.* 1996;50: 1651-8
- 92 **The GISEN group (Gruppo italiano di Studi Epidemiologici in Nefrologia).** Randomised placebo-controlled trial of effect of ramipril on decline in glomerular filtration rate and risk of terminal renal failure in proteinuric, non-diabetic nephropathy. *Lancet* 1997;349: 1857-63.
- 93 **Ruggionenti P, Perna A, Mosconi L, Matalone M, Pisoni R, Gaspari F, et al.** Proteinuria predicts end-stage renal failure in non-diabetic chronic nephropathies. The "Gruppo Italiano di Studi Epidemiologici in Nefrologia" (GISEN). *Kidney Int* 1997;Suppl. 63: S54-7
- 94 **Shankar A, Klein R, Moss SE, Klein BEK, Yin-Wong T.** The relationship between albuminuria and hypercholesterolemia. *J Nephrol.* 2004;17:658-65.
- 95 **Ravid M, Brosch D, Ravid-Safran D, Levy Z, Rachmani R.** Main risk factors for nephropathy in type 2 diabetes mellitus are plasma cholesterol levels, mean blood pressure and hyperglycemia. *Arch Intern Med.* 1998;158:998-1004.

- 
- 96 **Krolewski AS, Warram JH, Christlieb AR.** Hypercholesterolemia: a determinant of renal function loss and deaths in IDDM patients with nephropathy. *Kidney Int.* 1994;45:S125-S31.
- 97 **Biarnés J, Masana L, Morales C, Píntó X, Ricart W,** en representación del grupo de estudio ESODIAH. Factores que influyen en la aparición de la nefropatía diabética incipiente: estudio ESODIAH. *Med Clin.* 2005;125:401-4.
- 98 **Joles JA, Kunter U, Janssen U, Kritz W, Rabelink TJ, Koomans HA, et al.** Early mechanisms of renal injury in hypercholesterolemia or hypertriglyceridemic rats. *J Am Soc Nephrol.* 2000;36:272-81.
- 99 **Chen HC, Guh JY, Chang JH, Hsieh MC, Shin SJ, Lai YH.** Role of lipid control in diabetic nephropathy. *Kidney Int.* 2005;67:S60-S2.
- 100 **Vaziri ND, Liang K.** Up-regulation of acyl-coenzyme A: cholesterol acyltransferase (ACAT) in nephrotic syndrome. *Kidney Int.* 2002;61:1769-75
- 101 **Ritz E, Ogata H, Orth SR.** Smoking: a factor promoting onset and progression of diabetic nephropathy. *Diabetes Metab* 2000;26:Suppl 4:54-63.
- 102 **Remuzzi G.** Cigarette smoking and renal function impairment. *Am J Kidney Dis.* 1999;33: 807-13
- 103 **Mogensen CE.** Microalbuminuria as a predictor of clinical diabetic nephropathy. *Kidney Int* 1987;31: 673-689.
- 104 **Mogensen CE, Christiansen CK, Vittinghus E et al.** The stages in diabetic renal disease. With emphasis on the stage of incipient nephropathy. *Diabetes.* 1983;32(suppl 2): 64-78.
- 105 **Mogensen CE.** Microalbuminuria, blood pressure and diabetic renal disease: origin and development of ideas. *Diabetologia* 1999;42 :263-85.
- 106 **Ireland JT, Grefell A.** Nefropatía diabética. En: Besser GM, Godansky HJ, Cudword AG (eds) *Diabetes Clínica II.* Barcelona: Ancora. 1990; 1-18.
- 107 **Bank N:** Mechanism of diabetic hyperfiltration. *Kidney Int,* 1991;40:792-807
- 108 **Documento de consenso 2002** sobre pautas de detección, prevención y tratamiento de la nefropatía diabética en España: Sociedades españolas de nefropatía pediátrica, Diabetes, Endocrino y Nutrición, Hipertensión, Medicina Familiar y Comunitaria, Medicina Rural y Generalista, Nefrología. *SEMERGEN* 2002;28:631-638
- 109 **García Robles R.** Algoritmo diagnóstico y terapéutico de la nefropatía diabética. *Endocrinol Nutr* 2003;50(Supl 1):24-6.
- 110 **Harvey JN, Hood K, Platts JK, Deverajoo S, Meadows PA.** 1999 Prediction of albumin excretion rate from albumin-to-creatinine ratio. *Diabet Care* 22: 1597-1598
- 111 **Chavero BM, Bilous RW, Ellis EN, Steffes MW, Mauer SM:** Glomerular lesions and urinary albumin excretion in type I diabetes without overt proteinuria. *N Eng J Med* 1989;320:966-970
- 112 **Mykkanen L, Steven M, haffner J, et al.** Microalbuminuria precedes the development of NIDDM. *Diabetes.* 1990;39: 235-239
- 113 **Donnelly R.** La microalbuminurie, objectif thérapeutique chez les diabétiques de type 2. *Presse Med* 2002;31:2HS9-12.
- 114 **Borch-Johnsen K, Feldt-Rasmussen B, Strandgaard S, Schroll M, Jensen JS.** Urinary albumin excretion: an independent predictor of ischemic heart disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999 ;19:1992-1997.
- 115 **Mogensen CE.** Microalbuminuria predicts clinical proteinuria and early mortality in maturity onset diabetes. *N Engl J Med* 1984;310:356-60.
- 116 **Mattock MB, Morrisish HJ, Viberti GC.** Prospective study of microalbuminuria as predictor of mortality in NIDDM. *Diabetes* 1992;41:736-42.
- 117 **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;160:1093-100.
- 118 **Gerstein HC, Mann JF, Yi Q et al.** Albuminuria and risk of cardiovascular events, death, and heart failure in diabetic and nondiabetic individuals. *JAMA* 2001;286:421
- 119 **UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group.** Relationships of urinary albumin and N-acetylglucosaminidase to glycaemia and hypertension at diagnosis of type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus and after 3 months diet therapy. (UKPDS XI) *Diabetologia* 1993;36: 835-842.
- 120 **Ritz E, Orth SR.** Nephropathy in patients with type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1999;341:1127-1133.
- 121 **Hasslacher C, Stech W, Wahl P.** Normal history of nephropathy in type I diabetes-roles of metabolic control and hypertension. *Ann. Mtg. Am. Soc. Nephrol.* 1983;29-32.

- 
- 122 **Viberti G, Mogensen CE, Groop LC, Pauls JF and the European Microalbuminuria Study Group.** Effect of captopril on progression to clinical proteinuria in patients with insulin-dependent diabetes mellitus and microalbuminuria. *JAMA.* 1994;271:275-279.
- 123 **Axelrod L.** Response of congestive heart failure to correction of hyperglucemia in the presence of diabetic nephropathy. *N. Engl. J. Med.* 1975;293:1243-1246.
- 124 **Kokko JP.** Proximal tubule potential difference. Dependence on glucosa HCO<sub>3</sub>, and amino acids. *J. Clin. Invest.* 1973;52: 1362.
- 125 **Ullrich KJ, Rumrich G, Kloss G.** Specificity and sodium dependence of the active sugar transport in the proximal convolution of the rat kidney. *Pfluegers Arch.* 1974;351: 35-38.
- 126 **De Fronzo RA. 1981.** The effect on insulin on renal sodium metabolism. *Diabetologia.* 21: 165-169.
- 127 **Ditzel J, Lervang HH, Mortensen JB, et al.** Renal sodium metabolism in relation to hypertension in diabetes. *Diabete Metab.* 1989;15:292-295.
- 128 **Nosadini R, Fioretto P, Giorato C, et al.** Sodium metabolism in insulin-dependent diabetic patients. *Diabete Metab.* 1989;15:301-305.
- 129 **Hsueh WA, Anderson PW.** Systemic hypertension and the renin-angiotensin system in diabetic vascular complications. *Am. J. Cardiol.* 1993;72:14-21.
- 130 **Altman J.J., Elian N., Grun S., Gerard H.G., Feldman S.** The outcome of advanced chronic nephropaty in type 1 and type 2 diabetic and nondiabetic patients: a prospective study. *Diabetes Metab.* 1999;25:144-149.
- 131 **Mogensen CE.** Glomerular filtration rate and renal plasma flow in short term and long term juvenile diabetes mellitus. *Scand J. Clin. Lab. Invest.* 1971;28: 99-100.
- 132 **Makita Z, Radoff S, Rayfield EJ, et al.** Advance glycosylation and produtes in patients with diabetic nephropathy. *N. Engl. J. Med.* 1991;325: 836-842.
- 133 **UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group.** Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* 1998;352: 837-853. [Erratum, *Lancet* 1999;354: 602.]
- 134 **Vasquez B, Flock EV, Savage PJ, Nagulesparan M, Bennion LJ, Baird HR, Bennet PH.** Sustained reduction of proteinuria in type 2 diabetes following diet induced reduction of hyperglycemia. *Diabetologia* 1984;26:127-13
- 135 **UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group** Effect of intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34). *Lancet* 1998;352:854-865. [Erratum, *Lancet* 1998;352:1557.]
- 136 **Ohkubo Y, Kishikawa H, Araki E, Miyata T, Isami S, Motoyoshi S, et al.** Intensive insulin therapy prevents the progression of diabetic microvascular complications in Japanese patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus: a randomized prospective 6-year study. *Diabetes Res Clin Pract* 1995;28:103-117.
- 137 **Standard of Medical care in Diabetes.** *Diabetes care.* 2005;28:S4-S37
- 138 **Fried LF, Orchard TJ, Kasiske BL.** Effect of lipid reduction on the progression of renal disease: a meta-analysis. *Kidney Int* 2002;59:260-269.
- 139 **Price DA, Lansang MC, Osei SY, Fisher NDL, Laffel LMB, Hollenberg NK.** Type 2 diabetes, obesity and the renal response to bloking the rennin system with irbesartan. *Diabetes UK. Diabetes Medicine.* 2002;19:858-861
- 140 **Eriksson KF, Lindgarde F.** Prevention of type II diabetes mellitus by diet and exercise. *Diabetologia.* 1991;34:891-898
- 141 **Morales E, Valero MA, Leon M, Hernandez E, Praga M.** Beneficial effects of weight loss in overweight patients with chronic proteinuric nephropathies. *Am J Kidney Dis* 2003 Feb;41(2):319-27
- 142 **Pomerlau J, Verdy M, Gardel DR, Houde Nadeau M.** Effect of protein intake on glycemic control and renal function in type 2 diabetes mellitus. *Diabetologia.* 1993;36: 829-834
- 143 **Klahr S.** Role of dietary proteinand blond pressure on progression of renal disease. *Kidney Int.* 1996;49: 1783-1786
- 144 **Fouque D, Laville M, Boissel JP.** Dietas con bajo contenido proteico para la insuficiencia renal crónica en adultos no diabéticos (Revisión Cochrane traducida). En: *La Biblioteca Cochrane Plus*, 2006 Número 3. Oxford: Update Software Ltd. Disponible en: <http://www.update-software.com>.
- 145 **American Diabetes Association (ADA).** Standard of Medical Care for Pacients with Diabetes Mellitus. *Diabetes Care.* 2002;25Suppl 1:S33-49
- 146 **Zatz R, Dunn BR, Meyer TW, Anderson S, Rennke HG, Brenner BM.** Prevention of diabetic glomerulopathy by pharmacological amelioration of glomerular capillary hypertension. *J Clin Invest.* 1986;77:1925-1930.

- 
- 147 Wolf G, Haberstroh U, Neilson EG. Angiotensin II stimulates the proliferation and biosynthesis of type I collagen in cultured murine mesangial cells. *Am J Pathol.* 1992;140:95-107.
- 148 Kagami S, Border WA, Miller DE, Noble NA. Angiotensin II stimulates extracellular matrix protein synthesis through induction of transforming growth factor-beta expression in rat glomerular mesangial cells. *J Clin Invest* 1994;93:2431-2437.
- 149 Andersen S, Jacobsen P, Tarnow L, Rossing P, Juhl TR, Parving HH. Time course of the antiproteinuric and antihypertensive effect of losartan in diabetic nephropathy. *Neprol dial Transplant.* 2003; 18:293-297
- 150 Peters H, Boder WA, Noble NA. Targening TGF over-expression in renal disease. Maximizing the antifibrotic action of angiotensin II blockade. *Kidney Int* 2000;54: 1570-1580.
- 151 Lewis E.J., Junsicker L.G., Bain R.P., Rohde R.D. The effect of angiotensin- converting enzyme inhibition on diabetic nephropaty. *N. Engl. J. Med.* 1993 329: 1456-1462.
- 152 Kasiske BL, Kalil RSM, Ma JZ, Liao M, Keane WF. Effect of antihypertensive therapy on the kidney in patients with diabetes: a meta-regression analysis. *Ann Intern Med.*1993;118: 129–138.
- 153 Laffel LMB, Mc Gill JB, Gans DJ. The beneficial effect of angiotensin converting enzyme inhibition with captopril on dabetic nephropathy in normotensive IDDM patients with microalbuminuria. *Am J Med.* 1995;99:497-504.
- 154 Maschio G, Alberti D, Janin G, Locatelli F, Mann JEF, Motolese M, et al. Angiotensina-Converting-Enzyme Inhibition in Progressive Renal Insufficiency Study Group and Z. Zuchelli , Effect of the angiotensina-converting-enzyme inhibitor benazepril on the progression of chronic renal insufficiency. *N Engl J Med.* 1996;334: 939–945
- 155 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.
- 156 The Microalbuminuria Captopril Study Group. Captopril reduces the risk of nephropathy in IDDM patients with microalbuminuria. *Diabetologia.* 1996;39:587-593.
- 157 Jungmann E, Haak T, Malanyn M, Mortasawi N, Schererich J, Usadel KH. Comparative study on renal effects of nitrendipine vs enalapril in microalbuminuric patients with type I diabetes mellitus. *Diabetologia* 1992;35:A149.
- 158 Viberti G, Wheeldon NM, R. Microalbuminuria reduction with vasaltán (MARVAL) Study Investigators. *Circulation.* 2002;106:672-678.
- 159 Yasuda G, Ando D, Hirawa N, Umemura S, Tochikubo O. Effects of losartan and amlodipine on urinary albumin excretion and ambulatory blood pressure in hypertensive type 2 diabetic patients with overt nephropathy .*Diabetes Care.* 2005;28:1862-1868
- 160 Suzuki K, Souda S, Ikarasi T, Kaneko S, Nakagawa O, Aizawa Y. Renoprotective effects of low-dose valsaltan in type 2 diabetic patientents with diabetic nephropathy. *Diab Res Clin Prac.* 2002;57:179-183
- 161 Koile H. New pharmacologic aspects of CS-866, the newest angiotensin II receptor antagonist. *Am J Cardiol* 2001;87:33C-36C
- 162 Mizuno M, Sada T, Koto M, Fukushima Y, Terashima H, Koike H. The effect of angiotensin II receptor blockade on an end-stage renal failure model of type 2 diabetes. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2006;48:135-42
- 163 Gansevoort RT, Zeeuw D, Jong PE. Is the antiproteinuric effect of ACE inhibition mediated by interference in the renin-angiotensina system?. *Kidney Int* 1994 45:861–867.
- 164 Perico N, Remuzzi A, Sangalli F, Azzollini N, Mister M, Ruggenti P, Remuzzi G. The antiproteinuric effect of angiotensina antagonism in human IgA nefropatía is potentiated by indomethacin. *J Am Soc Nephrol.* 1998; 9:2308–2317.
- 165 Barnett AH, Bain SC, Bouter P, Karlberg B, Madsbad S, Jevell J et al. Angiotensin-Receptor Blokade versus Converting-enzyme Inhibition in type 2 diabetes and nephropathy. *N Engl J Med.* 2004;351:1952-61
- 166 Morgensen CE, Neldam S, Tikkanen I, Oren S, Viskoper R, Watss RW, et al. Randomised controlled trial of dual blockade of renin-angiotensin system in patients with hypertension, microalbuminuria and non-insulin dependent diabetes: the candesartan and lisinopril microalbuminuria (CALM) study. *BJM.* 2000;321:1440-4
- 167 Rossing K, Christensen PK, Jensen BR, Parving HH. Dual Blockade of the renin angiotensina system in diabetic nephropathy. A randomized double-blind study. *Diabetes Care.* 2002;25:95-100
- 168 Taal MW, Brenner BM, ACEI and ARB therapy: additional benefit in renoprotection?. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2002;11:377-81

- 169 Andersen NH, Poulsen PL, Knudsen ST, Poulsen SH, Eiskjaer H, Hansen KW et al.. Long-term dual blockade with candesartan and lisinopril in hypertensive patients with diabetes: the CALM I study. *Diabetes Care* 2005;28:273-77
- 170 Bakris GL, Copley JB, Vicknair N, Sadler R, Leurgans S. Calcium channel blockers versus other antihypertensive therapies on progression of NIDDM associated nephropathy. *Kidney Int* 1996;50: 1641-1650.
- 171 Griffin K, Piquen M, Bidani AK. Deteriorous effects of calcium channel blockade on pressure transmission and glomerular injury in rats remnant kidneys. *J Clin Invest.* 1995; 96:793.
- 172 Piquen M, Griffin K, Bakris GL, Bidani AK. Comparative effects of four different calcium antagonists on progression of renal disease in a remnant kidney model. *J Am Soc Nephrol.* 1996;7:1586.
- 173 Boleen L, De Courten M, Weidmann P. Comparative study of the effect of ACE inhibitors and other antihypertensive agents on proteinuria in diabetic patients. *Am J Hypertens* 1994;7(supl) s84-s92
- 174 Bretzel G. Effects of antihypertensive drugs on renal function in patients with diabetic nephropathy. *Am J Hypertens.* 1997;10:s208-s217.
- 175 Bakris GL. Renal effects of calcium antagonists in diabetes mellitus: an overview of studies in animal models and in humans. *Am J Hypertens* 1991;4:Suppl:487S-493S.
- 176 Ruggenti P, Perna A, Benini R, Remuzzi G. Effects of dihydropyridine calcium channel blockers, angiotensin-converting enzyme inhibition and blood pressure control on chronic, nondiabetic nephropathies. *J Am Soc Nephrol.* 1998;9:2096-2101.
- 177 Agodoa LY, Appel L, Bakris GL, Beck G, Bourgoignie J, Briggs JP, et al.; African American Study of Kidney Disease and Hypertension (AASK) Study Group. Effect of ramipril vs. amlodipine on renal outcomes in hypertensive nephrosclerosis: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2001;285:2719-2728.
- 178 Weidmann P, Scheneider M, Böhlen. Therapeutic efficacy of different antihypertensive drugs in human diabetic nephropathy: an updated meta-analysis. *Nephrol Dial Transplant* 1995;10(supl 9):39-45
- 179 Bauer JH, Reams GP. Antihypertensive drugs. In: Brenner BM, ed. *The kidney.* 6th ed. Philadelphia: W.B. Saunders.2000; 2253-2297
- 180 Ruipole LM, Esmatjes E. Protección renal en la diabetes mellitus tipo2. *Med Clin.* 2002;118:287-288
- 181 Smith AC, Toto R, Bakris GL. Differential effects of calcium channel blockers on size selectivity of proteinuria in diabetic glomerulopathy. *Kidney Int.* 1998;54:889-896.
- 182 Bakris GL, Weir MR, DeQuattro V, McMahon FG. Effects of ACE inhibitor/calcium antagonist combination on proteinuria in diabetic nephropathy. *Kidney Int.* 1998;54: 1283-1289.
- 183 Fagari R, Mugellini A, Zoppi A, Lazzari P, Destro M, Rinaldi A et al. Effect of successful hypertension control by mandipine or lisinopril on albuminuria and left ventricular mass in diabetes hypertensive patients with microalbuminuria. *Eur J Clin Pharmacol.* 2005;61:483-90.
- 184 Buter H, Hemmeler MH, Navis G, de Jong PE, de Zeeuw D. The blunting of the antiproteinuric efficacy of ACE inhibition by high sodium intake can be restored by hydrochlorothiazide. *Nephrol Dial Transplant.* 1998;13:1682-1685
- 185 Kaplan NM. Management of hypertension in patients with with type 2 diabetes mellitus: guidelines based on current evidence: *Ann Intern Med.* 2001;135:1079-1083
- 186 Mogensen CE, Viberti G, Halimi S, Ritz E, Ruipole L, Jermendy G. Preterax in Albuminuria Regression (PREMIER) Study Group. Effect of low-dose perindopril/indapamide on albuminuria in diabetes: preterax in albuminuria regression: PREMIER. *Hypertension.* 2003;41:1063-71)
- 187 Sato A, Hayashi K, Naruse M, Saruta T.. Effectiveness of aldosterone blockade in patients with diabetic nephropathy. *Hypertension* 2003;41:64-68.
- 188 Cha DR, Kang YS, Han SY, Jee YH, Han KH, Kim HK et al. Role of aldosterone in diabetic nephropathy. *Nephrology.* 2005; 10 Suppl: S37-9
- 189 Wolghemut J. Ueber eine neue methode zur quantitative bestimmung des diastatischen ferments. *Biochem Z.* 1980;9:1-27.
- 190 Roslaci SB, Wilkinson JH. Urinary lactic dehydrogenase in renal disease. *Lancet.* 1959;2:327-331.
- 191 Jung K, Schulse G, Schoder K. Influence of pH on the activity of enzymes in urine at 37° C. *Clin Chem* 1982;28:1814-1816.
- 192 Wilkinson JH. Diagnostic significance of enzyme determination in urine. In : Dubach UC. *Enzymes in urine and kidney.* Verlag. Hans Huber. Bern. und Stuttgart 1968
- 193 Schonenberger GA, Walker WEC. Peptide inhibitor of lactic-dehydrogenase II. Isolation and characterization of peptides I and II. *Biochemistry.* 1966; 5:1375-1379.
- 194 Mattenheimer H. *Enzymes in urine and kidney.* Verlag. Hans. Huber. Bern. un Stuttgart. 1968
- 195 Kushinki S, Chen VL. Urinary beta glucuronidase inhibitors. *Enzymol Biol Clin* 1967; 8: 226-270

- 
- 196 **Courtois Je, Demelier J, Labat J, Hargreaves F.** Separation et propriétés de la trehalase renal du porc. *Bull Soc Chin Biol.* 1968;50: 84-88.
- 197 **Jung K, Schulse G, Reinholdt C.** Different diuresis dependent excretions of urinary enzymes : N-Acetyl- $\beta$ -D-Glucosaminidase, Alanine Aminopeptidase, Alkaline Phosphatase, and Gamma-Glutamyltransferase. *Clin Chem.* 1986;32: 529-532.
- 198 **Hultberg B, Ockerman PA, Norden NE.** Isoenzymes of four acid hydrolases in human kidney and urine. *Clin Chim Acta* 1974;52: 239-243.
- 199 **Pérez Blanco FJ, Sabatel G, Cantero J.** Actividad urinaria del NAG en el hipertenso diabético. V Reunión Andaluza Hipertensión Arterial. Marbella. 1995
- 200 **Caballo-Roig N, Yep Chumben G.** Variación de la excreción de N-acetil- $\beta$ -glucosaminidasa en el primer año de vida. *An Esp Pediatría* 1995;4:142-144.
- 201 **Salgo L, Szabo A.** Gamma-Glutamil transpeptidase activity in human urine. *Clin. Chim Acta.* 1992;126:9-16.
- 202 **Jung K, Hempel A, Gruzmann KD et al.** Age dependent excretion of alanine aminopeptidase, alkaline phosphatase, gamma-glutamyl-transferase and N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase in human urine. *Enzyme* 1990;43:50-56.
- 203 **Thiele KG.** Gamma-Glutamyl Transpeptidase Aktivität im Urin bei Gesunden und Nierenkranken. *Klin Wschr* 1973;51:339-344
- 204 **Maruhn D, Fusch Mues G, Bock KD.** Normal limits of urinary excretion of eleven enzymes. *Clin Chem* 1976;22:1567-1571.
- 205 **Morita E, Kaizu K, Uriu K, Hashimoto O, Komine N, Eto S.** Clinical significance of urinary enzymes in diabetic nephropathy. *J Diabet Complications* 1991;5:158-159.
- 206 **Mattenheimer A, Adams EC.** Quantitative determinations of hemoglobin in urine. I. The inhibitory effect of urine on the peroxidase-like activity of hemoglobin and horseradish peroxidase. *Z Klin Chem Klin Biochem* 1967;5:48-62.
- 207 **Lombardo A, Caimi L, Marchesini S, Goi GC, Tettamanti G.** Enzymes of lysosomal origin in human plasma and serum: assay conditions and parameters affecting the assay. *Clin Chim Acta* 1980;108: 337-346.
- 208 **Pennock CA.** Lysosomal storage disorders. En : Holton, JB (ed). *The inherited metabolic diseases.* Churchill Livingstone , London. 1987;59-95.
- 209 **Gorog P, Pearson JD.** Sialic acid moieties on surface glycoproteins protect endothelial cells from proteolytic damage. *J Pathol* 1985;146: 205-212.
- 210 **Kelly L, Woodward SH.** Alterations in the activities of lysosomal glycosidases in human diabetes. *Med Sci Res* 1988;16:491-496.
- 211 **Houser MT.** The effects of age and urine concentration on lysozyme and N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase content in urine. *Ann Clin Biochem.* 1986;23:297-302
- 212 **Shrivastava KS, Awasthi YC, Yoshida A.** Studies on human Beta-D-N-Acetylhexosaminidase. I. Purification and properties. *J Biol Chem* 1974;249:2043-2048.
- 213 **Hayashi M.** Comparative histochemical localization of lysosomal enzymes in rat tissue. *J Histochem Cytochem* 1967;15:83-92.
- 214 **Lockwood TD, Bossman HB.** The use of urinary N-acetyl- $\beta$ -Glucosaminidase in human renal toxicology I. *Toxicol Appl Pharmacol* 1979;49:323-336.
- 215 **Price RG, Dance N, Richards B, Catell WR.** The excretion of N-acetyl- $\beta$ -Glucosaminidase and galactosidase following to the kidney. *Clin Chim Acta* 1970;27: 65-72.
- 216 **Lockwood TD, Bossman HB.** The use of urinary N-acetyl- $\beta$ -Glucosaminidase in human renal toxicology I. *Toxicol Appl Pharmacol* 1979;49:323-336.
- 217 **Lakatua Md, Blomquist P, Haus M.** Circadian rhythm in urinary N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase (NAG) of clinically healthy subjects. *Am J Clin Pathol* 1982;78:69-77.
- 218 **Girolami JP, Bascands JL, Prévot D, Pecher C, Manuel Y.** Urinary output modulation of Alanine Aminopeptidase, Gamma-glutamyl transpeptidase, and N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase by castration and testosterone in male normal rat. *Enzyme* 1989;41: 181-186.
- 219 **Alderman MH, Melcher L, Drayer DE, Reidenberg MM.** Increased excretion of urinary N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase in essential hypertension and its decline with antihypertensive therapy. *N Eng Med J* 1983;309:1213-1217.
- 220 **Vanderjagt DJ, Steimberg BR, Glew RH.** Comparison of urinary excretion of four lysosomal hydrolases in healthy elderly and young adults. *Clin Chim Acta* 1992;210: 47-54.

- 221 **Palmieri L, Cioni L, Puccini R.** Enzymuria as a marker of renal injury and disease: studies on N-acetyl-beta-glucosaminidase, alanine aminopeptidase and lysozyme in patients with renal disease. *Contrib Nephrol* 1984;42:123-129
- 222 **Goi G, Burlina AB, Bairati C, Bordugo A, Zanardo V, Zacchello F et al.** Enzymes of lysosomal origin in plasma of twin neonates. *Clin Chim Acta* 1993;214:61-71.
- 223 **Strigini F, Melis GB, Gasperini M, Ronca G, Palmieri L, Fioretti P.** Urinary excretion of N-acetyl-β-D-glucosaminidase and alanineaminopeptidase during pregnancy. *Int J Gynaecol Obstet.* 1989;28: 9-12.
- 224 **Yoshida M, Furiya K, Takakuwa H.** Urinary excretion of N-acetyl-β-glucosaminidase during normal pregnancy. *Clin Chim. Acta* 1995;223:113-15.
- 225 **Semczuk-Sikora A, Sikora P, Semczuk M.** Urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase (NAG) activity in women with preeclampsia. *Ginekol Pol.* 2000 Mar;71(3):141-5 (solo abstract)
- 226 **Perez-Blanco FJ, Sanabria MC, Huertas JM, Cantero J, Rodriguez-Cuartero A.** Urinary N-acetyl-beta-glucosaminidase in the prediction of preeclampsia. *Clin Nephrol.* 1998;50:169-71.
- 227 **Goren MP, Sibai BM, El-Nazar A.** Increased tubular enzyme excretion in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1987;157:906-908.
- 228 **Fabrizii V, Nowotny C, Dadak C et al.** Tubulare Alterationenn bei normaler Graviditat und EPH-Gestose; Diagnose durch NAG. *Gynakol Rundsch* 1991;31 Suppl 2: 178-180.
- 229 **Hultberg B, Isaksson A, Krtzen E, Nilson Ehle P.** Urinary excretion of N-acetyl-β-glucosaminidase in normal and complicated pregnancy. *J Clin Chem Biochem* 1989;27:487-489.
- 230 **Pérez-Blanco FJ, Huertas JM, Moreno Terribas G, Rodríguez Cuartero A.** Urinary excretion of N-acetyl-β-glucosaminidase in slight arterial hypertension during pregnancy. *Clin Investig* 1994;74: 799.
- 231 **Poenaru L, Mezard C, Akli S, Oury JF, Dumez Y, Boue J.** Prenatal diagnosis of mucopolidosis type II on first trimester amniotic fluid. *Prenat Diagn* 1990;10: 231-235.
- 232 **Pachi A, Lubrano R, Maggi E, Giancotti A, Giampà G, Elli M, et al.** Renal tubular damage in fetuses with intrauterine growth retardation. *Fetal Diagn Ther* 1993;8: 109-113.
- 233 **Pyorala S.** Effects of some vehicles used in intramammary mastitis preparations of inflammation indicators in milk. 1987;10:248-253
- 234 **Nickerson SC, Thompson WJ, Oliver SP, Akers RM.** Effects of intracisternal bead devices on lacteal secretion components, plaque formation, and bacterial infection during the nonlacting period. *Am J Vet Res* 1988; 49:1205-1209.
- 235 **Davies M, Barrett AJ, Travis J, Sanders E, Coles GA.** The degradation of human glomerular basement membrane with purified lysosomal proteinases: Evidence for the pathogenic role of the polymorphonuclear leucocyte in glomerulonephritis. *Clin Sci Mol Med* 1978;54: 221-233.
- 236 **Kuzniar J, Marchewka Z, Lembas-Bogaczyk J, Kuzniar TJ, Klinger M.** Etiology of increased enzymuria in different morphological forms of glomerulonephritis. *Nephron Physiol.* 2004;981:8-14.
- 237 **Bazzi C, Petrini C, Rizza V, Arrigo G, Napodano P, Paparella M, D'Amico G.** Urinary N-acetyl-beta-glucosaminidase excretion is a marker of tubular cell dysfunction and a predictor of outcome in primary glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant.* 2002;17:1890-6
- 238 **Kunin CM, Chesney RW, Craig WA, England AC, DeAngelis C.** Enzymuria as a marker of renal injury and disease : studies of N-acetyl-β-glucosaminidase in the general population and in patients with renal disease. *Pediatrics* 1978;62:751-760.
- 239 **Chan MK.** N-acetyl-β- glucosaminidase in the localization of the site of urinary tract infections. *Singapore Med J* 1990;31:135-137.
- 240 **Ellis BG, Tucher SM, Thompson AE, Price GE.** Presence of serum and tissue forms of N-acetyl-β-D-glucosaminidase in urine from patients with renal disease. *Clin Chim Acta* 1975;64:195-202.
- 241 **Carr MC, Peters CA, Retik AB, Mandell J.** Urinary levels of renal tubular enzyme N-acetyl-beta-D-glucosaminidase in relation to grade of vesicoureteral reflux. *J Urol.* 1991;146:654-6
- 242 **Cottone G, Laterza G, Amici A, Gentile A, Gentile V, Perugia G, et al.** Effect of antibiotic chemotherapy on urinary N-acetyl-B-D-glucosaminidase activity in patients with chronic pyelonephritis. *Minerva Med* 1986;77:1717-20
- 243 **Hultberg B, Ravinskov T.** The excretion of N-acetyl-β-glucosaminidase in glomerulonephritis. *Clin Nephrol* 1981;15:33-38
- 244 **Tucker SM, Pierce RJ, Pierce RC.** Characterization of human N-acetyl-β-D-glucosaminidase isoenzymes as an indicators of tissue damage in disease. *Clin Chim Acta* 1980;102: 29-40.
- 245 **Welwood JM.** Early warning of rejection. *BMJ* 1973; 2: 261-265.



- 246 Wellwood JM, Ellis BG, Price RG, Hammond K, Thompson AE, Jones NF. Urinary N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase activities in patients with renal disease. *Br Med J* 1975;3:408-411.
- 247 Ahijado FJ, Garcia S. Insuficiencia renal aguda por nefrotóxicos. In Liaño F, Pascual J. (Eds). *Insuficiencia renal aguda*. Barcelona. Masson.2000: 143-146.
- 248 Wiland P, Szecheinski J. Proximal tubule damage in patients treated with gentamicin or amikacin. *Pol J Pharmacol*. 2003;55:631-7
- 249 Etherington C, Bosomworth M, Clifton I, Peckham DG, Conway SP. Measurement of urinary N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase in adult patients with cystic fibrosis: before, during and after treatment with intravenous antibiotics. *J Cys Fibros*. 2007;6:67-73
- 250 Gibey R, Dupond JL, Alber D, Leconte des Floris R, Henry JC. Predictive value of urinary N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase (NAG), alanine-aminopeptidase (AAP) and  $\beta$ -2-microglobulin ( $\beta$ 2 M) in evaluating nephrotoxicity of gentamicin. *Clin Chim Acta* 1981;116:25-34.
- 251 Zafirovska KG, Bogdanouska SV. Urinary excretion of three specific renal tubular enzymes in patients treated with non-steroidal antiinflammatory drugs. *Ren Fail* 1993;15:51-54.
- 252 Brown DM, Charonis AS, Furcht LT, Klein DJ, Mauer SM, Steffes MW, Tsilibary PE. An overview of role of matrix components. *Diabetes Care* 1991;14:157-159.
- 253 Burdmann EA, Andoh TF, Rosen S, Lindsley J, Munar MY, Elzinga LW, et al. Experimental nephrotoxicity, hepatotoxicity and pharmacokinetics of cyclosporin G versus cyclosporin A. *Kidney Int* 1994;45:684-691.
- 254 Wiland P, Swierkot J, Szechinski J. N-acetyl-beta-D-glucosaminidase urinary excretion as an early indicator of kidney dysfunction in rheumatoid arthritis patients on low-dose methotrexate treatment. *Br J Rheumatol*. 1997;36:59-63
- 255 Wiland P, Wiela-Hojenska A, Glowska A, Chlebicki A, Hurkacz M, Orzechowska-Juzwenko K et al. Renal function in rheumatoid arthritis patients treated with methotrexate and infliximab. *Clin Exp Rheumatol*. 2004;24:469-72
- 256 Yagoob M, Bell GM, Stevenson A. Renal impairment with chronic hydrocarbon exposure. *Q J Med* 1993;86:165-174.
- 257 Hotz P, Pilliod J, Bernard A. Hydrocarbon exposure, hypertension and kidney function tests. *Int Arch Occup Environ Health* 1990;60:501-508.
- 258 Grueuer N. Early detection of changes in kidney function in workers exposed to solvents and heavy metals. *Isr J Med Sci* 1992;28:605-607.
- 259 Loghman-Adham M. Renal effects of environmental and occupational lead exposure. *Environ Health Perspect*. 1997;105:928-39.
- 260 Comisión de salud pública. Consejo interterritorial del Sistema Nacional de Salud. Protocolos de vigilancia sanitaria específica: Plomo. Ministerio de Sanidad y Consumo. 1999.pag 24
- 261 Staessen J, Lauwerys R. Health effects of environmental exposure to cadmium in a population study. *J Hum Hypertens* 1993;7:195-199.
- 262 Morales Martin, AI, Vicente-Sanchez C, Santiago Sandoval JM, Fernández Taggerro M, López-Novoa JM y Perez-Barriocanal F. Efecto de la quercetina sobre la nefrotoxicidad producida por cadmio. *Rev. Toxicol*. 2004;21:23-30
- 263 Sikora P, Glatz S, Beck BB, Stapenhorst L, Zajaczkowska M, Hesse A, Hoppe B. Urinary NAG in children with urolithiasis, nephrocalcinosis, or risk of urolithiasis. *Pediatr Nephrol*. 2003;18:996-9.
- 264 Huang H, Chen J, Chen C. Circulating adhesion molecules and neutral endopeptidase enzymuria in patients with urolithiasis and hydronephrosis. *Urology*. 2000;55(6):961-5.
- 265 Riz Marcellan FJ, Ibarz Servio, I. Evaluation of renal damage un extracorporeal lithotripsy by shock waves. *Eur. Urol*. 1986;2: 73-75.
- 266 Kishimoto T, Yamamoto K, Sugimoto T, Yoshihara H, Mazkawa M. Side effects in patients treated by ESWL for upper urinary tract stone. *Eur. Urol*. 1986;12:308-313.
- 267 Trinchieri A, Mandressi A, Rouppolo M, Tombolini P, Pisani E. Renal tubular damage after renal stone treatment. *Urol. Res*. 1988;16:101-104.
- 268 Akdas A, Türkeri LN, Ilker Y, Simsek F, Emerk K. Short-term bioeffects of extracorporeal shockwave lithotripsy. *J. Endourol*. 1994;8:187-190.
- 269 Sen S, Erdem Y, Oymak O, Yalcin Au, Turgan C, Ersoy H, Bingol N, Tamer S. Effects of extracorporeal shock wave lithotripsy on glomerular and tubular functions. *Int. Urol. Nephrol*. 1996;28:309-313.
- 270 Mansell MA, Ziroyannis PN, Jones NF. N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase: a next approach to the screening of hypertensive patients for renal disease. *Lancet* 1978;2:803-805.

- 271 **Persichetti S, Clemenzia G, Laterza G, Sagliaschi G, Spinelli C, Gallo G, et al.** Confronto tra le attività urinaria e sierica del NAG in soggetti affetti da nefropatie croniche e da ipertensione arteriosa essenziale. *Minerva Medica* 1990;81:265-270.
- 272 **Wellwood JM, Price RG, Ellis BG, Thompson AE.** A note on the practical aspects of the assay on N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase in human urine. *Clin Chim Acta* 1976;69:85-91.
- 273 **Alderman MH, Melcher L, Drayer DE, Reidenberg MM.** Increased excretion of urinary N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase in essential hypertension and its decline with antihypertensive therapy. *N Eng Med J* 1983;309: 1213-1217
- 274 **Blythe WB, Maddux F.** Hypertension as a causative diagnosis of patients entering and stage renal disease programs in the United States from 1980 to 1986. *Am J Kid Dis* 1991;1:33-37.
- 275 **Pylkkanen J, Vilksa J, Koskimies O.** The value of level diagnosis of childhood urinary tract infection in predicting renal injury. *Acta Paediatr Scand* 1981;70:879-883.
- 276 **Sterner G, Weibull H, Hultberg B, Bergqvist D, Hulthén L, Isaksson A, et al.** Determination of urinary N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase in patients with hypertension and renal artery stenosis. *J Intern Med* 1993;234:281-285.
- 277 **Holmes RP, Craddock G, Espeland MA, et al.** A lack of coordination in the release of urinary lysosomal and brush border enzymes following renovascular surgery. *Clin Chim Acta* 1989;186:1-9.
- 278 **Szasz G.** Gamma-glutamyl-transpeptidase-aktivität im urin. *Z Klin Chem* 1970;8:1-8.
- 279 **Tate SS, Toss E.** Human Kidney gamma-glutamyl transpeptidase: catalytic properties, subunit structure, and localization of the gamma-glutamyl binding site on the light subunit. *J Bio Chem* 1977;252:6042-6045.
- 280 **Braun JP, Rico AG, Benard P, et al.** La gamma-glutamyl transferase urinaire en toxicologie renale chez le rat. Bases de son utilisation-intérêt lors de néphrite aiguë mercurielle. *Toxicology* 1978;11:73-82.
- 281 **Zoch-Zwierz W, Winiecka W, Tomaszewska B, Wierciński R.** Evaluation of N-acetyl-beta-D-glucosaminidase (NAG) and its isoenzyme activities in the urine of children with primary and secondary hypertension. *Wiad Lek* 1992;45:498-502. (solo abstract)
- 282 **Ishimitsu T, Uehara Y, Numabe A, Tsukada H, Ogawa Y, Iwai J, et al.** Interferon gamma attenuates hypertensive renal injury in salt-sensitive Dahl rats. *Hypertension* 1992;19:804-808.
- 283 **Schmieder RE, Rüdell H, Schlebusch H, Rockstroh J, Schächinger H, Schulte W.** Impact of antihypertensive therapy with isradipine and metoprolol on early markers of hypertensive nephropathy. *Am J Hypertens* 1992;5:318-321.
- 284 **Narkiewicz K, Rynkiewicz A, Furmański J, Bieniaszewski L, Bartłomiejczyk-Majchrowicz K, Andrzejewska S, et al.** Increased urinary c-peptide and albumin excretion in juvenile borderline hypertension. *Blood Press* 1993;2:272-277.
- 285 **Pirart J.** Diabetes mellitus and its degenerative complications: a prospective study of 4400 patients observed between 1947 and 1973. *Diabetes Care* 1978;1:168-188.
- 286 **Whiting PH, Ross IS, Borthwick L.** Serum and urine N-acetyl-beta-D-glucosaminidase in diabetics on diagnosis and subsequent treatment, and stable insulin dependent diabetics. *Clin Chim Acta.* 1979;92:459-463
- 287 **Hultberg B, Ravinskov T.** The excretion of N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase in glomerulonephritis. *Clin Nephrol* 1981;15: 33-38.
- 288 **Perez Blanco FJ, Rodriguez Cuartero A, Sabatel G, Nuñez J.** Urinary activity of N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase in diabetic nephropathy. 12 th Congress European Association Internal Medicine. Alicante. 1994
- 289 **Waters PJ, Flynn MD, Corral RJ, Pennock CA.** Increased in plasma lysosomal enzymes in Type I diabetes mellitus: relationship to diabetic complications and glycaemic control. *Diabetologia* 1992;35: 991-995.
- 290 **Navarro JF, Mora C, Muros M, Maca M, Garca J.** Effects of pentoxifylline administration on urinary N-acetyl-beta-glucosaminidase excretion in type 2 diabetic patients: a short-term, prospective, randomized study. *Am J Kidney Dis* 2003;42:264-70
- 291 **Ellis EN, Brouhard BH, LaGrone L, Travis LB.** Urinary excretion of N-acetyl-beta-D-glucosaminidase in children with type I diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 1983;6:251-255
- 292 **Sanchez-Hueso MC, Mateo-Cañas J, Zamora-Madaria E.** Influencia del control glucémico y la nefropatía diabética incipiente sobre la excreción urinaria de n-acetil-glucosaminidasa (NAG) en la diabetes mellitus. *An Med Intern.* 1995;12:216-220
- 293 **Goi G, Burlina AB, Moreschi C, Motta G, Bairati C, Lombardo A, et al.** Enzymes of lysosomal origin in the serum of infants of diabetic mothers behavior in the first days after birth. *Acta Diabetol Lat* 1988;25:351-360.

- 294 **Price RG.** Urinary N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase (NAG) as an indicator of renal damage. En : Dubach, UC Schmidt U eds. Diagnostic significance of enzymes and proteins in urine. Bern ; Hans Huber. 1979;150-163.
- 295 **Kotanko P, Margreiter R, Paller W.** Urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase and neopterin aid in the diagnosis of rejection and acute tubular necrosis in initially nonfunctioning kidney grafts. *Nephrol* 2000;84:228-35
- 296 **Kuzniar J, Marchewka Z, Krasnowski R, Boratynska M, Dlugosz A, Klinger M.** Enzymuria and low molecular weight protein excretion as the differentiating marker of complications in the early post kidney transplantation period. *Int Urol Nephrol.* 2006;38:753-8
- 297 **Corbett CRR.** Urinary enzyme excretion after transplantation and other surgical operations. Cambridge University M Chir. Thesis. 1980
- 298 **Jankauskiene A, Druskis V, Laurinavicius A.** Cyclosporine nephrotoxicity: associated allograft dysfunction at low trough concentration. *Clin Nephrol.* 2001;56:S27-9
- 299 **Bornstein B, Arenas J, Morales JM, Praga M, Rodicio JL, Martinez A, Valdivieso L.** The nephrotoxicity de cyclosporine y crisis de rechazo: diagnosis by urinary enzyme excretion. *Nephron.* 1996;72(3):402-6.
- 300 **Ellis RB, Ikonne JU, Masson PK.** DEAE-Cellulose microcolumn chromatography coupled with automated assay : application to the resolution N-acetyl-b-d-hexominidase components. *Anal Biochem* 1975;63:5-11.
- 301 **Bartl K, Brandhuber M, Ziegenhorn J.** Improved automated kinetic determination of uric acid in serum by use of uricase/catalase/aldehyde dehydrogenase. *Clin Chem.* 1979;25:619-621
- 302 **Foster-Swanson A, Swartzentruber M, Roberts P et al.** Referente Interval Studies of the Rate-Blanked Creatinine/Jaffé Method on BM/Hitachi Systems in Six U.S. Laboratoies. *Clin Chem* 1994; Abstract No 361
- 303 **Goldstein DE, Little RR, Lorenz RA, Malone JL, Nathan D, Peterson CM.** Test of glycemia. *Diabetes Care.* 1995;18:896-909
- 304 Multicenter study of Tina-quant Albumin in urine and  $\beta$ -N-acetyl-glucosaminidase ( $\beta$ -NAG) in urine. Workshop Munich, November 29-30, 1990. *Wien Klin Wschr.* 1991;103, Supplement 189:1-64
- 305 **Levey AS, Greene T, Kusek J, Bosch JP, Group MS.** A simplicied equation to predict glomerular filtration rate from serum creatinina. *J Am Soc Nephrol.* 2000;11:Ao8228
- 306 **Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D.** A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinina: a new prediction equation. Modification of Diet in Reanal Disease Study Group. *Ann Intern Med.* 1999;130:461-70
- 307 **Horak E, Hopfer SM, Sunderman FW.** Spectrophotometric assay for urinary N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase activity. *Clin Chem.* 1981;27:1180-1185.
- 308 **Raab W.** Diagnostic value of urinary enzyme determinations. *Clin Chem;* 1972;18:5-25
- 309 **Jorde R** Ability of patients with type 1 diabetes mellitus to predict changes in HbA1c levels. *Diabet Metabol* 1999; 25: 241-245
- 310 **Kikkawara R, Koya D, Haneda A.** Progression of diabetic nephropathy. *Am J Kidney Dis* 2003;3 (Supl.3): S19-S21
- 311 **Jara Albarran A.** Nefropatía diabética. *An Med Intern* 2001;18:173-174
- 312 **U.S. Renal Data System, USRDS 2007 Annual Data Report: Atlas of Chronic Kidney Disease and End-Stage Renal Disease in the United States,** National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, Bethesda, MD, 2007.
- 313 **Rodriguez Artalejo F.** Epidemiología de la nefropatía diabética en España (hechos y cifras). *Rev Esp Cardiol.* 2007;7:A5-A8
- 314 **Estudio DRECA,** dieta y riesgo de enfermedades cardiovasculares en Andalucía. Servicio Andaluz de Salud. 1999
- 315 **Ministerio de Sanidad y Consumo. Encuesta Nacional de Salud 2003.** Disponible en: [http://www.msc.es/Diseno/sns/SNS\\_sistemas\\_informacion.htm](http://www.msc.es/Diseno/sns/SNS_sistemas_informacion.htm)
- 316 **Catalá Bauset M, Girbés Borrás JA, Lluch Verdú I, Catalá Pascual MJ, Bataller A, Ampudia Blasco FJ.** Prevalencia de diabetes en la Comunidad Valenciana. *Av Diabetol.* 2006;22 Suppl 1:25-37
- 317 **Valdés S, Rojo-Martinez G, Soringuer F.** Evaluación de la prevalencia de la diabetes tipo 2 en la población adulta española. *Med Clin.* 2007;129:352-355
- 318 **Arroyo J, Badía X, De la Calle H, Díez J, Esmatjes E, Fernandez I, et al;** Grupo po-Star. Tratamiento de los pacientes con diabetes melitus en atención primaria en España. *Med Clin (Barc).* 2005;125:166-72

- 
- 319 **Banegas JR, Segura J, Ruipole LM, Luque M, García Robles R, Campo C et al**, on behalf of the CLUE S Group Investigators. Blood pressure control and physician management in hospital hypertension units in Spain *Hypertension*. 2004;43:1338-44
- 320 **Martinez-Castelao A, De Alvaro F, Górriz JL**. Epidemiology of diabetic nephropathy in Spain. *Kidney Int* – 2005;99:S20-4
- 321 **Registre de malalts renals de Catalunya**. Informe estadistic, 2003. Generalitat de Catalunya. Barcelona: Institut Català de la Salut, 2004
- 322 **Maclsaac RJ, Tsalamandris FC, Panagiotopoulos S, Smith TJ, McNeil KJ, Jerums G**. Nonalbuminuric renal insufficiency in tipe 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2004;27:195-200
- 323 **Ärnlov J, Evans JC, Meigs JB, Wang TJ, Fox CS, Levy D et al**. Low-Grade Albuminuria and incidence of cardiovascular disease events in nonhypertensive and nondiabetic individuals. The Framingham Heart Study. *Circulation*. 2005;112:969-975
- 324 **Ritz E**. Albuminuria and vascular damage-the vicious twins. *N Engl J Med*. 2003;348:2349-52
- 325 **Adler AI, Stevens RJ, Manley SE, Bilous RW, Cull CA, Holmn RR**. Development and progression of nephropathy in type 2 diabetes: United Kingdom Prospective diabetes study (UKPDS 64). *Kidney Int* 2003;63:225-32
- 326 **Brenner BM, Bohrer MP, Baylis C, Deen WM**. Determinants of glomerular permselectivity: Insights derived from observations in vivo. *Kidney Int*. 1977;12: 229-232.
- 327 **Baggio B, Briani G, Cicerello E, Gambaro G, Bruttomesso D, Tiengo A, et al**. Urinary glycosaminoglycans, sialic acid and lysosomal enzymes increase in nonalbuminuric diabetic patients. *Nephron* 1986;43: 187-190.
- 328 **Pérez-Blanco FJ, Moreno Terribas G, Cantero Hinojosa J, Rodríguez Cuartero A**. Urinary excretion of glycosaminoglycans in patients with early diabetic nephropathy. *Nephron* 1996;73: 344-345.
- 329 **Raats I, van der Born J, Berden H**. Glomerular heparin sulphate alteration: mechanisms and relevance for proteinuria. *Kidney Int* 2000;57:385-400
- 330 **Deyneli O, Yavuz D, Velioglu A, Cacina H, Aksoy N, Haklar G, Taga Y, Aklm S**. Effects of ACE inhibition and angiotensin II receptor blockade on glomerular basement membrane protein excretion and charge selectivity in type 2 diabetic patiens. *JRAAS* 2006;7:98-103
- 331 **Wbeigert Carrion, Schleicher ED**. Biochemical aspepts of diabetic nephropathi in : Mogensen CE (ED). *The kidney and hipertension in diabetes melitus*. Kluwer Academic Publishers, Boston 2000, pp 291-306
- 332 **Sulikowska B, Olejniczak H, Muszynska M, Odrowaz G, Gaddi A, Savini Carrion, et al**. Effet of sulodexide on albuminuria NAG excretion and glomerular filtration resposen to dopamine in diabetic patients. *American Jornal of nephrology*. 2006;26:621-628
- 333 **Ruiz Ortega M, Rupérez M, Esteban V, Rodríguez-Vita J, Sanchez-López E, Carvajal G et al**. Angiotensin II: a key factor in the inflammatory and fibrotic response in kidney diseases. *Nephrol Dial Transplant*. 2006;21:16-20
- 334 **De Gasparo M, Catt KJ, Inagami T, Wright JW, Unger T**. International union of pharmacol. XXIII. The Angiotensin II receptors *Pharmacol Rev*. 2000; 52:415-72
- 335 **Dzau VJ, Mukoyama M, Pratt RE**. Molecular biology of angiotensina receptors: Target for drug research ?. *Hypertens* 1994;12 Suppl2:1-5
- 336 **Gibbons GH, Pratt RE, Dzau VJ**. Vascular smooth muscle cell hypertrophy vs hyperplasia. Autocrine transforming growth factor-beta 1 expression determines growth response to angiotensina II. *J Clin Invest*. 1992,90:456-61
- 337 **Rupérez M, Lorenzo O, Blanco-Colio L, Esteban V, Egido J, Ruiz-Ortega M**. The connective Tissue Grawth Factor is a Mediator of Angiotensin II- induced fibrosis. *Circulation*. 2003;108:1499-509
- 338 **Andersen S, Van Nieuwenhoven FA, Tamow L, Rossing P, Rossing K, Wieten L et al**. Reduction of urinary connective tissue growth factor by losartan in type 1 patients with diabetic nephropaty. *Kidney Int*. 2005;67:2325-9
- 339 **Ruiz-Ortega M, Lorenzo O, Egido J**. Angiotensin III increases MPC-1 and activates NF-κB an AP-1 in cultured mesangial cells. *Kidney Int*. 2000;57:2285-98
- 340 **Ruiz-Ortega M, Rupérez M, Lorenzo O, Esteban V, Suzuki Y, Mezzano S et al**. Angiotensin II regulatesthe synthesis of proinflammatory cytokines and chemokiness in the kidney. *Kidney Int*. 2002,82:12-22
- 341 **Dinneen SF, Gerstein HC**. The association of microalbuminuria and mortality in non-insulin-dependent diabetes mellitas:a systematic overview of the literatura. *Arch Intern Med*. 1997;157:1413-8
- 342 **Ruggenenti P, Fassi A, Ilieva AP, Bruno S, Iliev IP, Brusegan V, et al**. Preving microalbuminuria in tipe 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2004;351:1941-51

- 343 Pohl MA, Blumenthal S, Cordonnier DJ, De Alvaro F, DeFerrari G, Eisner G, et al, for the Collaborative Study Group.** Independent and Additive Impact of Blood Pressure Control and Angiotensin II Receptor Blockade on renal outcomes in de Irbesartan diabetic nephropathy Trial: Clinical Implications and limitations. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:3027-3037
- 344 De Jong P, Andersons S, De Zeeuw D.** Glomerular preload and afterload reduction as a tool to lower urinary protein leakage. *J Am Soc Nephrol.* 1993;3:1333-41
- 345 Abassi Z, Gurbanov K, Mulrone S.** Impaired nitric oxide mediated renal vasodilation in rats with experimental heart failure: role of angiotensin II. *Circulation* 1997;96:3655-64
- 346 Houlihan CA, Akdeniz A, Tsalamandris C, Cooper ME, Jerums G, Gilbert RE.** Urinary transforming growth factor beta excretion in patients with hypertension type 2 diabetes and elevated albumin excretion rate. *Diabetes Care* 2002;25:1072-77
- 347 Koulouris S, Symeonides P, Triantafyllou K, Ioannidis G, Karabinos I, Katostaras T, et al.** Comparison of the effects of ramipril versus telmisartan in reducing serum levels of high-sensitivity C-reactive protein and oxidized low-density lipoprotein cholesterol in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J cardiol.* 2005;95:1386-8
- 348 Fliser D, Buchholz K, Haller H, for the European Trial on Olmesartan and Pravastatin in inflammation and Atherosclerosis (EUTOPIA) Investigators** Antiinflammatory effects of angiotensin II subtype I receptor blockade in hypertensive patients with microinflammation. *Circulation.* 2004;110:1103-7
- 349 Mochizuki S, Dahlöf B, Shimizu M, Ikewaki K, Yoshikawa M, Taniguchi I, et al.** Valsartan in a Japanese population with hypertension and other cardiovascular disease (Jikei Heart Study): a randomised, open-label, blinded endpoint morbidity-mortality study. *Lancet.* 2007;369:1431-9
- 350 PROGRESS Collaborative Group.** Randomised trial of a perindopril-based blood-pressure-lowering regimen among 6105 individuals with previous stroke or transient ischemic attack. *Lancet.* 2001;358:1033-1041
- 351 Schrader J, Stephan L, Kulschewski A, Hammersen F, Plate K, Berger J, et al.** Morbidity and Mortality after stroke, losartan compared with nitrendipine for secondary prevention. Principal results of a prospective randomized controlled study (MOSES). *Stroke.* 2005;36:1218-1226.
- 352 Elliot WJ, Meyer PM.** Incident diabetes in clinical trials of antihypertensive drugs: a network meta-analysis. *Lancet* 2007;369:201-07
- 353 García Nieto V, Luis Yanes I, Callejón A.** Disfunción tubular proximal renal en la diabetes mellitus insulina-dependiente. *Nefrología* 2001;21(S):32-38
- 354 Andersen S, Rossing P, Juhl TR, Deinum J, Parving HH.** Optimal dose of losartan for renoprotection in diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2002;17:1413-1418
- 355 Buter H, Navis G, Dullaart RP et al.** Time course of the antiproteinuric and renal haemodynamic responses to losartan in microalbuminuric IDDM. *Nephrol Dial Transplant.* 2001;16:771-775
- 356 Tylicki L, Marcin R, Przemyslaw R, Rutkowski B, Lysiak-Szydłowska W.** Randomized, controlled study of the effects of losartan versus enalapril in small doses on proteinuria and tubular injury in primary glomerulonephritis. *Med Sci Monit.* 2005;11:PI31-37
- 357 Hollenberg NK, Parkington HH, Viberti G, Remuzzi G, Ritter S, Zelenkofske S et al.** Albuminuria response to very high-dose valsartan in type 2 diabetes mellitus. *J Hypertens.* 2007 Sep;25(9):1921-6
- 358 Adamczak M, Gross M, Krtil J, et al.** Reversal of glomerulosclerosis after high-dose enalapril treatment in subtotaly nephrectomized rats. *J Am Soc Nephrol.* 2003;14:2833-42
- 359 Pérez-Maraver M, Carrera Santaliestra MJ, Vinzia Uriach G, Micaló Durán G, Gómez Arnaiz N, Sahún de la Vega M et al.** Nefropatía diabética inicial y enfermedad cardiovascular en una población mediterránea: factores de riesgo y grado de tratamiento. *Rev Clin Esp* 2004;204:255-9
- 360 Flores L, Vidal M, Abian J, Cases A, Campistol JM, Clària J, et al.** The effects of smoking and its cessation on 8-epi-PGF2alpha and transforming growth factor-beta 1 in Type 1 diabetes mellitus. *Diabet Med.* 2004;21:285-9
- 361 Oktem F, Ozguner F, Ramazan H, Uz E, Dundar B.** Melatonin reduces urinary excretion of N-acetyl-beta-D-glucosaminidase, albumin and renal oxidative markers in diabetic rats. *Clinical and experimental Pharmacology and Physiology.* 2006;33:95-101
- 362 Ritz E, Stefanski A:** Diabetic Nephropathy in Type II diabetic. *Am J Kidney Dis.* 1996;27:167-194.
- 363 Pérez Zamora M, Benitez Camps M, Dalfó Baqué A, Codima Guscina MN, Vila Coll MA.** Cumplimiento en el grado de control de la presión arterial en la población diabética e hipertensa atendida en los centros de salud de Cataluña. ¿Qué ocurre después del diagnóstico?. *Hipertensión* 2002;19:345-350.

- 364 **García Vallejo O, Lozano JV, Vegazo O, Jiménez FJ, Rodríguez G, Alonso FJ, et al.** Situación de la presión arterial en los pacientes diabéticos atendidos en Atención Primaria. Estudio DIAPASON. *Hipertensión* 2002;19 Suppl2:8-17
- 365 **Schichiri M, Iwamoto H, Shiingai T:** Diabetic renal hypouricemia. *Arch Intern Med* 1987;147:225-228.
- 366 **Schichiri M, Iwamoto H, Marumo F.** Diabetic hypouricemia as an indicator of clinical nephropathy. *Am J Nefrol* 1990;10:115-122
- 367 **Magoula I, Tsapas G, Paletas K, Mavromatidis K:** insulin-dependent diabetes and renal hypouricemic. *Nephron* 1991;59:21-26
- 368 **Erdberg A, Poner G, van Dyk Dj, Carel R.** Urine Eric acid axcretion in patients with insulin-dependent diabetes mellitas, *Nephron* 1992;60:134-137
- 369 **Recio JM, García-Nieto V, Muñoz A, Pereyro F.** Manejo tubular renal del ácido úrico en pacientes diagnosticados de diabetes mellitas tipo I. *Nefrología* 1999;19:482-483
- 370 **Ward HJ.** Uric acid as an independent risk factor in the treatment of hypertension. *Lancet* 1998;352:670-671
- 371 **Iseki K, Oshiro S, Tozawa M, Iseki C, Ikemiya Y, Takishita S.** Significance of hyperuricemia on the early detection of renal failure in a cohort of screened subjects. *Hypertens Res* 2001;24:691-697
- 372 **Ruilope LM, García-Puig J.** Hyperuricemia and renal function. *Curr Hypertens Rep.* 2001;3:197-202
- 373 **Alderman MH, Cohen H, Madhavan S, Kinlighn S.** Serum uric acid and cardiovascular events in successfully treated hypertensive patients. *Hypertension* 1999;34:144-150
- 374 **Messerli FH, Frohlich ED, Dreslinski GR, Suarez DH, Aristimuno GC.** Serum uric acid in essential hypertension: an indicator of renal vascular involvement. *Ann Intern Med* 1980;93:817-821
- 375 **Gerhardt U, Grobe Hüttmann M, Hohage H.** Influence of hyperglycemia and hyperuricemia on long-term transplant survival in kidney transplant recipients. *Clin Transplantation* 1999;13:375-379
- 376 **Fontseré Baldellou N, Bonal I Bastons J, Romero González R.** Métodos para la estimación de la función renal. *Med Clin (Barc).* 2007;129:513-8
- 377 **Gerard SK, Khayam-Bashi M.** Characterization of creatinine error in ketotic patient. A prospective comparison of alkaline picrate methods with an enzymatic method. *Am J Clin Pathol.* 1985;84:659-64
- 378 **Gracia S, Montañés R, Bover J, Cases A, Deulofeu R, Martín de Francisco AL, Orte L M<sup>a</sup>.** Recomendaciones sobre la utilización de ecuaciones para la estimación del filtrado glomerular en adultos. *Nefrología.* 2006;26:658-665
- 379 **Payne RB.** Creatinine clearance and glomerular filtration rate. *Ann Clin Biochem.* 2000;37:98-9
- 380 **Cockcroft DW, Gault MH.** Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* 1976;16:31-41
- 381 **Piowar A, Knapik M, Fus I, Warwas M.** Urinary activities of cathepsin B, N-Acetil-Beta-D-Glucosaminidase and albuminuria inpatients with tipe 2 diabetes mellitus. *Med Sci Monit.* 2006;12:CR210-214
- 382 **Abdel Shakour S, el-Hefnawy H, el-Yamani MY, Azmi Y.** Urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase in children with diabetes as an early marker of diabetic nephropathy. *East Mediterr Health J.* 2002;8:24-30
- 383 **Ruston R, Costigan M, Shekin A, Bone J.** Proteinuria and renal tubular damage urinary N-Acetil-D-glucosaminidase and isoenzymes in dissimilar renal disease. *Am J Nephrol,* 1998;18:179-85
- 384 **Palmieri L, Cioni L, Puccini R.** Enzymuria as a marker of renal injury and disease: studies on N-acetyl-beta-glucosaminidase, alanine aminopeptidase and lysozyme in patientens with renal disease. *Contrib Nephrol* 1984;42:123-129
- 385 **Catalana C, Winocur PH, Parlongo S, Giba I, Gillespie S, Alberti KGMM:** Medida of tubular function in normoalbuminuric insulin-dependent diabetic patients and their relationship with sodium lithium countertransport activity. *Nephron* 1996;73:613-618
- 386 **Vlatkovic V, Stojimirovic B, obrenovic R.** Damage of tubule cells in diabetic nephropathy type 2: urinary N-acetil-beta-D-glucosaminidasa and gamma-glutamyl-transferasa. *Vojnosanit Pregl.* 2007;64:123-7 (solo abstract).
- 387 **Uslu S, Efe B, Alatas O, Kebapçi, Colak O, Demirüstü C, Yörük A.** Serum cystatin C and urinary enzymes as screning markers of renal dysfuntion in diabetic patients. *J Nephrol.* 2005;18:559-67.
- 388 **Dubrey SD, Mark IM, Beelham R, Richel R, Judith M, Leslie R.** Increased urinary albumin and retinol binding in tipe 1 diabetes. A study of identical twins. *Diabetes Care* 1997;20:84-89
- 389 **Salem M, El-Habashi S, Saeid O, El-Tawil M, Tawfik P.** Urinary excretion of N-acetyl-Beta-D-Glucosaminidase and retinol binding protein as alternative indicator of nephropathy inpatients with tipe 1 diabetes mellitus. *Pediatric diabetes.* 2002;3:37-41

- 390 UK prospective Diabetes Study Group.** Tight blood pressure control and risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes: UKPDS 38. *BMJ* 1998;317:703-713.
- 391 Hansson L, Zanchetti A, Carruthers SG, Dahlöf B, Elmfeldt D, Julius S et al.** Effects of intensive blood-pressure lowering and low-dose aspirin in patients with hypertension: principal results of the Hypertension Optimal Treatment (HOT) randomised trial. *Lancet*. 1998;351:1755-1762.
- 392 Brown MJ, Palmer CR, Castaigne A, De Leeuw PW, Mancina G, Rosenthal T, et al.** Morbidity and mortality in patients randomized to double blind treatment with long acting calcium channel blocker or diuretic in the International Nifedipine GITS Study: Intervention as a goal in hypertension treatment (INSIGHT). *Lancet* 2000;356:366-372
- 393 UK prospective Diabetes Study Group.** Association of systolic blood pressure with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes: UKPDS 36. *BMJ* 2000;321:412-419
- 394 Berl T, Hunsicker LG, Lewis JB, Pfeffer MA, Porush JG, Rouleau JL, et al,** for the Collaborative Study Grop: Impact of achieved blood pressure on cardiovascular outcomes in the irbesartan diabetic nephropathy trial. *J Am Soc Nephrol*. 2005;16:2170-2179
- 395 Tylicki L, Renke M, Rutkowski P, Rutkowski B.** Short-term effects of angiotensina II receptor blockade in patients with primary glomerulonephritis: pilot study. *J Ren Nutr* 2002;12:122-5
- 396 Mathiesen ER, Hommel E, Hansen HP, 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;319:24-24
- 397 Benson SC, Pershadsingh HA, Ho CI, Chittiboyina A, Desai P, Pravenec M et al.** Identification of temisartan as a unique angiotensin II receptor antagonist with selective PPARgamma-modulating activity. *Hypertension*. 2004;43:993-1002
- 398 Tuñón J, Ruiz-Ortega M, Martín-Ventura JL, Tarín N, Egido J.** Efectos pleiotrópicos de telmisartan en el paciente diabético. *Rev Esp Cardiol*. 2007;7:23<sup>a</sup>-30A
- 399 Rocco M, Chen Y, Goldfarb S, Ziyadeh F.** Elevated glucose stimulates TGF-B gene expression and bioactivity in proximal tubule. *Kidney Int*. 1992;41:107-114
- 400 Nakamura T, Fukui M, Ebihara I, Osada S, Nagaoka I, Tomino Y, et al.** mRNA expression of growth factors in glomeruli from diabetic rats. *Diabetes*. 1993;42:450-456
- 401 Campistol J, Iñigo P, Jimenez W, Lario S, Clesca PH, Oppenheimer F, Rivera F.** Losartan decreases plasma levels of TGF-β1 in transplant patients with chronic allograft nephropathy. *Kidney Int* 1999;56:714-719
- 402 Tylicki L, Biedunkiewicz B, Chamienia A, Wojnarowski K, Zdrojewski Z, Aleksandrowicz E et al.** Renal Allograft protection with Angiotensin type 1 receptor antagonists. *Am J Transplant* 2007;7:243-248
- 403 Etsmatjes E, Flores L, Iñigo P, Lario S, Ruipole LM, Campistol JM.** Effect of losartan on TGF-β1 and urinary albumin excretion in patients with type 2 diabetes mellitus and microalbuminuria. *Nephrol Dial Transplant*. 2001;16:90-93
- 404 Satoh S, Horicagua Y, Kakinuma H, Tsuchiya N, Wang L, Kato T, Habuchi T.** Clinical characteristics of normotensive renal transplant recipients with microalbuminuria and effects of angiotensin II Type 1 receptor antagonist on urinary albumin excretion. *International Journal of urology*. 2004;11:585-591
- 405 Kakizawa H, Itoh Y, Imamura S, Matsumoto T, Ishiwata Y Ono Y, et al.** Possible role of VEGF in the progression of kidney disease in streptozocin (STZ)-induced diabetic rats: effects of an ACE inhibitor and an angiotensina II receptor antagonist. *Horm Metab Res*. 2004;36:458-64
- 406 Basturk T, Altutas Y, Kurklu A, Aylin L, Eren N, Unsal A.** Urinary N-acetyl B glucosaminidase as an earlier marker of diabetic nephropathy and influence of low-dose perindopril/indapamide combination. *Ren Fail*. 2006;28(2):125-128