



FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE:
CARDIOLOGIA E CIÊNCIAS CARDIOVASCULARES

TESE DE DOUTORADO

**EFICÁCIA DA DIACEREÍNA SOBRE FUNÇÃO RENAL, CONTROLE
METABÓLICO E PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS AGUDOS EM PACIENTES
COM DIABETES MELLITUS TIPO 2, COM NEFROPATIA:
ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO**

FABIANA PIOVESAN

Porto Alegre

2015

FABIANA PIOVESAN

**EFICÁCIA DA DIACEREÍNA SOBRE FUNÇÃO RENAL, CONTROLE
METABÓLICO E PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS AGUDOS EM PACIENTES
COM DIABETES MELLITUS TIPO 2, COM NEFROPATIA:
ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO**

Orientadora: Dra. Sandra Costa Fuchs

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Medicina: Ciências Médicas, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Cardiologia e Ciências Cardiovasculares.

Porto Alegre

2015

CIP - Catalogação na Publicação

Piovesan, Fabiana

Eficácia da diacereína sobre função renal, controle metabólico e parâmetros inflamatórios agudos em pacientes com diabetes mellitus tipo 2, com nefropatia: ensaio clínico randomizado / Fabiana Piovesan. -- 2015.

55 f.

Orientadora: Sandra Cristina Fuchs.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de PósGraduação em Medicina: Ciências Médicas, Porto Alegre, BR-RS, 2015.

1. Albuminúria. 2. Diabetes mellitus. 3. Interleucinas. 4. Microalbuminúria. 5. Nefropatia do diabetes. I. Fuchs, Sandra Cristina, orient. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

**EFICÁCIA DA DIACEREÍNA SOBRE FUNÇÃO RENAL, CONTROLE
METABÓLICO E PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS AGUDOS EM PACIENTES
COM DIABETES MELLITUS TIPO 2, COM NEFROPATIA:
ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO**

Banca examinadora

Dr. Emilio Hideyuki Moriguchi

Dr. Francisco José Veríssimo Veronese

Dr. Jorge Luiz Gross

*Ninguém é tão grande que não possa aprender,
nem tão pequeno que não possa ensinar.*

(Voltaire)

Agradecimentos

- À **Deus**, pelas janelas abertas durante a caminhada.
- Aos meus pais **Luiz** e **Regina**, pela oportunidade de ser quem hoje sou e chegar até aqui.
- Ao meu marido **Alexandre** e minha filha **Valentina**, pelo apoio incondicional e compreensão nos momentos de ausência.
- Aos meus irmãos **Renata** e **Luis Felipe** e cunhados **Jorson** e **Juliana**.
- Ao sócio e amigo **Péricles Sarturi**, pela disponibilidade e apoio.
- À **Keyla Deucher** e **funcionários do Centro de Pesquisa**, pelo auxílio, atenção e paciência.
- Aos **Drs. Hugo K. Lisboa, Alexandre Tognon, Hugo Vargas, Rudah Jorge, Carlos Torres**, pelo apoio.
- À toda **equipe do Prever**, em nome da **Letícia Rafaelli** pela disponibilidade e auxílio.
- À secretária **Sirlei**, pelo auxílio, empenho, torcida e amizade.
- As estagiárias **Emilia** e **Graciane**, pelo trabalho.
- Aos **residentes de clínica médica do HSVP**, pelo empenho.
- Aos alunos **Gustavo Levinski** e **Maria Eduarda Palma**, pela ajuda dispendida.
- À **Profa. Dra. Sandra Cristina Fuchs**, orientadora deste trabalho. Agradeço a oportunidade, disponibilidade, atenção e a confiança, me possibilitando a realização desta etapa na minha vida.
- À **Faculdade de Medicina de Passo Fundo**.
- Ao **Hospital São Vicente de Paulo**.
- Ao **Laboratório Sani**.
- As Sras. **Maria do Horto** e **Clair Azevedo**, pelo auxílio.
- À amiga **Glaucia**, pela ajuda nos momentos em que senti vontade de desistir ..., não tenho palavras para expressar a gratidão por saber que podia contar sempre com a ajuda.
- Aos **pacientes**, pela colaboração durante o trabalho realizado.
- Há muito mais a quem agradecer A todos aqueles que, embora não nomeados, me brindaram com seus inestimáveis apoios em distintos momentos, o meu reconhecido e carinhoso muito obrigado!

RESUMO DA TESE

Objetivos: Diacereína melhorou o controle metabólico e reduziu os níveis de marcadores inflamatórios em ensaio clínico realizado em pacientes com diabetes melito tipo 2 (DM2). Contudo, não há evidencia sobre seu efeito em pacientes com nefropatia do diabetes (ND). Este ensaio clínico randomizado avaliou alterações sobre função renal, controle metabólico, níveis pressóricos e citocinas inflamatórias em portadores de ND.

Desenho do estudo e métodos: 72 pacientes com ND, com 18 a 80 anos, em tratamento com antidiabéticos, IECA ou BRA e 7,0-11,0% de A1C foram randomizados para receber diacereína ou placebo, sendo acompanhados por 90 dias. A análise foi realizada por intenção de tratar, investigando-se variações na razão albumina/creatinina (ACR), taxa de filtração glomerular (TFG) e controle metabólico e pressórico através de análise de variância com medidas repetidas.

Resultados: Diacereína reduziu ACR nos pacientes com proteinúria ≥ 300 mg/g, comparativamente ao grupo placebo (valor P para interação = 0,006), preveniu a elevação da glicemia (P = 0,04), reduzindo 41% (10-61%) a falta de controle metabólico. Houve redução da pressão diastólica de 24 h, pressões sistólica e diastólica durante o sono, comparativamente ao grupo placebo. No grupo diacereína observou-se redução no nível de TNF- α no percentil 75 (P = 0,05), sem alterar níveis de interleucinas, adiponectina, leptina e selectina.

Conclusões: Este ensaio clínico randomizado caracterizou a eficácia da diacereína sobre o controle metabólico e níveis pressóricos, reduzindo ACR em participantes com proteinúria, resultado exploratório que deveria ser testado em estudo desenhado para esse propósito. O impacto desses achados na preservação da função renal provavelmente devem ser corroborados por outros estudos.

Palavras chave: Albuminúria; Diabetes mellitus; Interleucinas; Microalbuminúria; Nefropatia do diabetes.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figuras da Revisão da Literatura

Figura 1	Estrutura molecular da diacereína.....	21
-----------------	--	----

Figuras do artigo

Figura 1	Diagrama de fluxo dos participantes do estudo de diacereína em nefropatia do diabetes, descrevendo seleção, randomização e acompanhamento.....	40
Figura 2	Adesão dos participantes do estudo de diacereína em nefropatia do diabetes, segundo o grupo de randomização	42
Figura 3	Variação da razão albumina/creatinina urinária entre os grupos diacereína e placebo, na linha de base e ao final do estudo, de acordo com a presença de albuminúria ≥ 300 ou < 300 mg/g (P = 0,006)	44
Figura 4	Dosagens de marcadores inflamatórios entre os grupos diacereína e placebo, na linha de base e ao final do estudo	45

LISTA DE TABELAS

Tabelas do artigo

Tabela 1	Características dos participantes na linha de base.....	41
Tabela 2	Eficácia da diacereína sobre variação de marcadores de função renal, controle do diabetes mellitus tipo 2 e níveis pressóricos	43
Tabela 3	Eficácia da diacereína, <i>versus</i> placebo, sobre controle do diabetes mellitus tipo 2.....	44
Tabela 4	Variação de níveis de adipocinas segundo o grupo de randomização.....	46
Tabela 5	Percentual de eventos adversos durante o estudo	46

LISTA DE ABREVIATURAS

ACR	Razão albumina: creatinina
ADA	<i>American Diabetes Association</i>
ADN	Adiponectina
AGEs	Produtos finais da glicosilação avançada
CKD-EPI	<i>Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration</i>
CSF-1	Fator estimulador de colônias-1
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
DRC	Doença renal crônica
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
EUA	Excreção urinária de albumina
HOMA	<i>Homeostatic Model Assessment</i>
ICAM-1	Molécula de adesão intercelular-1
IFN-γ	Interferon- γ
IL	Interleucina
INF-α	Interferon- α
KDIGO	<i>Kidney Disease: Improving Clinical Outcomes</i>
MBG	Membrana basal glomerular
MCP-1	Proteína quimioatraente de monócitos-1
MDRD	<i>Modification of Diet in Renal Disease</i>
ND	Nefropatia diabética
NF-κB	Fator nuclear kappa B
SAPK	<i>Stress-Activated Protein Kinase</i>
TFG	Taxa de filtração glomerular
TGF-β	<i>Transforming Growth Factor-β</i>
TNF-α	Fator de necrose tumoral α
VCAM-1	Molécula de adesão celular vascular-1
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 NEFROPATIA EM PORTADORES DE DIABETES MELITO	12
3 NEFROPATIA DO DIABETES: ETIOPATOGENIA	14
3.1 INFLAMAÇÃO.....	15
3.2 CITOCINAS PRÓ-INFLAMATÓRIAS E BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS.....	15
3.3 ADIPOCINAS: ADIPONECTINA, LEPTINA, RESISTINA E SELECTINA.....	17
3.4 OUTROS MECANISMOS.....	18
4 NEFROPATIA DO DIABETES: PRINCÍPIOS DO TRATAMENTO	20
5 DIACEREÍNA: EVIDÊNCIAS DE EFICÁCIA	21
5.1 ESTUDOS EM MODELO ANIMAL.....	21
5.2 ESTUDOS EM SERES HUMANOS.....	22
6 JUSTIFICATIVA	23
7 REFERÊNCIAS	24
8 OBJETIVOS	29
8.1 OBJETIVO GERAL.....	29
8.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	29
9 ARTIGO: Eficácia da diacereína sobre função renal, controle metabólico e parâmetros inflamatórios agudos em pacientes com diabetes mellitus tipo 2, com nefropatia: Ensaio clínico randomizado.....	32
RESUMO	32
INTRODUÇÃO	33
PARTICIPANTES E MÉTODOS	34
RESULTADOS	39
DISCUSSÃO	47
REFERÊNCIAS	51
10 CONCLUSÕES	55

1 INTRODUÇÃO

Diabetes mellitus tipo 2 (DM2) constitui um problema de saúde pública, e suas complicações reduzem marcadamente a qualidade de vida e elevam a mortalidade cardiovascular.¹ A prevalência global de DM2 é de aproximadamente 9%, variando de acordo com a região estudada.² Estimativas³ sugerem que o número de pessoas com diabetes no mundo deverá duplicar entre 2000 e 2030, decorrente do crescimento e envelhecimento da população, associados à elevação na prevalência de obesidade e inatividade física. A nefropatia do diabetes (ND) ocorre em 20 a 40% dos pacientes portadores de diabetes mellitus norte-americanos e constitui a principal causa de doença renal dialítica em países desenvolvidos.⁴ O mecanismo que acarreta o desenvolvimento e a progressão de dano renal pelo diabetes ainda não está completamente elucidado.

2 NEFROPATIA EM PORTADORES DE DIABETES MELLITUS

Entre os fatores que contribuem para o desenvolvimento de ND, destacam-se hiperglicemia, hipertensão, obesidade, sedentarismo, tabagismo, envelhecimento e história familiar. As principais manifestações do comprometimento renal são excreção urinária de albumina (EUA), menos frequentemente hematúria e, em muitos pacientes, doença renal crônica progressiva.^{4, 5}

Diretrizes de manejo do DM2 recomendam rastreamento anual de comprometimento renal. Contudo, avaliação exclusivamente através de EUA é insuficiente para determinar a presença e a gravidade da doença renal, necessitando calcular-se a taxa de filtração glomerular (TFG) nesses indivíduos.^{5,6} Entre os métodos disponíveis para quantificação da EUA, inclui-se a coleta de urina em 24 horas ou a amostra aleatória de urina utilizando-se a razão albumina: creatinina (ACR) ou a EUA categorizada segundo diferentes pontos de corte para a estratificação da albuminúria.^{7, 8} Devido a flutuações na excreção da albumina urinária, devem ser coletadas duas a três amostras entre três e seis meses para confirmar o comprometimento renal, determinar o grau de albuminúria e minimizar resultados falso-positivos.⁹

Microalbuminúria caracterizada pela EUA entre 30 e 300 mg/dia ou pela ACR entre 30 e 300 mg/g de creatinina obtida em amostra aleatória de urina passou a ser referida como albuminúria na nova nomenclatura, e macroalbuminúria, chamada de albuminúria severamente aumentada na nova nomenclatura, é definida pela EUA superior a 300 mg/dia ou ACR superior a 300 mg/g de creatinina, em amostra aleatória de urina. O diagnóstico de albuminúria baseia-se no aumento da EUA persistente por um período de três a seis meses. A razão albumina/creatinina urinária de 30 a 300 mg/g equivale à excreção de albumina urinária entre 30 e 300 mg/dia.⁹ Pacientes com albuminúria apresentam maior risco de progredir para proteinúria, sendo que a perda de proteína associa-se diretamente com progressiva redução na TFG, doença renal terminal¹⁰ e taxa de mortalidade.¹¹

Doença renal crônica (DRC), definida pelo *Kidney Disease: Improving Clinical Outcomes* (KDIGO), caracteriza-se pela presença de anormalidades estruturais ou funcionais renais que persistam por pelo menos três meses. As anormalidades estão centradas na presença e intensidade da excreção urinária de albumina e na taxa de filtração glomerular (ml/min por 1,73 m²). A DRC é classificada em cinco estádios de acordo com a TFG: ≥ 90 (G1), 60-89 (G2), 45-59 (G3a), 30-44 (G3b), 15-29 (G4), < 15 (G5) ml/min/1,73 m².⁹ O cálculo da TFG é realizado através de estimativas, baseadas em equações. Uma das equações mais utilizadas é a desenvolvida no estudo *Modification of Diet in Renal Disease* (MDRD)¹², sendo posteriormente adaptada para a equação chamada de *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration* (CKD-EPI).¹³

3 NEFROPATIA DO DIABETES: ETIOPATOGENIA

A etiopatogenia da ND envolve diferentes aspectos, incluindo fatores de risco, curso clínico, fatores prognósticos, progressão da injúria renal e estratégias terapêuticas, os quais têm sido amplamente investigados.^{11, 14, 15} Alterações hemodinâmicas levando à hiperfiltração e hipertensão glomerulares são achados incipientes, seguidas pela albuminúria e mudanças estruturais renais, tais como espessamento da membrana basal glomerular, hipertrofia glomerular, glomerulosclerose, expansão da célula mesangial bem como injúria e perda de podócitos.¹⁴ A expansão mesangial parece ser mediada por aumento na concentração de glicose na célula mesangial. Estudos também têm demonstrado que a hiperglicemia por si estimularia a célula mesangial a produzir matriz mesangial, levando a apoptose dessa mesma célula. O excesso de glicose leva à glicosilação não enzimática de aminoácidos livres na circulação e proteínas teciduais (chamada de reação Maillard). Esse processo não enzimático inicialmente forma produtos reversíveis e, posteriormente, produtos finais de glicação avançada (chamada de AGEs). Em pacientes diabéticos não controlados, o acúmulo desses produtos contribui para o desenvolvimento de doença renal, complicações microvasculares e processo inflamatório. Sabe-se que os AGEs estão independentemente associadas à EUA, apresentam relação direta com dano glomerular e tubular e contribuem para o desenvolvimento e a progressão da injúria renal através de vários mecanismos celulares.^{16, 17}

A visão clássica da ND caracteriza a injúria renal como decorrente de alterações metabólicas e hemodinâmicas. Entretanto, investigações genéticas e moleculares têm mostrado a complexidade da ND e indicam que a inflamação é um dos mecanismos fisiopatológicos da doença. Estudos experimentais e clínicos têm indicado o papel do processo inflamatório na patogênese da ND por mecanismos que incluem estresse oxidativo, fibrose e expressão de diversas moléculas inflamatórias.^{18, 19}

3.1 INFLAMAÇÃO

Nas últimas décadas, estudos têm apontado que baixo grau de inflamação crônica e ativação do sistema imune inato estão fortemente envolvidos na patogênese da ND. Os mecanismos implicados na atividade inflamatória da ND incluem recrutamento e ativação de células do sistema imune inato, secreção de citocinas pró-inflamatórias, aumento do número de macrófagos, linfócitos T, da expressão de heparanase, da expressão de moléculas de adesão, da expressão de fatores de crescimento e nucleares, da expansão mesangial, ativação de proteína quinase C, defeitos no sinalizante podócito-específico, menor expressão de nefrina, apoptose e necrose.^{19,20}

Pacientes diabéticos parecem exibir níveis elevados de citocinas e fatores inflamatórios, comparados com indivíduos não diabéticos.^{20,21,22} Esse conjunto de evidências sugere que a inflamação possa ser um fator chave, a qual é ativada por distúrbios metabólicos, bioquímicos e hemodinâmicos existentes em pacientes com ND.

3.2 CITOCINAS PRÓ-INFLAMATÓRIAS E BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS

Na ND, ocorre acúmulo de macrófagos e células T no glomérulo e no interstício mesmo em estágios precoces da doença. As principais citocinas produzidas são interleucina-1 (IL-1), interleucina-6 (IL-6), interleucina-18 (IL-18), bem como fator de necrose tumoral (TNF- α), interferon γ (INF- γ) e *transforming growth factor- β* (TGF- β). Estudos experimentais têm demonstrado que diversas células renais, tais como célula endotelial, mesangial, glomerular e epitelial tubular, sintetizam citocinas pró-inflamatórias. A presença de mastócitos e monócitos no interstício tubular produzindo fatores sinalizantes, TGF- β e TNF- α leva à lesão estrutural renal, alimentando o processo inflamatório e resultando em fibrose.²³⁻²⁵

As citocinas parecem atuar como polipeptídios pleiotrópicos regulando as respostas inflamatória e imune através de ação celular, as interleucinas 1, 6 e 18 induzem a formação de interleucina 8, MCP-1, INF- γ , ativação de fator nuclear kappa B (NF- κ B), migração de leucócitos e macrófagos para a área afetada e contribuem para acelerar e manter a inflamação crônica num mecanismo de retroalimentação.²⁴⁻²⁶

A IL-1 é uma citocina reguladora da resposta imune e os monócitos são sua principal fonte de produção. A IL-1 aumenta a expressão de moléculas de adesão (ICAM-1), permeabilidade endotelial, proliferação de células mesangiais com posterior aumento da síntese de matriz mesangial e é fortemente correlacionada com níveis de albuminúria. Estimula as células T e B, a liberação de outras citocinas e a degranulação de neutrófilos.^{27, 28}

A IL-6 é produzida pelas células mesangiais, endoteliais, fibroblastos, macrófagos e leucócitos. Exerce funções sobre imunidade inata, estimula crescimento de células B, induz resposta de fase aguda, promove a proliferação mesangial, leva à atrofia tubular e hipertrofia glomerular e tem correlação direta com a taxa de albuminúria (pacientes com maiores proteinúrias apresentariam níveis mais elevados de IL-6).²⁹

A IL-8, também chamada de CXCL8, é uma quimiocina cuja função é atrair polimorfonucleares para o sítio da inflamação e promover ativação de monócitos. Tem origem nos macrófagos e em certos tipos de células epiteliais.^{28, 30, 31}

A IL-18 é secretada pelos macrófagos e monócitos. Estimula a produção de INF γ e das IL-1, 6 e TNF- α , aumenta a expressão de receptores nas células mesangiais, induz apoptose endotelial e aumenta a expressão de ICAM-1.^{31, 32}

O TNF- α é produzido por monócitos, macrófagos, células T, células mesangiais, glomerulares, endoteliais e células tubulares renais e possui amplo espectro de ações celulares, tais como produção de espécies reativas de oxigênio, induzindo injúria celular, necrose, apoptose e recrutamento de macrófagos e monócitos. O TNF- α também aumenta a permeabilidade endotelial, inicia a cascata de citocinas, ativa NF κ B, ativa plaquetas, promove a retenção de sódio e leva à hipertrofia renal. Está linearmente correlacionado com os níveis de albuminúria. O TNF- α não é detectável no plasma de indivíduos normais, mas encontra-se elevado em várias doenças autoimunes e inflamatórias.³¹⁻³⁴

O TGF- β é uma citocina envolvida na fibrogênese renal, sendo que a hiperglicemia por si induz o aumento da expressão dessa citocina. É responsável pelo aumento da produção de componentes da matriz extracelular, proliferação da célula mesenquimal, indução de fibrose renal, hipertrofia celular e aumento da síntese do colágeno. Também induz a produção de citocinas pró-inflamatórias.³³

A IL-10 é o protótipo da interleucina anti-inflamatória, sendo secretada por monócitos e células B. Inibe macrófagos ativados e a ação das células *Natural Killer* e inibirregula a síntese de outras citocinas. Seu potencial terapêutico concentra-se em doenças inflamatórias crônicas, tais como as doenças autoimunes.^{30, 31, 34}

3.3 ADIPOCINAS: ADIPONECTINA, LEPTINA E RESISTINA

O tecido adiposo secreta um número de proteínas e fatores que regulam o metabolismo da glicose e dos lipídios. Algumas são chamadas de adipocinas e incluem a adiponectina, a leptina, a adiposina e a visfatina. A adiponectina (ADN) teria propriedade antiaterogênica, antioxidante e anti-inflamatória, regulando a sensibilidade à insulina, suprimindo a produção de TNF- α e reduzindo o estresse oxidativo e a adesão leucócito-endotélio. Em pacientes com DM2, os níveis séricos de adiponectina estão elevados e positivamente correlacionados com albuminúria e creatinina sérica. Assim, ainda não está claro se posterior manipulação dos níveis séricos de adiponectina acarretariam benefícios a pacientes com nefropatia do diabetes.³⁵ A leptina é um aminoácido polipeptídeo, expressado principalmente pelos adipócitos. A hiperleptinemia tem sido implicada em processos aterogênicos, produção de citocinas inflamatórias e calcificação vascular. Em alguns modelos, a leptina induziu estresse oxidativo, inflamação, hipertrofia glomerular, proliferação das células endoteliais glomerulares e células musculares lisas vasculares, aumento da expressão de TGF- β glomerular, aumento na produção de colágeno tipo IV e piora da função endotelial. Esses achados resultariam em glomerulosclerose focal, captação glomerular e mesangial da glicose e proteinúria.³⁶ A resistina promove a expressão de MCP-1, VCAM-1, endotelina-1 e proliferação de células musculares lisas vasculares. O papel da resistina na ND ainda não está bem conhecido, mas ela

parece estar elevada em pacientes portadores de DRC. As selectinas são proteínas ligadoras de carboidratos que promovem a adesão de leucócitos às células endoteliais, facilitando a passagem dessas células e desencadeando o primeiro passo da infiltração leucocitária nas lesões inflamadas. São expressas em células endoteliais ativadas, e sua expressão é induzida por citocinas pró-inflamatórias, tais como interleucina 1 e TNF- α . A expressão de E-selectina é aumentada em capilares peritubulares em pacientes com ND. Tem sido relatado que os níveis plasmáticos de E-selectina estão positivamente correlacionados com albuminúria e doença cardiovascular.³⁷

3.4 OUTROS MECANISMOS

Outros mecanismos que parecem estar envolvidos na ND incluem a produção de fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF), MCP-1, moléculas de adesão celular (CAMs), imunocomplexos de LDL oxidado e estresse oxidativo. O VEGF-A é uma citocina potente e multifuncional que atua por meio dos receptores VEGFR-1 e VEGFR-2 expressos no endotélio vascular, causando aumento da permeabilidade vascular e estímulo à neovascularização em processos fisiológicos e patológicos. As citocinas inflamatórias, os AGEs e o TGF- β representam estímulos para a produção de VEGF, o qual levaria ao aumento da albuminúria. O MCP-1 é uma proteína que promove recrutamento de macrófagos e aumenta a expressão de moléculas de adesão e de citocinas inflamatórias. As moléculas de adesão ICAM-1 e VCAM-1 são glicoproteínas de superfície celular que facilitam a adesão leucócito-endotelial e, conseqüentemente, a infiltração leucocitária em rins de pacientes diabéticos. Imunocomplexos de LDL oxidado induzem a produção de citocinas inflamatórias pelos macrófagos, sendo associados com níveis anormais de albuminúria. Estimula também a expressão de colágeno IV pelas células mesangiais.^{28, 38, 39}

Assim, tanto o insulto hemodinâmico quanto o insulto metabólico do diabetes convergem para a ativação de citocinas e moléculas inflamatórias, sendo elas moléculas-chave no processo de instalação e progressão da ND. Em última instância, todo esse processo inflamatório culmina em esclerose glomerular, fibrose e atrofia tubulointersticial, além de acúmulo de matriz extracelular e perda de podócitos, criando um círculo vicioso que pode culminar em falência do órgão.

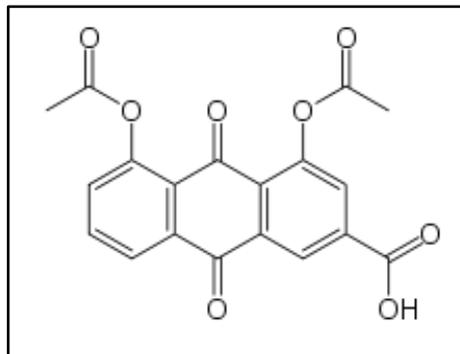
4 NEFROPATIA DO DIABETES: PRINCÍPIOS DO TRATAMENTO

Terapias disponíveis para a prevenção ou retardo na progressão da ND estão baseadas no controle metabólico rigoroso, no controle pressórico, na cessação do tabagismo, na diminuição da proteinúria e na interferência no sistema renina-angiotensina-aldosterona.⁴⁰⁻⁴² A inibição desse sistema leva à alteração no NF-κB, promovendo redução da albuminúria, independentemente do controle pressórico. Entretanto, tais estratégias ainda fornecem uma imperfeita proteção, evidenciando a necessidade de novos agentes terapêuticos. A visão da ND como uma doença inflamatória abre novas perspectivas de tratamento. Os agentes com potencial efeito nefroprotetor incluem as estatinas, a pentoxifilina, o micofenolato mofetil, o antagonista do receptor da endotelina, o inibidor de proteína quinase C e os fenofibratos. Outros medicamentos, como a berberina, a tropisetrona, o dipiridamol e a acetilcisteína, também têm sido testados.⁴³⁻⁵³

5 DIACEREÍNA: EVIDÊNCIAS DE EFICÁCIA

A diacereína (4,5 diacetoxi-9,10-dioxi-9,10-dihidroantraceno-2-ácido carboxílico) é um composto vegetal derivado da antraquinona, sintetizado em 1980, com propriedades anti-inflamatórias demonstradas em modelos experimentais em animais e utilizada no tratamento de osteoartrite em seres humanos. Seu mecanismo de ação inclui a inibição da síntese de IL-1, IL-6 e TNF- α , proteases e diminuição da produção de radicais livres de oxigênio. Não inibe a síntese de prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos, mas seus efeitos anti-inflamatórios, observados em estudos clínicos, têm sugerido que a diacereína exerce efeitos benéficos nos sintomas de osteoartrite. O metabólito ativo da diacereína é a reína, eliminada pelos rins em 20% e conjugada no fígado como reína glucoronídeo (60%) e reína sulfato (20%). A estrutura molecular da diacereína está apresentada na Figura 1.^{54, 55}

Figura 1. Estrutura molecular da diacereína



5.1 ESTUDOS EM MODELO ANIMAL

Experimentos realizados em ratos diabéticos comprovaram e estenderam os efeitos da diacereína, identificando efeito redutor de inflamação subclínica crônica em nível celular no fígado, tecido adiposo, músculo e tecidos, além de redução na produção de glicose hepática.⁵⁶ Os autores sugeriram que diacereína poderia ter utilidade no

tratamento de DM2, decorrente da inibição da inflamação promovida por citocinas (IL-1 e TNF- α), mas também pela melhoria no metabolismo da glicose hepática.⁵⁷

Em ratos não diabéticos com sepsis, a diacereína melhorou a sobrevida, inibindo a resistência insulínica sepsis-induzida e promoveu infrarregulação de sinalizantes pró-inflamatórios que culminam na secreção de IL-1, IL-6 e TNF- α . Recentemente, demonstrou-se o efeito da diacereína sobre o remodelamento cardíaco em ratos pós-infarto agudo do miocárdio.^{58, 59}

5.2 ESTUDO EM SERES HUMANOS

A microinflamação é um potencial alvo terapêutico da ND, pois evidências recentes têm mostrado que o processo inflamatório participa de sua patogênese. Não há, até o momento, nenhum medicamento com ação anti-inflamatória que melhore o prognóstico da ND. O primeiro e único ensaio clínico randomizado realizado em pacientes diabéticos, controlado por placebo, reduziu os níveis de glicemia de jejum, hemoglobina glicada e marcadores inflamatórios (IL-1 β e TNF- α) após 60 dias de administração de diacereína.⁶⁰

Enquanto há poucas evidências sobre o efeito da diacereína em indivíduos com diabetes mellitus, há inúmeros estudos realizados em pacientes com osteoartrite. Metanálise de ensaios clínicos randomizados avaliando efeito da diacereína em pacientes com osteoartrite mostrou redução leve a moderada de dor articular, com boa tolerabilidade. Os efeitos adversos mais frequentes da droga foram diarreia (leve a moderada), dor abdominal, coloração escura da urina e prurido, todos com baixa prevalência, indicando segurança da diacereína para uso clínico.⁶¹

6 JUSTIFICATIVA

Na patogênese da ND, as alterações na taxa de filtração glomerular e na excreção urinária de albumina contribuem para a progressão e perpetuação do dano renal. Ainda que o papel do tratamento do DM2 e da hipertensão estejam documentados, buscam-se alternativas para aumentar a proteção renal, minimizando o dano. A elucidação de mecanismos moleculares e bioquímicos bem como a eficácia de tratamentos com potencial efeito anti-inflamatório têm sido testadas e parecem exercer algum papel. O emprego de medicamentos que atuem sobre o processo inflamatório merece ser mais amplamente investigado, seja com vistas à prevenção ou até mesmo à regressão da lesão renal em pacientes com ND.

O efeito promissor da diacereína sobre o controle do diabetes e de marcadores inflamatórios em pacientes com DM2 sugere que a eficácia da diacereína deva ser investigada mais amplamente em pacientes com ND.

7 REFERÊNCIAS

1. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes melito. *Diabetes Care* Volume 2015;38:Supplement 1:1-99.
2. The International Diabetes Federation – seventh edition – 2015.
3. Lipscombe, LL. The US diabetes epidemic: tip of the iceberg. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2014;2:854-55.
4. Diabetic nephropathy: diagnosis, prevention and treatment. *Diabetes Care.* 2005;28:176-88.
5. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis.* 2002;39:S1.
6. Levey AS, de Jong PE, Coresh J, Nahas ME, Astor BC, Matsushita K, Gansevoort RT, Kasiske BL, Eckardt KU. The definition, classification and prognosis of chronic kidney disease: a KDIGO Controversies Conference report. *Kidney Int.* 2010;80:17-28.
7. Viana LV, Gross JL, Camargo JL, Zelmanovitz T, da Costa Rocha EP, Azevedo MJ. Prediction of cardiovascular events, diabetic nephropathy, and mortality by albumin concentration in a spot urine sample in patients with type 2 diabetes. *J Diabetes Complications.* 2012;26:407-12.
8. Incerti J, Zelmanovitz T, Camargo JL, Gross JL, de Azevedo MJ. Evaluation of tests for microalbuminuria screening in patients with diabetes. *Nephrol Dial Transplant.* 2005;20:2402-07.
9. Kidney Disease: Improving Global Outcomes 2012 Clinical Practice Guideline. *Ann Intern Med.* 2013;158:825-30.
10. Chukwuma C Sr. Type II diabetic nephropathy in perspective. *J Diabetes Complications.* 1995;9:55-67.
11. Murussi M, Campagnolo N, Beck MO, Gross JL, Silveiro SP. High-normal levels of albuminuria predict the development of micro and macroalbuminuria and increased mortality in Brazilian Type 2 diabetic patients: an 8-year follow-up study. *Diabet Med.* 2007;24:1136-42.
12. Stevens LA, Coresh J, Feldman HI, Greene T, Lash JP, Nelson RG, Rahman M, Deysher AE, Zhang YL, Schmid CH, Levey AS. Evaluation of the modification of diet in renal disease study equation in a large diverse population. *J Am Soc Nephrol.* 2007; 18:2749-57.
13. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF, 3rd, Feldman HI, Kusek JW, Eggers P, Van Lente F, Greene T, Coresh J. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med.* 2009;150:604-12.
14. Preciado-Puga MC, Malacara JM, Fajardo-Araujo ME, Wröbel K, Kornhauser-Araujo C, Garay-Sevilla ME. Markers of the progression of complications in patients with type 2 diabetes: a one-year longitudinal study. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2014;122:484-90.

15. Gross JL, de Azevedo MJ, Silveiro SP, Canani LH, Caramori ML, Zelmanovitz T. Diabetic nephropathy: diagnosis, prevention, and treatment. *Diabetes Care*. 2005;28:164-76.
16. Bakris GL. Recognition, Pathogenesis, and Treatment of Different Stages of Nephropathy in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus. *Mayo Clin Proc*. 2011;86:444-56.
17. Adler AI, Stevens RJ, Manley SE, Bilous RW, Cull CA, Holman RR for the UKPDS Group. Development and Progression of Nephropathy in Type 2 Diabetes: Observation and Modelling from the United Kingdom Prospective Diabetes Study. *Kidney International*. 2003;63:225-32.
18. Elmarakby AA, Sullivan JC. Relationship between Oxidative Stress and Inflammatory Cytokines in Diabetic Nephropathy. *Cardiovascular Therapeutics*. 2012;30:49–59.
19. Rivero A, Mora C, Muros M, Garcia J, Herrera H, Navarro-Gonzalez J. Pathogenic perspectives for the role of inflammation in diabetic nephropathy. *Clinical Science*. 2009; 116:479–92. doi:10.1042/CS20080394 479.
20. Hojs R, Ekart R, Bevc S, Hojs N. Biomarkers of Renal Disease and Progression in Patients with Diabetes. *J Clin Med*. 2015 May 19;4(5):1010-21. Navarro-González JF, Mora-Fernández C. Inflammatory Pathways. Pathogenetic Mechanisms of Diabetic Nephropathy. *Contrib Nephrol*. Basel, Karger, 2011;170:1–11.
21. Grundy SM. Pre-diabetes, metabolic syndrome, and cardiovascular risk. *J Am Coll Cardiol*. 2012;59:635–43.
22. Attallah AM, Abdelghaffar H, Fawzy A, Alghraoui F, Alijani MR, Mahmoud LA, Ghoneim MA, Helfrich GB. Cell-mediated immunity and biological response modifiers in insulin-dependent diabetes mellitus complicated by end-stage renal disease. *Int Arch Allergy Appl Immunol*. 1987;83:278-83.
23. Navarro-González JF, Mora-Fernández C. The role of inflammatory cytokines in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2008;19:433-42.
24. Shikata K, Makino H. Microinflammation in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *J Diabetes Investig*. 2013;18:142–49.
25. WADA J, MAKINO H. Inflammation and the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Clinical Science*. 2013;124:139–52. Doi: 10.1042/CS20120198.
26. Donate-Correa J, Martín-Núñez E, Muros-de-Fuentes M, Navarro-González JF. Inflammatory Cytokines in Diabetic Nephropathy. *J Diabetes Res*. 2015; 948417.
27. Hasegawa G, Nakano K, Sawada M, Uno K, Shibayama Y, Ienaga K, Kondo M. Possible role of tumor necrosis factor and interleukin-1 in the development of diabetic nephropathy. *Kidney Int*. 1991;40:1007-12.
28. Navarro-González JF, Mora-Fernández C. Diabetes, Inflammation, Pro inflammatory cytokines and diabetic nephropathy. *The Scientific World Journal*. 2006;6:908–17.
29. Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. C-reactive protein, Interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *JAMA*. 2001;18:327-34.
30. Lim AKH, Tesch GH. Mediators of Inflammation. *Inflammation in Diabetic Nephropathy*. Volume 2012, Article ID 146154, 12 pages doi:10.1155/2012/146154.

31. Voltarelli JC, Donadi EA, Carvalho IF, Arruda LK, Louzada JR P, Sarti W. *Imunologia Clínica na Prática Médica*. Ed. Atheneu, 2009.
32. Tourgeon ML. *Immunology and serology in laboratory medicine*. 4th ed. 2009.
33. Chen S, Jim B, Ziyadeh FN. Diabetic nephropathy and transforming growth factor-beta: transforming our view of glomerulosclerosis and fibrosis build-up. *Semin Nephrol*. 2003;23:532-43.
34. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Cellular and molecular immunology*. 6th ed. 2007.
35. Fujita H, Morii T, Koshimura J, Ishikawa M, Kato M, Miura T, Sasaki H, Narita T, Ito S, Kakei M. Possible relationship between adiponectin and renal tubular injury in diabetic nephropathy. *Endocr J*. 2006;53:745-52.
36. Chung FM, Tsai JC, Chang DM, Shin SJ, Lee YJ. Peripheral total and differential leukocyte count in diabetic nephropathy: the relationship of plasma leptin to leukocytosis. *Diabetes Care*. 2005;28:1710-17.
37. Galkina E, Ley K. Leukocyte Recruitment and Vascular Injury in Diabetic Nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2006;17:368-77.
38. Brosius FC, Alpersb CE. New Targets for Treatment of Diabetic Nephropathy: What We Have Learned from Animal Models. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2013;22:17–25. doi: 10.1097/MNH.0b013e32835b3766.
39. Abdelsamie SA, Li Y, Huang Y, Lee MH, Klein RL, Virella G, Lopes-Virella MF. Oxidized LDL immune complexes stimulate collagen IV production in mesangial cells via Fc gamma receptors I and III. *Clin Immunol*. 2011;139:258-66.
40. Lewis EJ, Hunsicker LG, Bain RP, Rohde RD, Collaborative Study Group. The effect of angiotensin-converting-enzyme inhibition on diabetic nephropathy. *N Engl J Med*. 1993;329:1456–62.
41. Myers BD, Meyer TW. Angiotensin-converting enzyme inhibitors in the prevention of experimental diabetic glomerulopathy. *Am J Kidney Dis*. 1989;13:20-24.
42. Parving HH, Lehnert H, Brochner-Mortensen J, Gomis R, Andersen S, Arner P. Irbesartan in Patients with Type 2 Diabetes and Microalbuminuria Study Group. The effect of irbesartan on the development of diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2001;345:870–78.
43. Tonolo G, Velussi M, Brocco E, Abaterusso C, Carraro A, Morgia G, Satta A, Faedda R, Abhyankar A, Luthman H, Nosadini R. Simvastatin maintains steady patterns of GFR and improves AER and expression of slit diaphragm proteins in type II diabetes. *Kidney International*. 2006;70:177–86.
44. Garcia FA, Rebouças JF, Balbino TQ, da Silva TG, de Carvalho-Júnior CH, Cerqueira GS, Brito GA, Viana GS. Pentoxifylline reduces the inflammatory process in diabetic rats: relationship with decreases of pro-inflammatory cytokines and inducible nitric oxide synthase. *J Inflamm (Lond)*. 2015;23:12-33.
45. Seo JW, Kim YG, Lee SH, Lee A, Kim DJ, Jeong KH, Lee KH, Hwang SJ, Woo JS, Lim SJ, Kim W, Moon JY. Mycophenolate Mofetil Ameliorates Diabetic Nephropathy in db/db Mice. *Biomed Res Int*. 2015; 301627.

46. Kim SM, Lee SH, Lee A, Kim DJ, Kim YG, Kim SY, Jeong KH, Lee TW, Ihm CG, Lim SJ, Moon JY. Targeting T helper 17 by mycophenolate mofetil attenuates diabetic nephropathy progression. *Transl Res.* 2015;166:375-83.
47. de Zeeuw D, Coll B, Andress D, Brennan JJ, Tang H, Houser M, Correa-Rotter R, Kohan D, Lambers Heerspink HJ, Makino H, Perkovic V, Pritchett Y, Remuzzi G, Tobe SW, Toto R, Viberti G, Parving HH. The endothelin antagonist atrasentan lowers residual albuminuria in patients with type 2 diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2014;25:1083-93.
48. Menne J, Shushakova N, Bartels J, Kiyon Y, Laudeley R, Haller H, Park JK, Meier M. Dual inhibition of classical protein kinase C- α and protein kinase C- β isoforms protects against experimental murine diabetic nephropathy. *Diabetes.* 2013;62:1167-74. doi: 10.2337/db12-0534. Epub 2013 Feb 22.
49. Al-Rasheed NM, Attia HA, Al-Amin MA, Al-Ajmi HN, Hasan IH, Mohamad RA, Sinjilawi NA. Renoprotective Effects of Fenofibrate via Modulation of LKB1/AMPK mRNA Expression and Endothelial Dysfunction in a Rat Model of Diabetic Nephropathy. *Pharmacology.* 2015;95:229-39. doi: 10.1159/000381190. Epub 2015 May 7.
50. Tang LQ, Ni WJ, Cai M, Ding HH, Liu S, Zhang ST. The renoprotective effects of berberine and its potential impact on the expression of β -arrestins and ICAM-1/VCAM-1 in streptozocin induced-diabetic nephropathy rats. *J Diabetes.* 2015;3.
51. Barzegar-Fallah A, Alimoradi H, Razmi A, Dehpour AR, Asgari M, Shafiei M. Inhibition of calcineurin/NFAT pathway plays an essential role in renoprotective effect of tropisetron in early stage of diabetic nephropathy. *Eur J Pharmacol.* 2015;15:152-9. doi: 10.1016/j.ejphar.2015.10.019.
52. Lee ES, Kim HM, Kang JS, Lee EY, Yadav D, Kwon MH, Kim YM, Kim HS, Chung CH. Oleanolic acid and N-acetylcysteine ameliorate diabetic nephropathy through reduction of oxidative stress and endoplasmic reticulum stress in a type 2 diabetic rat model. *Nephrol Dial Transplant.* 2015;12. pii: gfv377.
53. Elsherbiny NM, Al-Gayyar MM, Abd El Galil KH. Nephroprotective role of dipyridamole in diabetic nephropathy: Effect on inflammation and apoptosis. *Life Sciences.* 2015;143:8-17.
54. Nicolas P, Tod M, Padoin C, Petitjean O. Clinical pharmacokinetics of diacerein. *ClinPharmacokinet.* 1998;35:347-59.
55. Bambagiotti A, Bartolucci G, Coran SA, Di Vaira M. Physico-chemical and structural characterization of diacerein. *IntImmunopharmacol.* 2008;8:782-91.
56. Malaguti C, Vilella CA, Vieira KP, Souza GH, Hyslop S, Zollner Rde L. Diacerein downregulate proinflammatory cytokines expression and decrease the autoimmune diabetes frequency in nonobese diabetic (NOD) mice. *IntImmunopharmacol.* 2008;8:782-91.
57. Tobar N, Oliveira AG, Guadagnini D, Bagarolli RA, Rocha GZ, Araujo TG, Santos-Silva JC, Zollner RL, Boechat LH, Carvalheira JB, Prada PO, Saad MJ. Diacerein Improves Glucose Tolerance and Insulin Sensitivity in Mice on a High-Fat Diet. *Endocrinology* 2011;152:4080-93.

58. Calisto KL, Camacho AC, Mittestainer FC, Carvalho BM, Guadagnini D, Carvalheira JB, Saad MJ. Diacerhein attenuates the inflammatory response and improves survival in a model of severe sepsis. *Crit Care*. 2012;16:R158.
59. Torina AG, Reichert K, Lima F, de Souza Vilarinho KA, de Oliveira PP, do Carmo HR, de Carvalho DD, Saad MJ, Sposito AC; Petrucci O. Diacerein improves left ventricular remodeling and cardiac function by reducing the inflammatory response after myocardial infarction. *PLoS One*. 2015;27:e0121842.
60. Zavala M, Ortiz M, Abundis E, Cervantes J, Lopez R, Hernandez N. Effect of diacerein on insulin secretion and metabolic control in drug-naive patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2011;34:1591-4.
61. Bernhard R, Kurt N, Burkhard LF. A meta-analysis of Controlled Clinical Studies With Diacerein in the Treatment of Osteoarthritis. *Arch Intern Med*. 2006;166:1899-906.

8 OBJETIVOS

8.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito da diacereína sobre função renal, controle metabólico e pressórico e perfil inflamatório em indivíduos com DM2, portadores de nefropatia do diabetes.

8.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar a eficácia da diacereína, *versus* placebo, sobre:

- Níveis da razão albumina/creatinina urinária
- Taxa de filtração glomerular
- Redução da glicemia de jejum e hemoglobina glicada
- Alteração de marcadores inflamatórios de fase aguda (interleucina-1, interleucina-6, interleucina-8, interleucina-10 e TNF- α)
- Pressão arterial de consultório e monitorização ambulatorial de pressão arterial de 24 horas
- Secundariamente, busca-se avaliar o efeito da diacereína sobre níveis de: adiponectina, leptina e selectina

9 ARTIGO

**EFICÁCIA DA DIACEREÍNA SOBRE FUNÇÃO RENAL, CONTROLE
METABÓLICO E PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS AGUDOS EM PACIENTES
COM DIABETES MELLITUS TIPO 2, COM NEFROPATIA:
ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO**

**EFICÁCIA DA DIACEREÍNA SOBRE FUNÇÃO RENAL, CONTROLE
METABÓLICO E PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS AGUDOS EM PACIENTES
COM DIABETES MELLITUS TIPO 2, COM NEFROPATIA:
ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO**

Fabiana Piovesan,^{1,2} MD, MSc, Sandra C Fuchs,³ MD, PhD em nome dos coautores

- ¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Cardiologia e Ciências Cardiovasculares, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.
- ² Hospital São Vicente de Paulo, Univeridade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS, Brasil.
- ³ Hospital de Clínicas de Porto Alegre, National Institute of Science and Technology for Health Technology Assessment (IATS)/CNPq, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.

Título reduzido: Diacereína em nefropatia diabética

Número total de palavras: 2.946

Número total de Figuras: 4

Número total de Tabelas: 6

RESUMO

Objetivos: Diacereína melhorou o controle metabólico e reduziu os níveis de marcadores inflamatórios em ensaio clínico realizado em pacientes com diabetes mellitus tipo 2 (DM2). Contudo, não há evidência sobre seu efeito em pacientes com nefropatia do diabetes (ND). Este ensaio clínico randomizado avaliou alterações sobre função renal, controle metabólico, níveis pressóricos e citocinas inflamatórias, além de adipocinas em portadores de ND.

Desenho do estudo e métodos: 72 pacientes com ND, com 18 a 80 anos, em tratamento com antidiabéticos, IECA ou BRA e 7,0-11,0% de A1C foram randomizados para receber diacereína ou placebo, sendo acompanhados por 90 dias. A análise foi realizada por intenção de tratar, investigando-se variações na razão albumina/creatinina (ACR), taxa de filtração glomerular (TFG), controle metabólico e pressórico através de análise de variância com medidas repetidas.

Resultados: Diacereína reduziu ACR nos pacientes com proteinúria ≥ 300 mg/g, comparativamente ao grupo placebo (valor P para interação = 0,006), preveniu a elevação da glicemia (P = 0,04), reduzindo 41% (10-61%) a falta de controle metabólico. Houve redução da pressão diastólica de 24 h, pressões sistólica e diastólica durante o sono, comparativamente ao grupo placebo. No grupo diacereína observou-se redução no nível de TNF- α no percentil 75 (P = 0,05), sem alterar níveis de interleucinas, adiponectina, leptina e selectina.

Conclusões: Este ensaio clínico randomizado caracterizou a eficácia da diacereína sobre o controle metabólico e níveis pressóricos, reduzindo ACR em participantes com proteinúria, resultado exploratório que deveria ser testado em estudo desenhado para esse propósito. O impacto desses achados na preservação da função renal provavelmente devem ser corroborados por outros estudos.

Key Words: Albuminúria; diabetes mellitus; interleucinas; microalbuminúria; nefropatia do diabetes.

INTRODUÇÃO

Diabetes mellitus tipo 2 (DM2) constitui um problema de saúde pública, suas complicações reduzem marcadamente a qualidade de vida e elevam a mortalidade.¹ Estimativas^{1, 2} sugerem que o número de pessoas com diabetes no mundo deverá duplicar entre 2000 e 2030, decorrente do crescimento e envelhecimento da população, associados à elevação na prevalência de obesidade e inatividade física. O curso clínico do diabetes indica que aproximadamente 30% dos indivíduos acometidos apresentam deterioração da função renal e a nefropatia do diabetes (ND) resultante constitui a principal causa de doença renal, dialítica em países desenvolvidos.^{3, 4}

A disfunção renal se manifesta pela redução progressiva na taxa de filtração glomerular (TFG) acompanhada de aumento na excreção urinária de albumina.^{5, 6} Mecanismos fisiopatológicos subjacentes da ND incluem alterações metabólicas e hemodinâmicas sistêmicas além do processo inflamatório intrarrenal no qual participa o sistema imune, havendo secreção de citocinas, fatores de crescimento e fatores nucleares. Marcadores inflamatórios, tais como interleucina-1 (IL-1), interleucina-6 (IL-6), interleucina-18 (IL-18), bem como fator de necrose tumoral (TNF- α) e TGF- β encontram-se elevados e independentemente associados à excreção urinária de albumina.⁷⁻¹⁰ Embora não estejam completamente elucidados, os mecanismos desencadeantes de ND – incluindo estresse oxidativo, fibrose e expressão de diversas moléculas inflamatórias – parecem ser desencadeados por controle glicêmico inadequado¹¹⁻¹⁴ resultando em ativação do sistema imune inato e em um baixo grau de inflamação crônica.¹⁵⁻¹⁸

Tratamento intensivo do diabetes retarda o início e diminui a progressão da ND em pacientes com DM insulino dependentes.¹⁹ As estratégias de tratamento e prevenção de ND, porém, não são suficientes para promover completa proteção renal,²⁰⁻²² gerando ampla investigação de agentes terapêuticos coadjuvantes.²³⁻³³ Dentre esses, destaca-se a diacereína, medicamento com ação anti-inflamatória empregado no tratamento de doenças reumáticas, cujo mecanismo de ação inclui a inibição da síntese de interleucinas e TNF- α , proteases e diminuição da produção de radicais livres de oxigênio.^{34, 35} Resultados experimentais³⁶⁻⁴⁰ e provenientes de ensaio clínico randomizado,⁴¹ realizado em pacientes diabéticos, mostraram melhora do controle metabólico e efeito sobre marcadores inflamatórios. Tais efeitos permitem postular-se que a administração de diacereína poderia trazer benefícios sobre a patogênese da ND. Portanto, nesse ensaio clínico randomizado examinou-se o efeito da diacereína, comparado com placebo, sobre excreção de albumina urinária, taxa de filtração glomerular, glicemia de jejum, hemoglobina glicada, níveis pressóricos e interleucinas, além de níveis séricos de adipocinas em pacientes com DM2 com ND.

PARTICIPANTES E MÉTODOS

Desenho do estudo

Desenhou-se um ensaio clínico randomizado, controlado por placebo, com cegamento de pacientes, médicos e equipe de pesquisa, para avaliar os efeitos de diacereína (100 mg), *versus* placebo, em parâmetros de função renal, controle metabólico e pressórico e nível de interleucinas em adultos com DM2 e ND.

Participantes

Selecionaram-se participantes entre pacientes em atendimento no ambulatório de diabetes mellitus do Hospital São Vicente de Paulo, da Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS, Brasil. Consideraram-se elegíveis pacientes com DM2, com 18 a 80 anos, com diagnóstico de ND, caracterizada pela presença de albuminúria ou taxa de filtração glomerular entre 30 e 100 ml/min/1,73 m², em tratamento regular com inibidor da enzima conversora da angiotensina ou bloqueador do receptor da angiotensina e com hemoglobina glicada (A1C) entre 7,0-11,0%. Excluíram-se participantes com índice de massa corporal \geq 40 kg/m², gestantes ou lactantes, portadores de doenças reumáticas, neoplasia, história prévia de pancreatite, hipersensibilidade a reína, doença hepática ou gastrointestinal grave. O protocolo foi aprovado pelos Comitês de Ética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (GPPG no. 140235) e do Hospital São Vicente de Paulo, acreditados pelo *Office of Human Research Protections as an Institutional Review Board*. O protocolo do estudo foi registrado no *site* da Rede Brasileira de Ensaios Clínicos (no. U1111-1156-0255) e todos os participantes assinaram termo de consentimento livre e esclarecido antes da participação no estudo.

Randomização, sigilo da alocação e cegamento

A randomização foi gerada no centro coordenador, utilizando sistema automatizado baseado na *web*, disponível no *site* do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (*Research Electronic Data Capture*; REDCap), com tamanhos de blocos permutados de 4 e 6, em uma razão de 1:1. A sequência de randomização utilizou códigos alfanuméricos, disponibilizados via *web*, independentemente da equipe de pesquisa, que avaliava e alocava os participantes para os grupos intervenção ou placebo. O

cegamento foi obtido e mantido após a randomização com participantes, médicos, equipe de pesquisa e de laboratório, que aferiram os parâmetros de albuminúria e TFG, permanecendo cegados até o final do estudo.

Intervenção e controle

Participantes do grupo diacereína receberam cápsulas de 50 mg, para serem administradas em duas tomadas diárias, de 12/12 horas. Nas consultas de randomização, 30 e 60 dias após a mesma, os participantes receberam 60 cápsulas e orientação para retornarem a cada 23-25 dias. O grupo placebo recebeu orientação para manter a mesma posologia de administração do medicamento e retornar no mesmo intervalo. Diacereína e placebo foram produzidos pela indústria farmacêutica TRB-Pharma (Campinas, Brasil) que disponibilizou-os, sem ônus, para os participantes. Os medicamentos foram dispensados pelo centro de pesquisa do Hospital São Vicente de Paulo. Todos os participantes receberam recomendações sobre dieta e foram instruídos a não modificar estilo de vida e ingestão alimentar. Os participantes foram orientados a retornar para seguimento nos dias 7, 30, 60 e 90 dias após a randomização.

Procedimentos do estudo

Os pacientes potencialmente elegíveis foram avaliados em três consultas consecutivas, realizadas entre 8 e 10 horas, nas quais foram entrevistados e fizeram exames laboratoriais para confirmação de critérios de elegibilidade. As dosagens laboratoriais foram realizadas centralmente, incluindo: glicemia plasmática de jejum, hemoglobina glicada, creatinina, colesterol total e frações, triglicerídios e excreção urinária de albumina e creatinina, no centro de coleta dos dados, e insulina de jejum,

interleucinas 1 β , 6, 8, 10, TNF- α , adiponectina, leptina, selectina no laboratório vinculado ao Centro Coordenador. As dosagens de albumina e creatinina urinárias, obtidas em amostras, foram utilizadas para calcular a razão albumina/creatinina urinária; além disso, avaliou-se a presença de albuminúria categorizada em < 300 mg/g e \geq 300 mg/g. A TFG foi calculada utilizando-se a equação CKD-EPI (*Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*),⁴² que apresenta vantagens em relação a MDRD (Modificação de Dieta em Doença Renal) quanto à acurácia.⁴³ Resistência à insulina foi avaliada pelo índice HOMA IR (*Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance*).

As dosagens de glicemia, colesterol total e frações e triglicerídios foram realizadas por método enzimático e colorimétrico; creatinina foi aferida pelo método de Jaffé; insulinemia foi dosada por Elisa, hemoglobina glicada e albuminúria foram avaliadas por imunoturbidimetria. As dosagens de interleucinas foram obtidas através de plataforma Luminex (teste de imunofluorescência), enquanto os níveis séricos de selectina, leptina e adiponectina foram dosados pelo método Elisa (*Kit Invitrogene*), em duplicata de amostras.

A cada consulta fazia-se avaliação de adesão ao tratamento, através do relato de comprimidos ingeridos e da contagem do número de comprimidos retornados, além de investigarem-se eventos adversos relatados espontaneamente ou através de perguntas dirigidas. Considerou-se haver adesão se os participantes tivessem retornado menos de 20% dos comprimidos dispensados. Verificava-se a pressão arterial em duas medidas padronizadas, utilizando-se esfigmomanômetro aneroide, calibrado, MICROLIFE. Adicionalmente, avaliou-se a pressão arterial através de

monitorização ambulatorial da pressão arterial de 24 horas (MAPA 24 h), utilizando-se monitor Cardioserv, modelo DynaMAPA, versão 2007, na linha de base e ao final do estudo. Os dados foram digitados em CRF eletrônico, criado no programa REDCap.

Desfechos do estudo

Os desfechos primários foram redução na razão albumina/creatinina urinária e TFG (CKD-EPI), controle metabólico (redução da HbA1C e glicemia de jejum) e pressórico e interleucinas (redução das IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α , e elevação da IL-10) e os desfechos secundários foram níveis séricos de adiponectina, leptina e selectina. Calculou-se a taxa de falta de controle metabólico, determinada tanto por HbA1C > 7,0% quanto por glicemia de jejum > 126 mg/dl.

Segurança

Verificou-se a incidência de eventos adversos, particularmente a ocorrência de náuseas, vômitos, diarreia, dor abdominal, prurido e coloração escura da urina, além de qualquer outro sintoma em relato espontâneo.

Cálculo de tamanho de amostra e análise estatística

O tamanho da amostra foi calculado a partir de estudo que demonstrou redução de 65,2 mg/24 h na proteinúria em indivíduos com DM2 com nefropatia, após uso de IECA por dois meses, o que representou uma redução de 41,2%.⁴⁴ Não havendo estudo sobre efeito da diacereína em pacientes diabéticos com nefropatia, estimou-se o tamanho da amostra para obter poder de 80%, com p alfa de 0,05, capaz de detectar redução de pelo menos 16% na dosagem de albuminúria, totalizando uma

amostra de 30 participantes por grupo, aumentando-se para um total de 72 pacientes no estudo, caso houvesse perdas de seguimento ou a distribuição diferisse do previsto.

Realizaram-se as análises utilizando-se regressão de Poisson para desfechos dicotômicos ou análise de variância para medidas repetidas, além de regressão de Cox para cálculo de *hazard ratio* (RH) e IC95%, com ajuste para os valores basais. Calculou-se ainda a redução relativa de risco (RRR) para estimar o impacto do uso de diacereína sobre a falta de controle metabólico, através da fórmula $1-RH$. Categorizaram-se os marcadores inflamatórios nos percentis 75, a partir de pontos de corte obtidos na análise das distribuições da linha de base. Os desfechos foram analisados por intenção de tratar, imputando-se dados faltantes repetindo-se valores da última observação. Utilizou-se valor $P < 0,05$ como sendo estatisticamente significativo. Análises foram realizadas com o *software* SPSS for Windows (versão 17; SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA).

RESULTADOS

Entre setembro de 2013 e março de 2014, foram avaliados 81 participantes. Desse total, 72 preencheram os critérios de elegibilidade e foram aleatoriamente arrolados para tratamento com diacereína ($n = 36$) ou placebo ($n = 36$) (Figura 1). Na visita de 90 dias, 36 participantes do grupo placebo e 35 do grupo diacereína foram avaliados, tendo havido perda de um participante ocasionada por migração familiar.

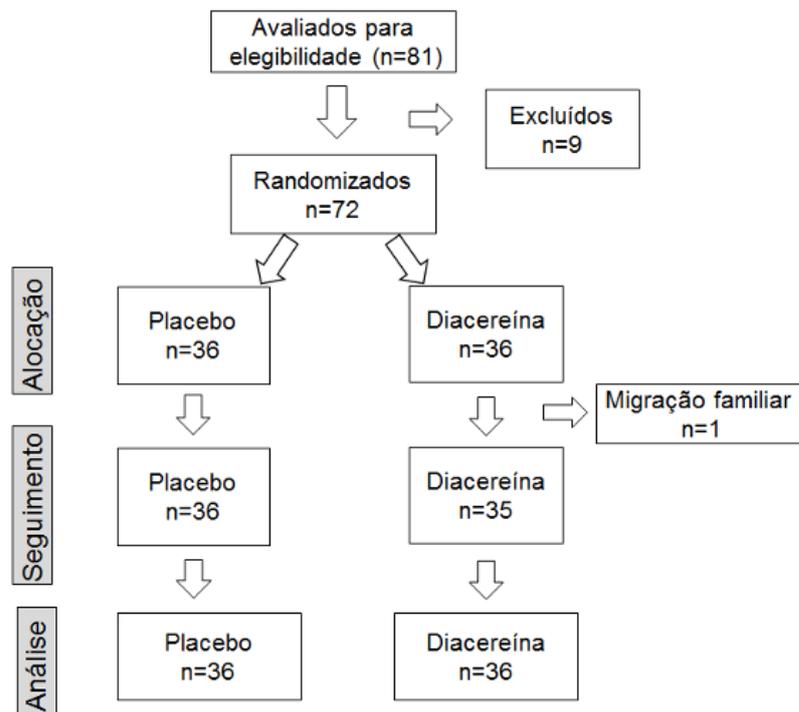


Fig. 1 - Diagrama de fluxo dos participantes do estudo de diacereína em nefropatia do diabetes, descrevendo seleção, randomização e acompanhamento.

Observa-se, na Tabela 1, que os dois grupos apresentaram características basais similares quanto a idade, escolaridade, tabagismo, hipertensão e duração do DM2. Houve maior proporção de participantes com pé diabético, albuminúria ≥ 300 mg/g, em uso de biguanidas e hipolipemiantes e BRA no grupo placebo, enquanto no grupo diacereína houve maior proporção de participantes com TFG mais elevada, em uso de insulina e IECA. A média de idade foi $61,6 \pm 11,0$ anos, mais da metade eram homens e tinham mais de sete anos de escolaridade. A Figura 2 mostra que houve adesão semelhante nos grupos de tratamento durante o seguimento, com média de 84,6%, inferindo-se que eles haviam tomado todas ou quase todas as suas pílulas de estudo.

Tabela 1. Características dos participantes na linha de base

	Diacereína (n = 36)	Placebo (n = 36)	Valor P
Idade (anos)	60,7 ± 11,8	62,5 ± 10,1	0,5
Sexo masculino	19 (52,8)	23 (63,9)	0,3
Escolaridade (anos)	7,9 ± 4,6	7,1 ± 4,2	0,5
Tabagismo atual ou prévio	15 (41,7)	12 (33,3)	0,5
Pressão sistólica (mmHg)	130,1 ± 12,7	135,8 ± 17,1	0,12
Pressão diastólica (mmHg)	74,5 ± 10,3	78,3 ± 10,8	0,13
Hipertensão arterial	20 (55,6)	19 (52,8)	0,8
Duração do DM (anos)	13,3 ± 8,7	13,4 ± 7,3	0,9
Pé diabético	2 (5,6)	5 (13,9)	0,2
Glicemia de jejum (mg/dl)	145,4 ± 68,3	141,1 ± 75,0	0,8
Hemoglobina glicada (%)	9,0 ± 1,2	8,9 ± 1,2	0,6
Razão albumina/creatinina urinária (mg/g) (md; IQ: 25-75)	80,1 (37,5-162,2)	92,9 (47,8-363,2)	0,3
Albuminúria ≥ 300 mg/g	5 (13,9)	9 (25,0)	0,2
Taxa de filtração glomerular (ml/min 1,73 m ²)	70,5 ± 21,1	63,1 ± 19,5	0,13
Creatinina (mg/dl)	1,1 ± 0,3	1,2 ± 0,3	0,06
Uso de hipoglicemiantes orais			
Sulfonilureias	11 (30,6)	16 (44,4)	0,22
Biguanidas	27 (75,0)	33 (91,7)	0,06
Outros antidiabéticos	4 (11,1)	4 (11,1)	1,0
Insulinas	25 (69,4)	19 (52,8)	0,15
Agentes hipolipemiantes	25 (69,4)	34 (94,4)	0,06
Anti-hipertensivos			
IECA	26 (72,2)	20 (55,6)	0,14
BRA	12 (33,3)	19 (52,8)	0,10

Media ± DP ou n (%) ou mediana (intervalo interquartil)

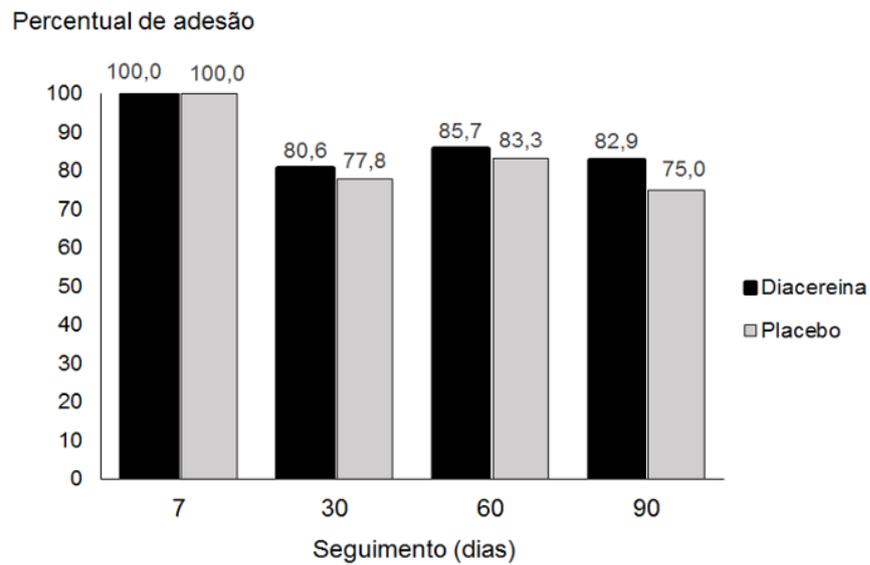


Fig. 2 - Adesão dos participantes do estudo de diacereína em nefropatia do diabetes, segundo o grupo de randomização.

A Tabela 2 mostra que não houve diferenças estatisticamente significativas entre os grupos diacereína e placebo para a maioria dos desfechos primários, incluindo razão albumina/creatinina urinária e TFG, mas houve variação na glicemia de jejum que, em média, apresentou menor elevação no grupo diacereína do que no grupo placebo ($P = 0,04$). Houve também uma redução estatisticamente significativa na pressão diastólica de 24hs e nas pressões sistólica e diastólica durante o sono.

Tabela 2. Eficácia da diacereína sobre variação de marcadores de função renal, controle do diabetes mellitus tipo 2 e níveis pressóricos

	Grupo	Linha de base (n = 36)	Seguimento (n = 36)	Valor P*
Razão albumina/ creatinina urinária (mg/g)	Diacereína	384,4 ± 156,0	128,3 ± 53,9	0,6
	Placebo	294,8 ± 156,0	164,7 ± 53,9	
Taxa de filtração glomerular (ml/min 1,73m ²)	Diacereína	70,5 ± 3,4	70,1 ± 3,6	0,3
	Placebo	63,1 ± 3,4	64,9 ± 3,6	
Creatinina (mg/dl)	Diacereína	1,1 ± 0,05	1,1 ± 0,06	0,4
	Placebo	1,2 ± 0,05	1,2 ± 0,06	
Hemoglobina glicada (%)	Diacereína	9,0 ± 0,2	8,4 ± 0,3	0,4
	Placebo	8,9 ± 0,2	8,5 ± 0,3	
Glicemia de jejum (mg/dl)	Diacereína	145,4 ± 12,0	157,2 ± 14,3	0,04
	Placebo	141,0 ± 12,0	186,3 ± 14,3	
Homa-IR	Diacereína	5,6 ± 3,8	8,8 ± 12,8	0,9
	Placebo	8,2 ± 10,8	11,9 ± 18,0	
PAS 24H	Diacereína	130,4 ± 15,0	133,0 ± 17,5	0,13
	Placebo	127,2 ± 14,1	134,8 ± 17,6	
PAD 24H	Diacereína	77,7 ± 9,3	76,7 ± 8,8	0,04
	Placebo	79,1 ± 10,3	82,0 ± 10,9	
PAS vigília	Diacereína	129,8 ± 14,4	134,6 ± 16,5	0,4
	Placebo	127,6 ± 14,2	135,5 ± 16,9	
PAD vigília	Diacereína	78,2 ± 9,6	78,3 ± 8,5	0,06
	Placebo	78,3 ± 16,0	83,6 ± 10,8	
PAS sono	Diacereína	132,1 ± 18,2	128,9 ± 19,5	0,01
	Placebo	126,0 ± 16,9	132,0 ± 21,1	
PAD sono	Diacereína	75,9 ± 10,2	72,3 ± 10,1	0,03
	Placebo	76,1 ± 12,4	77,8 ± 12,9	

Análise de variância para medidas repetidas (MANCOVA; média ± EP)

*Valor P para interação

A Tabela 3 mostra que a falta de controle do DM2, caracterizada pela anormalidade em ambos os parâmetros – glicemia de jejum e hemoglobina glicada – foi menor ao final do estudo no grupo diacereína. Em indivíduos com ND, a redução relativa de

risco indica que a administração de diacereína, associada ao tratamento com antidiabéticos, poderia reduzir em 41% (10%-61%) a falta de controle do DM2.

Tabela 3. Eficácia da diacereína, *versus* placebo, sobre controle do diabetes mellitus tipo 2

	Grupo	Linha de base n (%)	Seguimento n (%)	Hazard ratio (IC95%)	Valor P
Falta de controle metabólico	Diacereína	23 (63,9)	14 (38,9)	0,59 (0,39-0,90)	0,015
	Placebo	19 (52,8)	21 (58,3)	1,00	

RRR = 1 – HR = 0,41 (0,10-0,61)

A ocorrência de albuminúria ≥ 300 mg/g, superior no grupo placebo, na linha de base, e maior variação, observada no grupo diacereína, ao final do estudo, levaram à análise exploratória da variação da razão diacereína/creatinina urinária entre os grupos. A Figura 3 mostra que, entre a linha de base e o final do estudo, o grupo diacereína reduziu, de forma mais proeminente do que o grupo placebo, a razão albumina/creatinina urinária nos pacientes com albuminúria ≥ 300 mg/g, comparativamente aos participantes com albuminúria < 300 mg/g (valor P para interação = 0,006).

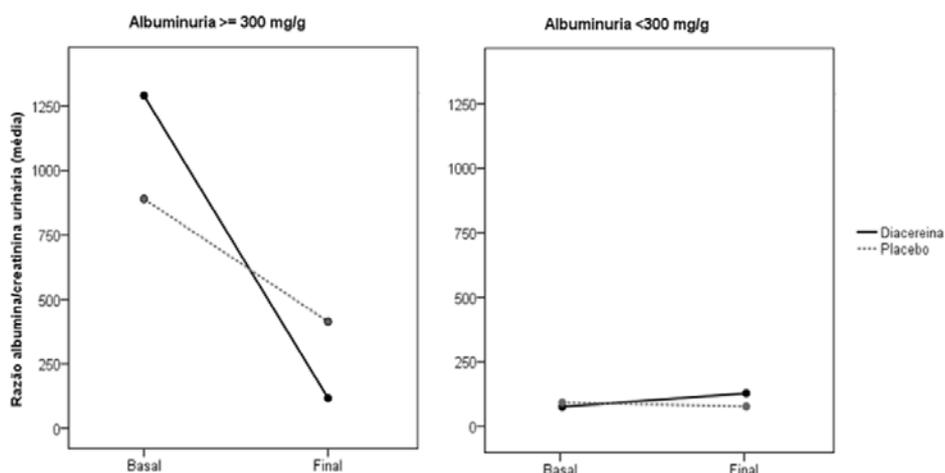


Fig. 3 - Variação da razão albumina/creatinina urinária entre os grupos diacereína e placebo, na linha de base e ao final do estudo, de acordo com a presença de albuminúria ≥ 300 ou < 300 mg/g ($P = 0,006$).

A Figura 4 mostra que a proporção de participantes dos grupos diacereína e placebo com dosagens de interleucinas no percentil 75 não variou significativamente entre a linha de base e o final do estudo, mas a variação de TNF- α apresentou valor P limítrofe.

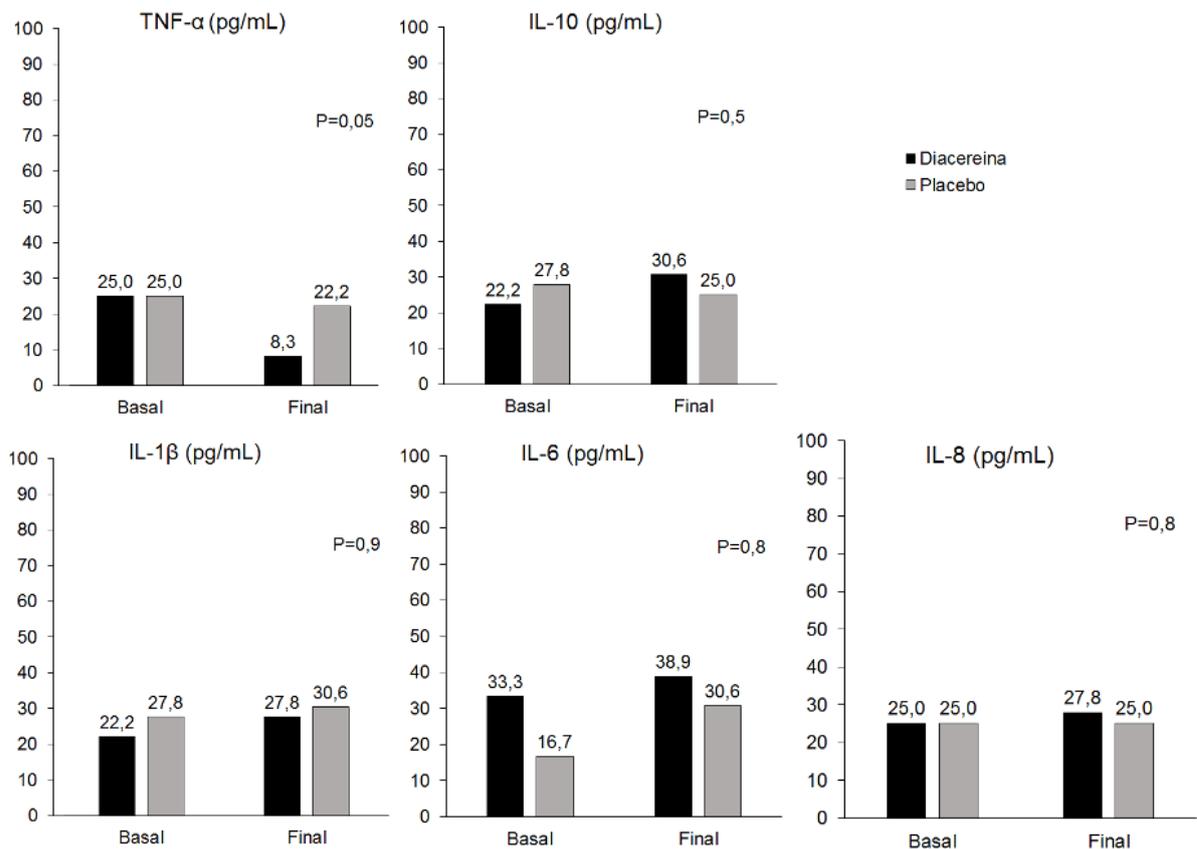


Fig. 4 - Dosagens de marcadores inflamatórios entre os grupos diacereína e placebo, na linha de base e ao final do estudo.

A Tabela 4 mostra que não houve variação significativa nos níveis séricos de adipocinas – adiponectina, leptina e selectina – entre os grupos diacereína e placebo

após uso de diacereína por 90 dias.

Tabela 4. Variação de níveis de adipocinas segundo o grupo de randomização

	Grupo	Linha de base	Seguimento	Valor P
Adiponectina (ng/ml)	Diacereína	18,0 ± 1,5	18,1 ± 1,5	0,8
	Placebo	17,2 ± 1,5	17,7 ± 1,5	
Leptina (ng/ml)	Diacereína	25,1 ± 3,4	21,4 ± 2,8	0,7
	Placebo	25,6 ± 3,4	24,4 ± 2,8	
Selectina (ng/ml)	Diacereína	52,2 ± 5,7	48,5 ± 5,9	0,3
	Placebo	58,3 ± 5,7	56,7 ± 5,9	

Análise de variância para medidas repetidas (média ± EP)

Observa-se, na Tabela 5, que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos diacereína e placebo quanto ao relato de eventos adversos.

Tabela 5. Percentual de eventos adversos durante o estudo

	Diacereína (n = 36)	Placebo (n = 36)	Valor P
Náuseas	5,7%	2,8%	0,5
Vômitos	5,7%	0,0%	0,15
Diarréia	11,4%	8,3%	0,7
Dor abdominal	8,6%	2,8%	0,3
Outros	2,9%	13,9%	0,10

DISCUSSÃO

Este é o primeiro ensaio clínico randomizado realizado em pacientes com ND que avaliou a eficácia da diacereína sobre parâmetros de função renal, controle do diabetes e de marcadores inflamatórios em portadores de ND. Os resultados do presente ensaio clínico mostram que a diacereína não apresentou efeito sobre a TFG e razão albumina/creatinina urinária, mas aumentou o controle do DM2. Embora tenha sido observada redução na razão albumina/creatinina urinária, verificada no grupo com albuminúria ≥ 300 mg/g, esse resultado decorre de análise exploratória e representa uma hipótese a ser avaliada em outro estudo. O acometimento renal estabelecido há mais tempo pode não ser responsivo a intervenção sustentada por 90 dias ou, por outro lado, pode ter sido insuficiente para exercer efeito sobre participantes com menor grau de acometimento da função renal. Como o número de participantes com albuminúria ≥ 300 mg/g foi relativamente reduzido, o resultado deve ser interpretado com cautela.

Como medicação coadjuvante do tratamento do diabetes, diacereína foi eficaz para aumentar o controle do diabetes mellitus, reduzindo a proporção de participantes com hiperglicemia e hemoglobina glicada alterada. Este resultado está de acordo com resultado prévio, observado no único ensaio clínico randomizado realizado em pacientes diabéticos.⁴¹ No entanto, os dois ensaios clínicos apresentam diferenças marcantes. Em primeiro lugar, o recrutamento no estudo prévio foi restrito a pacientes com diabetes com duração inferior a seis meses, que não haviam iniciado tratamento antidiabético, ao passo que, no presente estudo, foram arrolados participantes com nefropatia, em uso de antidiabéticos e com longa duração do

DM2. Além dessas diferenças, os 72 participantes do presente estudo foram submetidos a um curso de 90 dias com diacereína, enquanto o estudo prévio arrolou menor número de participantes, tratados com dose escalonada de diacereína e por menor período de tempo. Contudo, foi igualmente capaz de induzir decréscimo significativo na glicemia de jejum e na HBA1C, efeito possivelmente decorrente de melhoria na secreção de insulina, já que não foi observado na sensibilidade à insulina.

Nesse estudo, observou-se ainda efeito da diacereína sobre os níveis de TNF- α , que, embora apresentando significância limítrofe, estão de acordo com o verificado no estudo anterior.⁴¹ Sendo o TNF- α um indutor da cascata de citocinas, a redução desse polipeptídeo poderia predizer o efeito da diacereína sobre as demais citocinas. Detectaram-se ainda diferenças entre os grupos diacereína e placebo quanto ao uso de agentes hipolipemiantes e de biguanidas, mais frequentes no grupo placebo. Se, por um lado, a administração de diacereína não apresentou redução de citocinas e adipocinas, por outro, os medicamentos - hipolipemiantes e biguanidas - utilizados em maior proporção pelos participantes do grupo placebo podem ter resultado em atenuação do processo inflamatório e assim minimizado diferenças entre os grupos.

A base experimental que demonstrou eficácia da diacereína provém, originalmente, de experimentos realizados em ratos diabéticos, nos quais a diacereína reduziu a inflamação subclínica crônica em nível celular no fígado, tecido adiposo, músculo e tecidos, além de redução na produção de glicose hepática.^{37, 38} Os mecanismos subjacentes aos benefícios observados com o emprego da diacereína são possivelmente decorrentes de um controle da inflamação intrarrenal, com redução

da produção de interleucinas e um melhor do controle metabólico (glicêmico), levando conseqüentemente a menor dano renal. Contudo, a ausência de efeito da diacereína sobre marcadores inflamatórios não impede que uma intervenção mais prolongada talvez possa modificar tais resultados.

O uso da diacereína reduziu as pressões arteriais diastólica, tanto de 24 hs quanto no sono, e sistólica durante o sono; benefício este ainda não demonstrado em ensaios clínicos com esta medicação.

O efeito sobre o controle glicêmico associado ao baixo percentual de pacientes que relataram eventos adversos no grupo diacereína reflete que ela é bem tolerada, podendo ser usada nos pacientes com ND. O presente estudo provê dados que apoiam o uso de diacereína em pacientes com ND.

Em conclusão, pacientes com DM2, com ND estabelecida, poderiam obter maior controle do diabetes e controle pressórico se recebessem diacereína e, eventualmente, poderiam obter redução de níveis séricos de TNF- α do que os do grupo placebo. Novos estudos são necessários para corroborar estes achados em pacientes com ND, provavelmente, com maior número de indivíduos submetidos a intervenção mais prolongada.

Conflito de interesses

Todos os autores relataram não haver nenhum conflito de interesses ou divulgações financeiras associadas ao assunto deste manuscrito a serem feitas.

Financiamento e o papel dos patrocinadores

O estudo recebeu comprimidos de diacereína e placebo produzidos pela indústria farmacêutica TRB-Pharma (Campinas, Brasil). Os patrocinadores não tiveram participação na concepção e realização do estudo, na coleta, gestão, análise e interpretação dos dados, bem como na preparação, revisão ou aprovação do manuscrito.

REFERÊNCIAS

1. The International Diabetes Federation. 7th edition. Brussels; 2015.
2. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2015;38(supl 1).
3. Lipscombe LL. The US diabetes epidemic: tip of the iceberg. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2014;2:854-5.
4. Kidney Disease: Improving Global Outcomes 2012 Clinical Practice Guideline. *Ann Intern Med*. 2013;158:825-30.
5. UK Prospective Diabetes Study Group. Tight blood pressure control and risk of macro-vascular and microvascular complications in type 2 diabetes: UKPDS 38. *BMJ*. 1998;317:703-13.
6. Gross JL, de Azevedo MJ, Silveiro SP, Canani LH, Caramori ML, Zelmanovitz T. Diabetic nephropathy: diagnosis, prevention, and treatment. *Diabetes Care*. 2005;28:164-76.
7. Elmarakby AA, Sullivan JC. Relationship between Oxidative Stress and Inflammatory Cytokines in Diabetic Nephropathy. *Cardiovascular Therapeutics*. 2012;30:49-59.
8. Rivero A, Mora C, Muros M, Garcia J, Herrera H, Navarro-Gonzalez J. Pathogenic perspectives for the role of inflammation in diabetic nephropathy. *Clinical Science*. 2009;116:479-92.
9. Navarro-González JF, Mora-Fernández C. Inflammatory Pathways. Pathogenetic Mechanisms of Diabetic Nephropathy. *Contrib Nephrol Basel*. 2011;170:1-11.
10. Attallah AM, Abdelghaffar H, Fawzy A, Alghraoui F, Alijani MR, Mahmoud LA, Ghoneim MA, Helfrich GB. Cell-mediated immunity and biological response modifiers in insulindependent diabetes mellitus complicated by end-stage renal disease. *Int Arch Allergy Appl Immunol*. 1987;83:278-83.
11. Navarro-González JF, Mora-Fernández C. The role of inflammatory cytokines in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2008;19:433-42.
12. Hojs R, Ekart R, Bevc S, Hojs N. Biomarkers of Renal Disease and Progression in Patients with Diabetes. *J Clin Med*. 2015;19:1010-24.
13. Shikata K, Makino H . Microinflammation in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *J Diabetes Investig*. 2013;18:142-9.
14. WADA J, MAKINO H. Inflammation and the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Clinical Science*. 2013;124:139-52.
15. Donate-Correa J, Martín-Núñez E, Muros-de-Fuentes M, Navarro-González JF. Inflammatory Cytokines in Diabetic Nephropathy. *J Diabetes Res*. 2015;948417.

16. Hasegawa G, Nakano K, Sawada M, Uno K, Shibayama Y, Ienaga K, Kondo M. Possible role of tumor necrosis factor and interleukin-1 in the development of diabetic nephropathy. *Kidney Int.* 1991;40:1007-12.
17. Navarro-González JF, Mora-Fernández C. Diabetes, Inflammation, Pro inflammatory cytokines and diabetic nephropathy. *The Scientific World Journal.* 2006;6:908-17.
18. Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. C-reactive protein, Interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *JAMA.* 2001;18:327-34.
19. Lim AKH and Tesch GH. Inflammation in Diabetic Nephropathy. *Mediators Inflamm.* 2012;146154.
20. Lewis EJ, Hunsicker LG, Bain RP, Rohde RD; Collaborative Study Group. The effect of angiotensin-converting-enzyme inhibition on diabetic nephropathy. *N Engl J Med.* 1993;329:1456-62.
21. Myers BD, Meyer TW. Angiotensin-converting enzyme inhibitors in the prevention of experimental diabetic glomerulopathy. *Am J Kidney Dis.* 1989;13:20-4.
22. Parving HH, Lehnert H, Brochner-Mortensen J, Gomis R, Andersen S, Arner P. Irbesartan in Patients with Type 2 Diabetes and Microalbuminuria Study Group. The effect of irbesartan on the development of diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med.* 2001;345:870-78.
23. Tonolo G, Velussi M, Brocco E, Abaterusso C, Carraro A, Morgia G, Satta A, Faedda R, Abhyankar A, Luthman H, Nosadini R. Simvastatin maintains steady patterns of GFR and improves AER and expression of slit diaphragm proteins in type II diabetes. *Kidney Int.* 2006;70:177-86.
24. Garcia FA, Rebouças JF, Balbino TQ, da Silva TG, de Carvalho-Júnior CH, Cerqueira GS, Brito GA, Viana GS. Pentoxifylline reduces the inflammatory process in diabetic rats: relationship with decreases of pro-inflammatory cytokines and inducible nitric oxide synthase. *J Inflamm.* 2015;23:12-33.
25. Seo JW, Kim YG, Lee SH, Lee A, Kim DJ, Jeong KH, Lee KH, Hwang SJ, Woo JS, Lim SJ, Kim W, Moon JY. Mycophenolate Mofetil Ameliorates Diabetic Nephropathy in db/db Mice. *Biomed Res Int.* 2015;301627.
26. Kim SM, Lee SH, Lee A, Kim DJ, Kim YG, Kim SY, Jeong KH, Lee TW, Ihm CG, Lim SJ, Moon JY. Targeting T helper 17 by mycophenolate mofetil attenuates diabetic nephropathy progression. *Transl Res.* 2015;166:375-83.
27. de Zeeuw D, Coll B, Andress D, Brennan JJ, Tang H, Houser M, Correa-Rotter R, Kohan D, Lambers Heerspink HJ, Makino H, Perkovic V, Pritchett Y, Remuzzi G, Tobe SW, Toto R, Viberti G, Parving HH. The endothelin antagonist atrasentan lowers residual albuminuria in patients with type 2 diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2014;25:1083-93.

28. Menne J, Shushakova N, Bartels J, Kiyan Y, Laudeley R, Haller H, Park JK, Meier M. Dual inhibition of classical protein kinase C- α and protein kinase C- β isoforms protects against experimental murine diabetic nephropathy. *Diabetes*. 2013;62:1167-74.
29. Al-Rasheed NM, Attia HA, Al-Amin MA, Al-Ajmi HN, Hasan IH, Mohamad RA, Sinjilawi NA. Renoprotective Effects of Fenofibrate via Modulation of LKB1/AMPK mRNA Expression and Endothelial Dysfunction in a Rat Model of Diabetic Nephropathy *Pharmacology*. 2015;95:229-39.
30. Tang LQ, Ni WJ, Cai M, Ding HH, Liu S, Zhang ST. The renoprotective effects of berberine and its potential impact on the expression of β -arrestins and ICAM-1/VCAM-1 in streptozocin induced-diabetic nephropathy rats. *J Diabetes*. 2015. DOI: 10.1111/1753-0407.12349.
31. Barzegar-Fallah A, Alimoradi H, Razmi A, Dehpour AR, Asgari M, Shafiei M. Inhibition of calcineurin/NFAT pathway plays an essential role in renoprotective effect of tropisetron in early stage of diabetic nephropathy. *Eur J Pharmacol*. 2015;767:152-9.
32. Lee ES, Kim HM, Kang JS, Lee EY, Yadav D, Kwon MH, Kim YM, Kim HS, Chung CH. Oleanolic acid and N-acetylcysteine ameliorate diabetic nephropathy through reduction of oxidative stress and endoplasmic reticulum stress in a type 2 diabetic rat model. *Nephrol Dial Transplant*. 2015. DOI: 10.1093/ndt/gfv377.
33. Elsherbiny NM, Al-Gayyar MM, Abd El Galil KH. Nephroprotective role of dipyridamole in diabetic nephropathy: Effect on inflammation and apoptosis. *Life Sci*. 2015. DOI: 10.1016/j.lfs.2015.10.026.
34. Nicolas P, Tod M, Padoin C, Petitjean O. Clinical pharmacokinetics of diacerein. *ClinPharmacokinet*. 1998;35:347-59.
35. Bambagiotti A, Bartolucci G, Coran SA, Di Vaira M. Physico-chemical and structural characterization of diacerein. *IntImmunopharmacol*. 2008;8:782-91.
36. Bernhard R, Kurt N, Burkhard LF. A meta-analysis of Controlled Clinical Studies With Diacerein in the Treatment of Osteoarthritis. *Arch Intern Med*. 2006;166:1899-06.
37. Malaguti C, Vilella CA, Vieira KP, Souza GH, Hyslop S, ZollnerRde L. Diacerein downregulate proinflammatory cytokines expression and decrease the autoimmune diabetes frequency in nonobese diabetic (NOD) mice. *IntImmunopharmacol*. 2008;8:782-91.
38. Tobar N, Oliveira AG, Guadagnini D, Bagarolli RA, Rocha GZ, Araujo TG, Santos-Silva JC, Zollner RL, Boechat LH, Carvalheira JB, Prada PO, Saad MJ. Diacerein Improves Glucose Tolerance and Insulin Sensitivity in Mice on a High-Fat Diet. *Endocrinology*. 2011;152:4080-93.
39. Calisto KL, Camacho AC, Mittestainer FC, Carvalho BM, Guadagnini D, Carvalheira JB, Saad MJ. Diacerein attenuates the inflammatory response and improves survival in a model of severe sepsis. *Crit Care*. 2012;16:R158.

40. Torina AG, Reichert K, Lima F, Vilarinho KAS, de Oliveira PP, do Carmo HR, de Carvalho DD, Saad MJ, Sposito AC, Petrucci O. Diacerein improves left ventricular remodeling and cardiac function by reducing the inflammatory response after myocardial infarction. *PLoS One*. 2015;10(3):e0121842.
41. Zavala M, Ortiz M, Abundis E, Cervantes J, Lopez R, Hernandez N. Effect of diacerein on insulin secretion and metabolic control in drug-naive patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2011;34:1591-4.
42. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF, 3rd, Feldman HI, Kusek JW, Eggers P, Van Lente F, Greene T, Coresh J. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med*. 2009;150:604-12.
43. Stevens LA, Coresh J, Feldman HI, Greene T, Lash JP, Nelson RG, Rahman M, Deysher AE, Zhang YL, Schmid CH, Levey AS. Evaluation of the modification of diet in renal disease study equation in a large diverse population. *J Am Soc Nephrol*. 2007;18:2749-57.
44. Cetinkalp SS, Karadeniz MM, Erdogan MA, Ozgen GA, Yilmaz CO. Short-term effects of irbesartan treatment on microalbuminuria in patients with normotensive type 2 diabetes. *Saudi Med J*. 2008;29:1414-8.

10 CONCLUSÕES

Os propósitos deste estudo foram avaliar se o efeito positivo da diacereína sobre o controle metabólico, observado nos pacientes com diabetes mellitus, seria reproduzido em pacientes com nefropatia do diabetes e avaliar, também, se a diacereína exerceria efeito sobre parâmetros de controle da nefropatia do diabetes (microalbuminúria e filtração glomerular), níveis pressóricos e os marcadores inflamatórios.

O presente estudo provê dados que apoiam o uso de diacereína em pacientes com nefropatia do diabetes e novos estudos são necessários para corroborar estes achados em pacientes com ND, provavelmente, com maior número de indivíduos submetidos a intervenção mais prolongada.