

Universidade Estadual de Campinas

Faculdade de Ciências Médicas

**EFEITO DO ENALAPRIL NA ALBUMINÚRIA DE PACIENTES
COM DOENÇA FALCIFORME**

Aluna:
Regina Yoko Aoki

Tese de Mestrado apresentada no curso
de Pós Graduação em Medicina na área
de Medicina Interna da Faculdade de
Ciências Médicas da Universidade
Estadual de Campinas

Orientador:
Prof. Dra. Sara T. O. Saad

Campinas
1995

UNIDADE	PC
N.º CHAMADA:	A432
V.	Ex.
TEMPO BC	26.392
PREC.	667/96
C	☐
D	☒
PRECIO	8811,00
DATA	13/04/96
N.º CPD	

CM 000 82562-2

FICHA CATALOGRAFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIENCIAS MEDICAS - UNICAMP

Aoki, Regina Yoko
A43e Efeito do enalapril na albuminuria de pacientes com anemia
falciforme / Regina Yoko Aoki. Campinas, SP : [s.n.], 1995.

Orientador : Sara T.O. Saad
Tese (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciencias Medicas.

1. Enalapril. 2. Albuminuria. 3. Anemia falciforme. 1.
Saad, Sara T.O. II. Universidade Estadual de Campinas. Facul-
dade de Ciencias Medicas. III. Titulo.

Banca examinadora da Dissertação de Mestrado

Orientador: Profa. Dra. Sara Terezinha Olalla Saad

Membros:

1.



2.



3.



Curso de pós-graduação em Medicina, área Medicina Interna da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 31/10/95

aos meus pais

AGRADECIMENTOS

Prof. Dra Sara Teresinha O. Saad pela orientação, estímulo e paciência durante estes anos.

A minha amiga Tereza Sueko Ide Salles pelas valorosas orientações técnicas, nos momentos de dúvidas.

Ao Professor Dr. Valdir E. Garcia pela colaboração na análise dos resultados do clearance e fração de excreção de lítio.

A Professora Dra. Nelci Fenalti Hoeher pelas orientações para o aprendizado das técnicas para a análise bioquímica.

A Cármen Lúcia Rodrigues Arruda pela confecção dos gráficos e pelas orientações na editoração final da tese.

Ao Dr. Marco Antonio Herculano pelas orientações em informática e pela confecção dos slides.

Ao meu amigo João Augusto F. Gonçalves pelo apoio emocional e profissional.

SUMÁRIO

LISTAS TABELAS	2
FIGURAS	3
RESUMO	4
INTRODUÇÃO	6
PACIENTES E MÉTODOS	
Pacientes	11
Métodos	
Hematimetria	16
Estudo das hemoglobinas	16
Pressão arterial média	17
Concentração de albumina urinária	18
Proteinúria de 24 h	19
Clearance de creatinina	19
Eletrólitos	20
Fração de excreção e clearance de lítio	21
Análise estatística	21
RESULTADOS	
Frequência da albuminúria	23
Função renal dos pacientes submetidos ao tratamento	23
Efeito do enalapril na função renal	28
Acompanhamento sequencial	28
DISCUSSÃO	50
CONCLUSÃO	59
SUMMARY	60
ANEXOS	
Trabalhos publicados	
• <i>Microalbuminuria in sickle cell disease</i>	
• <i>Enalapril reduces the albuminuria of patients with sickle cell disease</i>	
BIBLIOGRAFIA	62

LISTAS

TABELAS

Tabela I. Características clínicas e hematológicas dos pacientes com doenças falciformes submetidos à investigação de albuminúria.....	13
Tabela II. Características clínicas e hematológicas dos indivíduos do grupo controle.....	15
Tabela III. Valores da concentração de albumina urinária e o coeficiente de variação nas diversas amostras do mesmo indivíduo	25
Tabela IV. Coeficiente de variação da concentração de albumina urinária em 2 ensaios realizados com a mesma amostra de urina.....	27
Tabela V. Pressões arteriais médias e dados laboratoriais dos indivíduos do grupo controle.....	30
Tabela VI. Pressão arterial média no período do uso de placebo	31
Tabela VII. Pressão arterial média no período do uso de enalapril	31
Tabela VIII. Concentração de albuminúria no período do uso de placebo	33
Tabela IX. Concentração de albuminúria no período do uso de enalapril.....	33
Tabela X. Proteinúria de 24 horas no período do uso de placebo	35
Tabela XI. Proteinúria de 24 horas no período do uso de enalapril.....	35
Tabela XII. Clearance de creatinina no período do uso de placebo.....	37
Tabela XIII. Clearance de creatinina no período do uso de enalapril	37
Tabela XIV. Sódio sérico no período do uso de placebo.....	39
Tabela XV. Sódio sérico no período do uso de enalapril.....	39
Tabela XVI. Fração de excreção de sódio no período do uso de placebo	41
Tabela XVII. Fração de excreção de sódio no período do uso de enalapril.....	41
Tabela XVIII. Potássio sérico no período do uso de placebo	43
Tabela XIX. Potássio sérico no período do uso de enalapril.....	43
Tabela XX. Fração de excreção de potássio no período do uso de placebo	45
Tabela XXI. Fração de excreção de potássio no período do uso de enalapril.....	45
Tabela XXII. Valores do clearance de lítio, fração de excreção de lítio nos pacientes antes e depois do uso de enalapril	47

FIGURAS

Figura 1. Valores da concentração de albumina urinária de todos os participantes do estudo.....	24
Figura 2. Pressão arterial média dos participantes do tratamento com enalapril.....	32
Figura 3. Concentração de albumina urinária dos participantes do tratamento com enalapril.....	34
Figura 4. Proteinúria de 24 horas dos participantes do tratamento com enalapril.....	36
Figura 5. Clearance de creatinina dos participantes do tratamento com enalapril.....	38
Figura 6. Sódio sérico dos participantes do tratamento com enalapril.....	40
Figura 7. Fração de excreção de sódio dos participantes do tratamento com enalapril.....	42
Figura 8. Potássio sérico dos participantes do tratamento com enalapril.....	44
Figura 9. Fração de excreção de potássio dos participantes do tratamento com enalapril.....	46
Figura 10. Valores do clearance de lítio dos participantes do tratamento com enalapril.....	48
Figura 11. Valores da fração de excreção de lítio dos participantes do tratamento com enalapril.....	49

RESUMO

Os inibidores da enzima conversora da angiotensina II (o captopril e o enalapril) têm sido utilizados para reduzir a microalbuminúria, a proteinúria não nefrótica e a proteinúria nefrótica nos diabéticos, e nos portadores de estenose renal, arteriolonefroesclerose e insuficiência renal de outras etiologias. Esta redução se deve às alterações nas pressões dos fluxos renais, diminuindo possivelmente o tono da arteriola eferente glomerular, reduzindo assim a pressão hidrostática intraglomerular. A abertura de novos capilares glomerulares redistribuiriam os fluxos plasmáticos renais, modificando a permeabilidade e seletividade das membranas basais, e o transporte das macromoléculas pelas células mesangiais. Estes fatores diminuiriam a expansão do mesângio e assim reduziriam a proteinúria, com melhora, algumas vezes, do quadro histológico.

Este trabalho teve como objetivo avaliar a frequência de microalbuminúria em pacientes com doenças falciformes e o efeito do uso prolongado de inibidores da enzima conversora da angiotensina (ENALAPRIL) na concentração de albumina urinária desses pacientes.

Para a pesquisa da frequência da albuminúria nas doenças falciformes, a medida da concentração de albumina urinária foi determinada por radioimunoensaio, em três amostras da primeira urina do dia, coletadas com intervalo de 15 a 30 dias. Foram estudados 10 controles negróides normais e 56 pacientes portadores de hemoglobinopatias S (42 SS, 10 SC, 4 Sβ) e desses 22 (19 SS, 2 SC e 1 Sβ) apresentaram concentração de albumina urinária maior do que 30 mg/l nas 3 amostras testadas.

Para avaliação da resposta ao uso de enalapril, nove pacientes (8 SS, 1 Sβ) com concentração de albumina urinária anormal, receberam placebo (Complexo B) durante 60 dias e a seguir enalapril (Renitec®) 5mg ao dia por 180 dias (6 meses), e foram reavaliados a cada 15 ou 30 dias. Observamos que houve redução significativa da concentração de albumina urinária durante o uso da medicação (Renitec®), com normalização dos valores da albuminúria em 6 pacientes. Num paciente que abandonou o trabalho no terceiro mês de seguimento, observamos uma redução de 70% na albumina urinária em relação aos níveis pré-tratamento. Em 2 pacientes, cujos níveis da albumina urinária excederam o limite de sensibilidade do nosso método, não se observou redução concentração de albumina urinária. Dois anos após a suspensão da droga, a

concentração de albumina urinária se manteve nos níveis normais em 2 pacientes; em 2 doentes, voltou aos valores pré-tratamento, e nos demais indivíduos que participaram do estudo, assim como em 2 indivíduos que não utilizaram a droga, houve aumento da concentração de albumina urinária em relação aos níveis iniciais.

O clearance de creatinina e lítio, fração de excreção de sódio, potássio e lítio, assim como o sódio e o potássio sérico, não se alteraram durante o uso do enalapril. Entretanto houve redução da pressão arterial média ($70,4 \pm 5,5$ mmHg $\times$ $61,7 \pm 3,4$ mmHg $p = 0,004$).

Nossos resultados demonstram que o enalapril reduz a concentração de albumina urinária nos pacientes com anemia falciforme. Entretanto, após a suspensão da medicação, a albumina urinária pode aumentar. Estudos prospectivos de longa duração são necessários para avaliar se o uso dos inibidores da enzima conversora da angiotensina pode retardar o desenvolvimento da insuficiência renal crônica em pacientes com doenças falciformes.

INTRODUÇÃO

As hemoglobinopatias S têm ampla distribuição, abrangendo todos os continentes, principalmente a África e as Américas. Estima-se que aproximadamente 25% da população negróide africana seja constituída por heterozigotos S (Motulsky, 1973). Esta alta frequência deve-se provavelmente à vantagem seletiva dos indivíduos portadores do gene para hemoglobina S quando infectados pelo *Plasmodium falciparum* (Antonarakis e cols, 1984). No Brasil, a frequência do heterozigoto S na população negróide do sul e sudeste brasileiro é de 6,6% (Ramalho, 1986). Esta hemoglobina anômala é decorrente da mutação simples no códon para o sexto amino-ácido da cadeia β globina (GTG→GAG) (Bunn e Forget, 1986). Esta troca de amino-ácidos (Ácido glutâmico pela Valina) confere alterações físico-químicas às moléculas de hemoglobina, principalmente na sua forma desoxigenada, com formação de polímeros intracelulares e consequente deformação dos eritrócitos originando as clássicas "hemácias falcizadas" (Jandl, 1987).

Repetidos ciclos de polimerização, geralmente desencadeadas por infecções, desidratação, acidose e hipóxia (Serjeant, 1992), levam a alterações irreversíveis na membrana do eritrócito, que associadas às alterações na aderência ao endotélio vascular (Hebbel e cols, 1980 e 1981; Mohandas, 1984; Wick e cols, 1987), são responsáveis pelas manifestações orgânicas dos portadores desta hemoglobinopatia na forma homozigótica (SS) ou duplamente heterozigótica (S β e SC), tais como anemia moderada ou grave, hemólise, crises vaso-oclusivas acompanhadas de dores ósseas, musculares e abdominais; e úlceras nos membros inferiores. Vários fatores contribuem para a diversidade da sintomatologia nas doenças falciformes, entre eles, a concentração intracelular da hemoglobina S (Noguchi e Schechter, 1981), a concentração da hemoglobina fetal (Powars e cols, 1984), associação com outras hemoglobinopatias (Embry e cols, 1984), afinidade pelo O₂ (Stamatoyannopoulos e cols, 1987), anormalidades estruturais e funcionais da membrana (Schechter e Bunn, 1982), interações anormais entre as células falciformes e endotélio vascular (Hebbel e cols, 1981) e possivelmente os haplótipos da hemoglobina S (Powars e cols, 1990; Costa e cols, 1994).

O comprometimento renal nos portadores de hemoglobinopatia S é descrito desde a primeira publicação por Herrick em 1910. Nas crianças e adultos jovens portadores de anemia falciforme encontra-se aumento dos valores do fluxo sanguíneo renal efetivo e da taxa de filtração glomerular (Etteldorf e cols, 1955). Este aumento não pode ser explicado apenas pela anemia já que múltiplas transfusões de hemácias não reduzem a taxa de filtração glomerular supra normal; de Jong e cols (1980) postularam que, em resposta à isquemia, o tecido medular renal secretaria grande quantidade de prostaglandinas (substância vasodilatadora), que contribuiria para o aumento da taxa de filtração glomerular. Corroborando esta hipótese, Allon e cols (1988) demonstraram que o uso de antiinflamatório oral não hormonal "que inibe a síntese de prostaglandinas", reduz a taxa de filtração glomerular em 14 a 16%. Com a evolução da doença, a taxa de filtração glomerular cai e a insuficiência renal é causa de óbito em cerca de 22% dos portadores de anemia falciforme com mais de 30 anos (Morgan e Serjeant, 1981).

Nas crianças, a hiperfiltração promove aumento nas dimensões dos glomérulos, principalmente os justa medulares. Nos adultos, tanto o tamanho do glomérulo quanto a área total glomerular por unidade de córtex é maior (Elfenbein e cols, 1974). Nesses pacientes, Tejani A e cols em 1985 observaram alta prevalência de glomeruloesclerose com perda progressiva da função renal. Estudos recentes da circulação periférica de pacientes com anemia falciforme demonstram que o hiperfluxo é um fenômeno generalizado (Saad e Zago, 1991).

As alterações medulares decorrem dos distúrbios na microcirculação vascular (de Jong e Statius van Eps, 1985). A medula renal é relativamente hipóxica e o fluxo sanguíneo é lento. Estes fatores favorecem a falcização, aumentam a viscosidade e promovem uma maior lentidão do fluxo (Alleyne e cols, 1975). Estudos micro-radio-angiográficos demonstram ausência da vasa recta, e as poucas veias remanescentes são espirais e dilatadas; apenas os néfrons corticais são funcionantes. As alças de Henle curtas e a perda funcional dos néfrons justamedulares determinam defeitos na troca de água e eletrólitos (de Jong e Statius van Eps, 1985). Assim, são descritas alterações da função tubular distal como os defeitos na concentração urinária (de Jong e Statius van Eps, 1985), acidose tubular distal incompleta (Oster e cols, 1976), diminuição na excreção de potássio (de Fronzo e cols, 1979) e alterações da função tubular proximal, como o aumento na reabsorção de

fosfato (de Jong e cols, 1978), da β_2 -microglobulina (de Jong e cols, 1981), aumento na secreção do ácido úrico (Diamond e cols, 1975 e de Ceulaer e cols, 1981) e da creatinina (de Jong e cols, 1980).

Na histologia observa-se dilatação das áreas microvasculares dos capilares glomerulares e do plexo vascular intersticial, isquemia, fibrose glomerular, edema medular, fibrose intersticial, depósitos focais de hemossiderina nos túbulos e necrose (de Jong e Statius van Eps, 1985). Entretanto, Falk e cols (1992) observaram que a lesão mais proeminente é a expansão glomerular, a glomeruloesclerose focal segmentar perihilar e hemossiderose. O envolvimento renal pode ainda se manifestar por síndrome nefrótica; neste caso há glomerulonefrite membrano-proliferativa com expansão mesangial. A lesão renal associa-se, menos frequentemente, a glomerulonefrite pós-estreptocócica induzida por anticorpos anti-antígenos do epitélio do túbulo renal e atrofia tubular (Strauss e cols, 1986; Falk e cols, 1992).

Tanto as lesões tubulares quanto as glomerulares podem ser acompanhadas por proteinúria, que ocorre em aproximadamente 1/3 dos portadores de anemia falciforme (Nicholson, 1977). Normalmente a maioria das proteínas plasmáticas são filtradas no glomérulo e reabsorvidos ativamente no túbulo renal proximal (Rennie, 1971). O aparecimento da proteinúria se dá quando há aumento da permeabilidade glomerular por aumento no tamanho dos poros, do número dos poros ou por alterações nas cargas elétricas da membrana basal; pode também ocorrer diminuição na reabsorção protéica tubular por alterações hemodinâmicas, por doenças tubulares ou doenças renais intersticiais (Waller, 1989). Cerca de 64,5% das proteinúrias nas hemoglobinopatias S são do tipo glomerular seletivo, enquanto as alterações não seletivas são encontradas apenas em adultos, 12,6% do tipo tubular e em 22,9% de padrão misto (Lonsdorfer, 1989). Morgan em 1985, postulou que as úlceras dos membros inferiores poderiam ser marcador da lesão renal, pois observou coincidência entre a presença de úlceras e proteinúria.

Semelhante à anemia falciforme, na fase precoce do *Diabetes mellitus* as alterações hemodinâmicas levam à hiperfiltração glomerular e aumento da pressão glomerular (Viberti-a, 1988). Aparentemente, no *Diabetes mellitus*, a microalbuminúria ou a concentração de albumina urinária maior do que 30 mg/l é se presente, um marcador precoce da evolução clínica (Howey e

cols, 1989 e Marre, 1990), e correlaciona-se com risco progressivo do declínio da função glomerular (Mogensen e Christiansen, 1984) e/ou aumento da incidência de doenças cardiovasculares e diminuição na expectativa de vida (Ravid e cols, 1993).

Alguns estudos demonstram que o controle da hipertensão arterial retarda a progressão da nefropatia diabética; com a queda na pressão arterial sistêmica, haveria uma queda na pressão glomerular capilar (Parving e cols, 1983 e Benedetti e Linas, 1987). Entretanto, nem todos os agentes antihipertensivos são efetivos no retardo à lesão renal (Tuck, 1988). Os inibidores da enzima conversora da angiotensina II têm efeito benéfico superior aos outros antihipertensivos sobre a função renal, proteinúria e microalbuminúria nos diabéticos hipertensos e normotensos (Bjorck, 1986 e Cook e Daneman, 1990). Mesmo quando em pequenas doses, o seu uso diminui a concentração da albumina urinária, sem modificação importante da pressão arterial e induz vasodilatação renal sem causar alterações na taxa de filtração glomerular, resultando numa diminuição da fração de filtração (Heeg e cols, 1988). Aparentemente, a diminuição da fração de filtração inibe a geração da angiotensina II intrarenal e dilataria as arteríolas eferentes glomerulares (Benedetti e Linas, 1987). Consequentemente, haveria queda da pressão intraglomerular e diminuição da permeabilidade glomerular às proteínas e à albumina (Mimran e cols, 1988). Esta redução da proteinúria é algumas vezes acompanhada por melhora nas alterações histológicas e na expansão mesangial (Anderson e cols, 1986).

É possível que a glomeruloesclerose segmentar focal que se desenvolve na anemia falciforme seja fisiologicamente análoga ao que ocorre em roedores após nefrectomia total (Ostetter e cols, 1982). Nestes animais, um aumento na pressão dos glomérulos hipertrofiados remanescentes pode resultar em glomeruloesclerose. Esta hipertensão glomerular resultante da destruição dos néfrons é atenuada pelo controle da hipertensão capilar glomerular com agentes que diminuem a vasoconstricção da arteríola eferente glomerular (Anderson e cols, 1985 e Myres e Meyer, 1989). Recentemente Falk e cols (1992) demonstraram uma redução significativa na proteinúria de 10 pacientes com anemia falciforme após 15 dias do uso de enalapril.

Diante do exposto, foram objetivos deste trabalho avaliar, pela primeira vez na literatura, a frequência de microalbuminúria em pacientes com doenças falciformes e a resposta nestes

indivíduos ao uso prolongado de inibidores da enzima conversora da angiotensina (ENALAPRIL) sobre a concentração de albumina urinária.

PACIENTES E MÉTODOS

Pacientes

Para a pesquisa da frequência de microalbuminúria nas doenças falciformes, foram estudados cinquenta e seis pacientes portadores de hemoglobinopatias S (41 SS, 11 SC, 4 S β) e 10 controles negróides normais, com idade superior a 14 anos. Todos foram submetidos à pesquisa de albumina urinária em 3 amostras da primeira urina do dia em meses diferentes. Foram excluídos do estudo pacientes com crise vasooclusiva, infecções, insuficiência renal, grávidas ou em uso de drogas nefrotóxicas. Foram considerados anormais, níveis de concentração de albumina urinária acima de 30 mg/l, nas 3 amostras obtidas (Viberti, 1988). Os dados clínicos e hematológicos de todos os participantes encontram-se na Tabela I e do grupo controle na Tabela II. Nenhum indivíduo do grupo controle apresentou concentração de albumina urinária maior do que 30 mg/l (Figura 1).

Para avaliação da resposta ao uso de enalapril, nove pacientes (8 SS, 1 S β) com concentração de albumina urinária anormal, concordaram voluntariamente em receber a medicação, após ampla informação dos procedimentos a serem adotados. Os dados clínicos e hematológicos encontram-se na Tabela I (no quadro superior).

Os nove pacientes receberam placebo (Complexo B), durante 60 dias e a seguir enalapril (Renitec®) 5mg por 180 dias (6 meses). Neste período, todos os pacientes foram avaliados clínica e laboratorialmente a cada 2 a 4 semanas através da medida da pressão arterial, concentração de albumina urinária, proteinúria de 24 horas, sódio e potássio sérico, fração de excreção de sódio e potássio e clearance de creatinina. Para medida da função tubular proximal foi levado a efeito o clearance de lítio de 3 horas no início (0 dia) e ao final do estudo (180º. dia). Após 2 anos da suspensão do enalapril, a pressão arterial e a concentração de albumina urinária foram reavaliados em 8 dos pacientes que receberam a droga e em 2 pacientes que também apresentavam concentração de albumina urinária superior a 30 mg/l, mas não receberam enalapril.

Para padronização das dosagens bioquímicas e protéica, participaram do estudo 10 indivíduos normais, sem história prévia de doença renal ou anemia, todos funcionários do Hemocentro da Unicamp ou graduandos do curso de medicina, pardos ou negros, entre 16 a 30 anos de idade (tabela II).

Tabela I: Características clínicas e hematológicas dos pacientes com doenças falciformes submetidos à investigação de albuminúria. Os nove primeiros participaram do estudo com enalapril.

NOME	IDADE (anos)	SEXO	SC (m ²)	Hb (g/dl)	Ht (%)	HbF (%)	HbA ₂ (%)	PE
DC*	16	F	1.3	6.9	22.4	2.1	2.8	A ₂ S
FSN*	25	F	1.5	6.7	21.6	0.9	2.2	A ₂ S
ICB	29	F	1.6	9.9	32.1	8.1	3.9	S,β
MFFS*	19	F	1.3	6.3	20.3	6.1	2.0	A ₂ S
MIFS	22	F	1.5	6.7	22.3	1.4	2.2	A ₂ S
MISN*	20	F	1.3	6.7	25.3	5.2	3.1	A ₂ S
SMJ	21	F	1.4	7.6	24.1	8.5	1.6	A ₂ S
SAF*	19	M	1.5	6.5	27.2	4.5	1.8	A ₂ S
WSM	35	M	1.5	7.4	22.9	2.6	2.5	A ₂ S
MEDIA	22.8		1.4	7.2	24.2	4.4	2.4	
DP	5.9		0.1	1.1	3.4	2.8	0.7	
AMP*	18	M	1.5	6.3	18.9	2.3	3.0	A ₂ S
AMAA	19	F	1.6	9.8	30.0	3.0	-	S,C
AMC	24	F	1.4	8.9	33.5	20.0	1.2	A ₂ S
AMLC	16	F	1.6	8.2	24.6	1.3	2.4	A ₂ S
AN*	33	M	1.7	6.9	21.0	1.4	3.1	A ₂ S
ARQ	27	M	1.8	8.1	23.0	4.5	1.6	A ₂ S
BEN	17	F	1.7	9.1	31.1	8.4	3.9	A ₂ S
COS	28	F	1.5	6.8	25.7	3.1	3.1	S,β
CCS	27	F	1.4	8.5	26.3	4.7	1.6	A ₂ S
CRF	29	F	1.3	12.0	34.3	9.8	3.2	A ₂ S
CBS	25	F	1.6	9.6	28.7	8.5	1.8	A ₂ S
DB	41	M	1.7	11.0	34.0	8.4	-	S,C
DAL*	25	M	1.8	9.2	24.7	2.7	2.8	A ₂ S
EBS	14	F	1.3	8.5	26.3	1.6	1.5	A ₂ S
EAPC	28	F	1.4	6.8	21.2	2.7	2.0	A ₂ S
EG	30	M	1.9	8.1	25.1	5.1	-	S,C
ESM	23	M	1.6	9.4	22.3	2.0	2.9	A ₂ S
FRR	14	M	1.2	10.0	27.0	2.3	3.7	S,β
IMS	23	F	1.5	9.6	30.0	7.7	1.7	A ₂ S
JAA	21	M	1.7	9.2	29.8	2.3	-	S,C
JCC	33	M	1.6	9.5	30.0	1.9	2.5	A ₂ S
JES	46	M	1.7	11.5	35.1	3.7	4.5	S,β
JRP	35	F	1.7	8.9	28.4	3.7	1.5	A ₂ S
LCS	24	M	1.8	6.7	22.0	1.9	2.8	A ₂ S
LHV	23	F	1.6	7.9	23.5	7.3	2.7	A ₂ S
LPS	18	F	1.6	5.4	18.7	2.3	2.1	A ₂ S
LMS*	20	F	1.5	7.0	23.0	1.4	2.2	A ₂ S
MAF	27	M	1.7	8.9	29.0	2.5	-	A ₂ S
MCDA	39	F	1.4	7.9	22.8	17.0	2.0	A ₂ S

Tabela I (continuação): Características clínicas e hematológicas dos pacientes com doenças falciformes submetidos à investigação de albuminúria. Os nove primeiros participaram do estudo com enalapril.

NOME	IDADE (anos)	SEXO	SC (m ²)	Hb (g/dl)	Ht (%)	HbF (%)	HbA ₂ (%)	PE
MES	32	F	1.6	6.9	23.0	5.5	2.5	A ₂ ,S
MHBF	24	F	1.5	8.1	25.1	5.1	-	S,C
MISA*	18	F	1.3	8.1	23.0	2.3	2.5	A ₂ ,S
MLS	46	F	1.4	9.5	30.0	7.6	2.0	A ₂ ,S
MLSB	42	F	1.7	9.8	31.0	2.3	-	S,C
MMF	21	F	1.7	8.6	27.0	1.9	1.9	A ₂ ,S
MRLS	29	F	1.7	9.4	33.2	1.9	1.9	A ₂ ,S
MMSC	28	F	1.6	8.7	24.7	1.1	-	S,C
MS	25	F	1.5	9.9	22.3	2.3	-	S,C
OJ	39	M	1.7	6.7	22.0	1.6	2.7	A ₂ ,S
RPS*	16	M	1.5	5.4	18.7	2.3	2.1	A ₂ ,S
RMS	28	M	1.9	11.3	30.5	1.2	-	S,C
RPS	14	M	1.3	9.9	28.6	4.5	1.6	A ₂ ,S
RSS	26	F	1.7	10.8	31.0	1.2	-	S,C
SMBC	25	M	1.9	8.1	24.5	3.2	2.6	A ₂ ,S
SSO	29	M	1.9	10.1	32.0	3.0	2.2	A ₂ ,S
SF	33	F	1.5	8.9	29.3	11.2	2.2	A ₂ ,S
WAN	20	F	1.4	8.1	25.1	5.1	2.0	A ₂ ,S
MEDIA	26.4		1.6	8.7	26.6	4.4	2.4	
DP	8.1		0.2	1.5	4.3	3.9	0.7	

* presença de úlcera de membros inferiores recorrentes com cicatrização superior à 3 meses, SC superfície corpórea, PE padrão eletroforético.

Tabela II Características clínicas e hematológicas dos indivíduos do grupo controle.

NOME	IDADE (anos)	SEXO	SC (m ²)	Hb (g/dl)	Ht (%)	HbF (%)	HbA ₂ (%)	PE
AV	20	M	1.8	16.6	48	0.7	2.9	A ₂ ,A
CAR	16	M	1.8	17.2	47	0.6	3.0	A ₂ ,A
DMSR	27	F	1.5	13.7	42	0.6	2.8	A ₂ ,A
MAFC	25	F	1.6	14.6	43	0.9	2.3	A ₂ ,A
MG	30	F	1.4	12.0	39	1.2	3.1	A ₂ ,A
MVAG	24	M	1.8	15.3	43	0.5	2.7	A ₂ ,A
RAB	23	F	1.5	13.5	42	0.5	2.5	A ₂ ,A
RAM	18	M	1.8	16.1	49	1.8	2.4	A ₂ ,A
TMJ	19	F	1.7	13.4	40	0.6	2.9	A ₂ ,A
VAL	21	M	1.8	14.9	44	0.7	3.1	A ₂ ,A
MEDIA	22.3		1.7	14.7	43.7	0.8	2.8	
DP	4.3		0.1	1.6	3.3	0.4	0.3	

SC superfície corpórea, PE padrão eletroforético.

Métodos

1) Hematimetria:

A contagem de glóbulos vermelhos, dosagem de hemoglobina e determinação do hematócrito foram obtidas através de contador eletrônico Coulter Counter DN.

2) Estudo das hemoglobinas:

O diagnóstico da hemoglobinopatia S foi realizado clinicamente e sempre que possível com estudos familiares. As amostras de sangue (5 ml) foram colhidas em EDTA (1,5 mg por ml de sangue).

Preparado do hemolisado

Após separação do plasma por centrifugação (2000 rpm/10 min), as hemácias foram lavadas 3 vezes em solução de NaCl 0,85%. Após a terceira lavagem, as células foram hemolisadas com volume semelhante de água destilada e agitadas por inversão. A seguir foi adicionado tetracloreto de carbono (1/2 volume das hemácias) e após agitação violenta esta solução foi centrifugada por 20 minutos a 3000 rpm. O sobrenadante, contendo hemoglobina, foi transferido para o tubo contendo 20 µl de KCN 1% e agitado levemente por inversão.

Eletroforese de hemoglobinas em fita de acetato de celulose (Weatherall, 1981).

Fitas de acetato de celulose (Merck 25 x 120) foram imersas em solução tampão Tris-EDTA borato pH 8,9 por 20 minutos. O excesso de tampão foi retirado entre duas folhas de papel de filtro, e as fitas foram colocadas em cuba de eletroforese contendo o mesmo tampão. A solução de hemoglobina foi aplicada sobre a fita de acetato de celulose e a corrida eletroforética realizada sob diferença de potencial de 250 volts por 30 minutos. Em seguida as fitas foram colocadas na solução corante de Ponceau.

Eletroforese de hemoglobinas em gel de ágar (Weatherall, 1981)

Uma grama de ágar DIFCO em tampão citrato pH 5,9 foi dissolvido ao fogo, e 50 ml do gel quente foi colocado sobre uma placa de 12 x 9 cm. Após sua polimerização à temperatura ambiente, foram aplicados 10 microlitros do hemolisado diluído em tampão citrato 5:1, em fendas próximas à região média do gel. O sistema foi submetido à diferença de potencial de 60 volts por 4 horas à 4°C e finalmente o gel foi corado pela benzidina por 15 minutos, lavado com água destilada e transferido para papel de filtro.

Quantificação da Hb A₂ por eluição após eletroforese (Weatherall, 1981).

Foram aplicados 10 microlitros do hemolisado em fita de acetato de celulose em tampão tris-EDTA borato pH 8,9. Após corrida eletroforética, as frações A₁ e A₂ foram separadas, recortadas com tesoura e eluídas por 4 horas em tubos contendo 15 ml e 3 ml de água destilada, respectivamente. As densidades ópticas das hemoglobinas eluídas foram lidas em espectrofotômetro com comprimento de onda de 415 nm.

A quantificação de Hb A₂ foi obtida através do cálculo:

$$\% \text{ Hb A}_2 = \frac{\text{DO Hb A}_2 \times 100}{\text{DO Hb A}_1 \times 5 + \text{DO Hb A}_2}$$

onde DO = densidade óptica

3) Pressão arterial média

As pressões arteriais foram medidas com esfigmomanômetro após repouso em decúbito dorsal por 5 minutos e depois de 1 minuto em pé. A média das duas medidas foi utilizada para o cálculo da pressão arterial média (PAM).

A PAM foi calculada pela seguinte fórmula:

$$PAM = PD + \frac{(PS - PD)}{3}$$
 onde PD = pressão diastólica

PS = pressão sistólica

Todos os ensaios que se seguem foram realizados em duplicatas, concomitantes com amostras de indivíduos sadios. Sempre que a variação foi maior do que 20% entre as duplicatas, os resultados foram rejeitados até serem confirmados em novo ensaio com as mesmas amostras.

Em cada experimento foram utilizadas amostras de experimentos anteriores, para a possível comparação entre os diversos ensaios.

4) Concentração de albumina urinária

Dois mililitros da primeira urina do dia foram estocados à -20°C por no máximo 4 semanas, e submetidas à medida da concentração de albumina urinária através de radioimunoensaio por duplo anticorpo (kit-Pharmacia).

A 50 µl da amostra foi adicionada 50 µl de albumina marcada e 2ml da solução contendo anticorpo. Esta mistura foi homogenizada e incubada por 1 hora à temperatura ambiente. Passado este período foi centrifugado por 10 min a 1500 RPM. Foi determinada a radioatividade do sobrenadante após o mesmo ser decantado por inversão.

Na Tabela III estão relacionados valores da concentração de albumina urinária de todas as amostras coletadas, a média e o coeficiente de variação da concentração da albumina urinária em duas ou três amostras diferentes do mesmo indivíduo. Na Tabela IV observa-se o coeficiente de variação da albumina urinária em duas observações realizadas com a mesma amostra de urina.

Em todos os ensaios obtivemos curva satisfatória com 7 controles do kit. A concentração de albumina urinária anormal foi definida como albuminúria maior do que 30 mg/l até 320 mg/l onde a curva de diluição perdeu a linearidade.

5) Proteinúria de 24 horas

Em alíquotas de 3 ml de urina coletada nas 24 horas, estocadas no máximo por 2 semanas à -20°C, a proteinúria foi quantificada pelo método de Pesce, 1973 (Ponceau S dye binding). 50 microlitros de urina foram adicionados à 599 microlitros da mistura de ácido tricloacético (300 g/l) + Ponceau (40 g/l) centrifugados por 10 minutos à 500 rpm. O sobrenadante foi decantado por inversão e ao precipitado adicionamos 1 ml de NaOH (8g/l). A leitura foi realizada em 560 nm e o valor obtido foi corrigido pelo volume urinário.

6) Creatinina

A dosagem de creatinina foi obtida pelo método de Jaffé (picrato alcalino) kit Merck. Em 500 microlitros de soro ou 500 microlitros da solução padrão (1 mg de creatinina/100 ml) ou 0,5 ml de urina diluída 1/99 foi adicionado 1,0 ml da solução tampão (313 mmol/l NaOH). Após 5 minutos 1,0 ml de ácido pícrico (8,73 mmol/l de ácido pícrico) foi adicionado à mistura e a densidade óptica foi lida à 500 nm, (E_1 - densidade óptica em 1 minuto e uma segunda leitura E_2 foi realizada após outros 5 minutos), em cubeta de 1 cm. As concentrações de creatinina obedeceram ao cálculo:

$$\text{conc. creatinina sérica} = \frac{E_2 \text{ paciente} - E_1 \text{ paciente}}{E_2 \text{ padrão} - E_1 \text{ padrão}} \times \text{mg\%}$$

$$\text{conc. creatinina urinária} = \frac{E_2 \text{ paciente} - E_1 \text{ paciente}}{E_2 \text{ padrão} - E_1 \text{ padrão}} \times 100\text{mg\%}$$

O **clearance de creatinina (Cl.Cr)** foi obtido por amostras de soro, e alíquotas de urina coletadas nas 24 horas e foi calculado pela fórmula:

$$Cl. Cr = \frac{Cr u \times vol \text{ em ml} \times 1,73}{Cr s \times 1440 \times SC}$$

onde $Cr u$ = creatinina urinária

$Cr s$ = creatinina sérica

SC = superfície corpórea em m^2

7) Eletrólitos

O sódio, potássio e lítio foram analisados por fotometria de chama.

Para quantificação de sódio e potássio foram utilizadas amostras de plasma ou urina diluída em água deionizada 1/50.

Para calibração do fotômetro, utilizamos soro controle e soro padrão da Boehringer Mannheim - Precipath U .

A fração de excreção de sódio ($Fe Na$) foi calculada pela fórmula:

$$Fe Na = \frac{Na u \times Fl U}{Na s \times Cl Cr}$$

onde $Na s$ = sódio sérico

$Na u$ = sódio urinário

$Fl U$ = fluxo urinário = vol urinário em ml/180min

$Cl Cr$ = clearance de creatinina

A fração de excreção de potássio ($Fe K$) foi calculada pela fórmula:

$$Fe K = \frac{K u \times Fl U}{K s \times Cl Cr}$$

onde $K s$ = potássio sérico

$K u$ = potássio urinário

8) Fração de excreção e clearance de lítio

O Clearance de lítio (Cr Li) foi obtido em amostras de soro e alíquotas de urina coletadas em 3 horas. Às 22 horas da noite anterior ao ensaio foram administrados 600 mg de carbonato de lítio. Chá e café foram suspensos até o término do exame. O sangue foi colhido às 8 horas e ao final do ensaio. Após a primeira coleta de exames e após esvaziar a bexiga, os pacientes receberam 5 ml de água por kilo de peso, e então a urina foi coletada por um período de 3 horas (entre 8 e 11 horas).

O Cl Li foi calculado pela fórmula abaixo:

$$Cl\ Li = \frac{Li\ u \times Fl\ u}{Li\ s}$$

onde Cl Li = clearance de lítio

Li s = lítio sérico

Li u = lítio urinário

A Fração de excreção de lítio (Fe Li) foi calculada pela fórmula:

$$Fe\ Li = \frac{Cl\ Li}{Cl\ Cr}$$

9) Análise estatística

Para correlação da concentração de albumina urinária com idade, hemoglobina, % da hemoglobina fetal e clearance de creatinina foi utilizado o coeficiente de Pearson, a presença ou ausência de úlceras em membros inferiores foi correlacionado pelo teste de χ^2 . Para a comparação

entre pacientes e controles foi utilizado o teste U de Mann-Whitney e o teste de Kruskal-Wallis. Para a avaliação das variações da pressão arterial média, das concentrações de albumina e proteína urinária, eletrólitos e clearance de creatinina foi utilizada análise de regressão linear mista com teste de χ^2 . Para comparação do clearance de lítio e fração de excreção de lítio, antes e após o tratamento com enalapril, foi utilizado o teste de Wilcoxon para pequenas amostras. Consideramos significativos os níveis de $p < 0,05$. Os resultados encontram-se representados na forma de média $\pm$ desvio padrão.

RESULTADOS

1) Frequência de albuminúria em pacientes com doenças falciformes

Dos 56 pacientes com doença falciforme, 22 (19 SS, 2 SC e 1 Sβ) apresentaram concentração urinária de albumina superior a 30 mg/l nas 3 amostras testadas. Estes dados encontram-se representados na Figura 1. O coeficiente de variação da concentração da albumina urinária nas diversas amostras do mesmo indivíduo foi de $33,9 \pm 34,8$ (na Tabela III estão relacionados os valores da concentração de albumina urinária encontrados nas três amostras; média, desvio padrão e coeficiente de variação do mesmo indivíduo). O coeficiente de variação da concentração da albumina urinária realizada por duas vezes na mesma amostra foi de $7,9 \pm 12,2$. (Na tabela IV estão relacionados os valores da concentração da albumina urinária obtida na mesma amostra por duas vezes, média, desvio padrão e coeficiente de variação). Não houve correlação dos níveis de albumina urinária com a idade dos pacientes, hemoglobina, % de HbF e presença ou ausência de úlcera de perna.

2) Função renal dos pacientes com doença falciforme submetidos ao tratamento com enalapril

A pressão arterial média foi significativamente menor ($p < 0,002$) nos pacientes ($7,3 \pm 0,9$ mmHg) quando comparados com o grupo controle ($8,7 \pm 0,9$ mmHg). A concentração de albumina urinária dos pacientes ($153,5 \pm 117,9$ mg/l) foi significativamente maior ($p = 0,0001$) do que no grupo controle ($10,71 \pm 5,9$). A proteinúria de 24 horas dos pacientes ($0,7 \pm 0,5$ g nas 24h) foi significativamente maior ($p = 0,0001$) do que no grupo controle ($0,2 \pm 0,04$ g nas 24h).

O clearance de creatinina foi significativamente maior ($p < 0,001$) nos pacientes ($177,9 \pm 61,6$ ml/min) quando comparados com os valores observados no grupo controle ($108,9 \pm 19,6$ ml/min). O sódio sérico dos pacientes ($145,1 \pm 4,1$ mEq/l) foi significativamente maior ($p < 0,01$) quando comparados com os do grupo controle ($139,4 \pm 2,6$ mEq/l), a fração de excreção de sódio dos pacientes ($0,7 \pm 0,3\%$) foi significativamente menor ($p < 0,05$) quando comparados ao grupo controle ($1,2 \pm 0,6\%$). O potássio sérico foi significativamente maior ($p < 0,01$) nos pacientes ($5,1 \pm 0,6$ mEq/l) quando comparados ao grupo controle ($4,5 \pm 0,3$ mEq/l); enquanto que a fração de

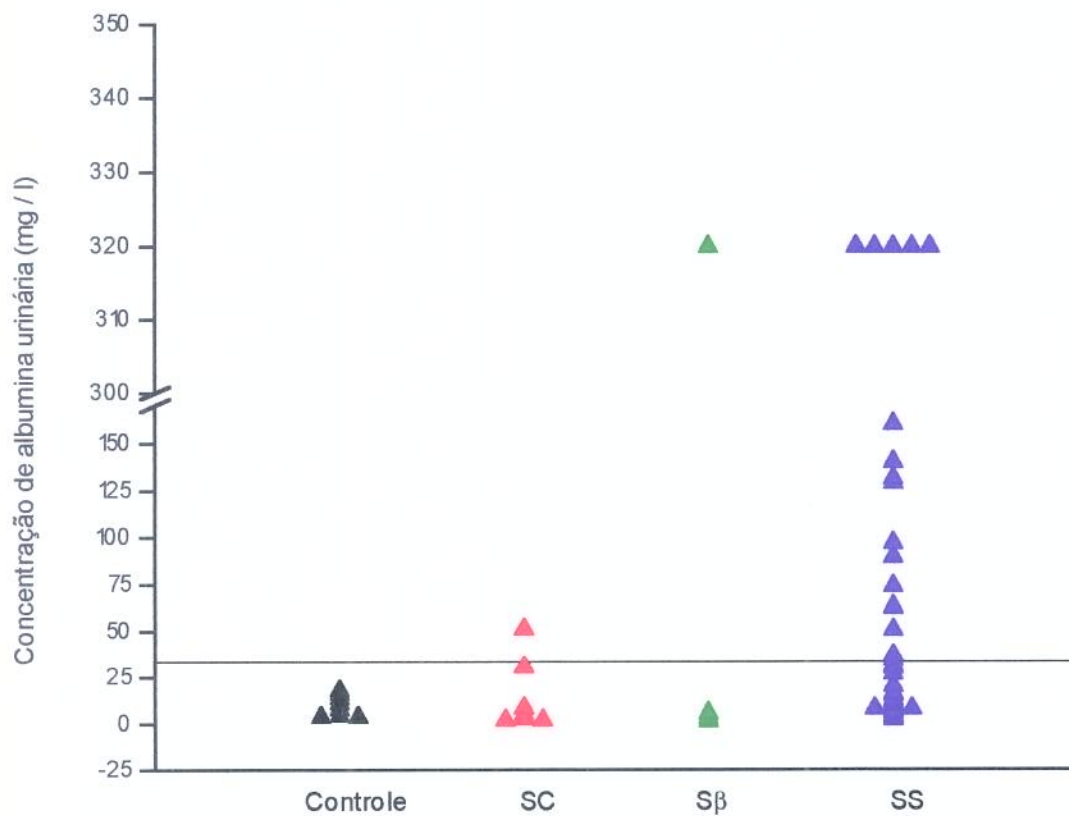


Figura 1. Valores da concentração de albumina urinária de todos os participantes do estudo

Tabela III: Valores da concentração de albumina urinária em mg/l e coeficiente de variação (CV) nas diversas amostras do mesmo indivíduo.

NOME	1	2	3	MEDIA	DP	CV
AMP	+320.0	+320.0	+320.0	320.0	0	0
AMAA	2.5	2.7	-	2.6	0.1	3.8
AMC	2.6	2.8	-	2.7	0.1	3.7
AMLC	+320.0	+320.0	+320.0	320.0	0	0
AN	65.6	12.0	12.2	29.9	30.9	103.3
ARQ	11.3	12.0	9.0	10.8	1.6	14.8
BEN	11.7	8.9	9.2	9.9	1.5	15.1
COS	2.4	3.5	3.1	3.0	0.5	16.7
CCS	6.4	7.3	-	6.8	0.6	8.8
CRF	16.6	17.7	15.0	16.4	1.3	7.9
CBS	31.7	30.0	32.5	31.4	1.2	3.8
DC	88.0	61.0	-	74.5	19.1	25.6
DB	2.3	2.2	-	2.2	0.1	4.5
DAL	15.6	10.7	12.5	12.9	2.5	19.4
EBS	11.7	7.5	-	9.6	3.0	31.2
EAPC	5.6	2.1	-	3.8	2.5	65.8
EG	3.2	3.7	2.0	3.0	0.9	30.0
ESM	7.9	14.1	11.5	11.2	3.1	27.6
FSN	43.4	43.7	16.1	34.4	15.8	45.9
FRR	11.7	2.0	1.9	5.2	5.6	107.7
ICB	+320.0	+320.0	+320.0	320.0	0	0
IMS	4.6	25.8	-	15.2	15.0	98.7
JAA	3.4	3.2	-	3.3	0.1	3.0
JCC	16.9	36.3	-	26.6	13.7	51.5
JES	0	1.1	2.7	1.3	0.9	56.2
JRP	5.5	4.7	7.7	6.0	1.5	25.0
LCS	15.0	8.0	-	11.5	4.9	42.6
LHV	9.8	5.8	-	7.8	2.8	35.9
LPS	+320.0	+320.0	+320.0	+320.0	0	0

Tabela III: (continuação) Valores da concentração de albumina urinária em mg/l e coeficiente de variação (CV) nas diversas amostras do mesmo indivíduo.

NOME	1	2	3	Média	DP	CV
LMS	54.3	71.4	-	62.8	12.1	19.3
MAF	2.8	2.7	3.0	2.8	0.1	3.6
MCDA	27.5	12.7	-	20.1	10.5	52.2
MES	55.7	18.1	-	36.9	26.6	72.1
MFFS	105.8	114.2	49.0	89.7	35.5	39.5
MHBF	5.0	12.5	-	8.7	5.3	60.9
MIFS	15.3	80.0	57.7	51.0	32.8	64.3
MISA	70.0	37.7	80.1	62.6	22.1	35.3
MISN	71.0	56.0	-	63.5	10.6	16.7
MLS	12.7	18.7	-	15.7	4.2	26.7
MLSB	1.6	2.8	-	2.2	0.8	36.4
MMF	15.4	14.9	17.0	15.8	1.1	6.9
MRLS	130.3	150.0	-	140.1	13.9	9.9
MMSC	57.0	54.0	44.0	51.7	6.8	13.1
MS	5.9	3.2	-	4.5	1.9	42.2
OJ	7.0	8.0	8.4	7.8	0.7	8.9
RPS	5.1	3.1	-	4.1	1.4	34.1
RMS	28.5	33.1	-	30.8	3.2	8.9
RPS	2.0	0.8	2.5	1.8	0.9	34.1
RSS	5.9	4.2	-	5.0	1.2	24
SAF	151.1	92.0	48.0	97.0	51.7	53.3
SMBC	160.0	160.0	160.0	160.0	0	0
SMJ	+320.0	+320.0	+320.0	320.0	0	0
SSO	150.0	113.3	-	131.6	25.9	19.7
SFS	+320.0	+320.0	+320.0	320.0	0	0
WAN	5.9	3.2	-	4.5	1.9	42.2
WSM	135.6	160.0	92.0	129.2	34.4	26.6
MEDIA						33.9
DP						34.8

Tabela IV: Coeficiente de variação (CV) da concentração de albumina urinária em mg/l em 2 ensaios realizados com a mesma amostra de urina.

NOME	1	2	MÉDIA	DP	CV
AMP	+320.0	+320.0	320.0	0	0
AMLC	+320.0	+320.0	320.0	0	0
DC	53.0	40.0	46.5	9.2	19.8
ESM	7.9	4.4	6.1	2.5	41.0
FSN	43.5	43.1	43.3	0.2	0.5
ICB	+320.0	+320.0	320.0	0	0
IMS	25.8	20.9	23.3	3.5	15.0
LPS	+320.0	+320.0	320.0	0	0
LMS	54.3	58.2	56.2	2.7	4.8
MES	18.1	12.0	15.0	4.3	28.7
MIFS	15.3	16.7	16.0	1.0	6.2
MLS	13.7	14.8	14.2	0.8	5.6
SMBC	+320.0	+320.0	320.0	0	0
SMJ	+320.0	+320.0	320.0	0	0
SFS	+320.0	+320.0	320.0	0	0
WSM	135.6	125.6	130.6	7.1	5.4
MEDIA					7.9
DP					12.2

excreção de potássio nos pacientes ($2,1 \pm 1,2 \%$) foi significativamente menor ($p < 0,002$) do que no grupo controle ($5,1 \pm 2,4 \%$). O clearance de lítio dos pacientes ($18,1 \pm 14,7$ ml/min) foi significativamente menor ($p < 0,05$) do que no grupo controle ($31,3 \pm 8,8$ ml/min). A fração de excreção de lítio dos pacientes ($10,9 \pm 6,5 \%$) foi significativamente menor ($p < 0,005$) do que no grupo controle ($28,8 \pm 9,7\%$).

3) Efeito do enalapril da função renal dos pacientes com doenças falciformes

Durante o uso de enalapril, 5 mg ao dia, apesar dos pacientes não apresentarem sinais ou sintomas colaterais, houve queda significativa ($p < 0,0001$) da pressão arterial média (PAM $70,4 \pm 5,5 \times 61,7 \pm 3,4$). Houve redução significativa ($p = 0,0001$) na concentração de albumina urinária durante o uso do medicamento, e notamos que os pacientes com concentração urinária de albumina intermediária (MIFS e WSM) tiveram uma queda maior na sua concentração (estimativa de queda $1,252\text{mg/d}$) quando comparados ao grupo com menor concentração de albumina urinária (estimativa de queda $0,187$ mg/d). Os 2 pacientes com concentração de albumina urinária acima do limite de sensibilidade do teste (320 mg/l) mantiveram os mesmos valores. A proteinúria de 24 horas tendeu a diminuição. Não houve diferença significante no clearance de creatinina, sódio e potássio séricos e suas frações de excreção.

O clearance de lítio e a fração de excreção de lítio, não diferiram significativamente quando comparados no período antes e após o tratamento com enalapril, mas tendeu a normalização.

4) Acompanhamento seqüencial

Dois anos após a suspensão do enalapril observamos que a pressão arterial média de sete pacientes que haviam recebido o medicamento voltaram aos níveis do período do placebo; mas a concentração da albumina urinária em dois pacientes manteve-se abaixo de 30 mg/l; em quatro pacientes houve aumento da concentração da albumina urinária e em dois destes acima dos níveis do período do placebo.

Em dois outros pacientes que não receberam o enalapril houve aumento dos valores na concentração da albumina urinária de 12,5 para 188 mg/l (D.A.L.) e de 131,6 para mais do que 320 mg/l (S.S.O.), dois anos após a primeira coleta de dados.

Na tabela V estão relacionados os valores das pressões arteriais médias, os dados laboratoriais, as médias e desvio padrão dos participantes do grupo controle.

Nas tabelas VI e VII estão relacionadas as pressões arteriais médias em mmHg no período do placebo e durante o uso da medicação respectivamente e na figura 2 estes dados estão representados graficamente. Nas tabelas VIII e IX encontram-se os valores das concentrações da albumina urinária em mg/l nos indivíduos tratados com enalapril nos períodos do uso do placebo e enalapril e na figura 3 estes dados estão representados graficamente.

Nas tabelas X e XI estão relacionados os valores obtidos da proteinúria de 24 horas em g/d no período do uso do placebo e enalapril e na figura 4 estes dados estão representados graficamente. Nas tabelas XII e XIII e figura 5 encontram-se os dados do clearance de creatinina em ml/min, nas tabelas XIV e XV e figura 6 o sódio sérico em mEq/l, tabelas XVI e XVII e figura 7 a fração de excreção de sódio em %, tabelas XVIII e XIX e figura 8 o potássio sérico em mEq/l, tabelas XX e XXI e figura 9 a fração de excreção de potássio em % e na tabela XXII o clearance de lítio em ml/min (figura 10) e sua fração de excreção em % (figura 11) antes e depois do uso de enalapril.

Tabela V: Pressões arteriais médias e dados laboratoriais dos indivíduos do grupo controle.

NOME	PAM	CAU	Prot	Cl Cr	Na s	Fe Na	K s	Fe K	Cl Li	Fe Li
AV	7.7	7.6	0.1	104	144	0.7	4.4	3.0	18.7	17.9
CAR	7.7	10.6	0.2	145	137	0.7	4.1	4.6	33.0	22.7
DMSR	8.7	15.9	0.1	96	139	2.0	4.8	5.9	41.3	43.0
MAFC	9.0	10.7	0.2	84	137	2.1	4.6	9.7	36.3	43.2
MG	9.8	19.3	0.1	123	140	0.6	4.2	2.7	33.0	26.8
MVAG	8.3	13.8	0.2	112	141	1.0	4.5	4.0	19.1	17.0
RAB	9.7	17.7	0.2	93	135	1.6	4.4	7.8	22.7	24.4
RAM	9.3	3.5	0.2	132	140	1.1	4.7	5.3	40.2	30.4
TMJ	7.3	4.1	0.2	110	142	0.7	4.9	3.1	37.0	33.6
VAL	9.7	3.5	0.1	90	139	-	4.3	-	-	-
MEDIA	8.7	10.7	0.2	108.9	139.4	1.2	4.5	5.1	31.3	28.8
DP	0.9	5.9	0.0	19.6	2.6	0.6	0.3	2.4	8.8	9.7

PAM pressão arterial em mmHg, CAU concentração de albumina urinária em mg/l, Prot proteinúria de 24 horas em g/24 horas, Cl Cr clearance de creatinina em ml/min, Na s sódio sérico em mEq/l, Fe Na fração de excreção de sódio em %, K s potássio sérico em mEq/l, Fe K fração de excreção de potássio em %, Cl Li clearance de lítio em ml/min, Fe Li fração de excreção de lítio em %,

Tabela VI: Pressão arterial média em mmHg no período do uso de placebo.

DIA	DC	FSN	ICB	MFFS	MIFS	MISN	SMJ	SAF	WSM
15	5.3	8.6	9.6	7.3	-	7.3	7.3	7.3	8.3
30	7.3	7.3	8.3	6.6	6.6	-	6.3	6.6	-
45	5.6	7.3	-	-	-	7.3	-	-	7.3
60	-	-	9.6	7.3	7.3	6.0	7.0	6.6	8.0
MEDIA	6.1	7.7	9.2	7.1	6.9	6.9	6.9	6.8	7.9
DP	1.1	0.7	0.7	0.4	0.5	0.6	0.5	0.4	0.5

Tabela VII: Pressão arterial média em mmHg dos pacientes no período do uso de enalapril 5 mg/dia.

DIA	DC	FSN	ICB	MFFS	MIFS	MISN	SMJ	SAF	WSM
15	7.0	-	9.0	-	6.6	6.0	-	-	-
30	7.3	7.3	7.6	7.3	6.0	5.6	7.3	6.6	7.3
45	6.6	-	-	7.3	-	-	-	-	-
60	7.3	7.3	7.6	6.6	6.0	8.0	6.3	6.0	8.0
90	6.6	7.3	7.0	6.0	6.6	8.0	6.6	6.3	8.6
120	6.0	7.3	7.0	6.0	6.0	-	7.3	5.6	6.6
150	6.6	6.6	7.0	-	-	5.6	6.6	5.6	6.6
180	6.0	6.6	6.6	-	-	5.6	6.3	6.3	6.6

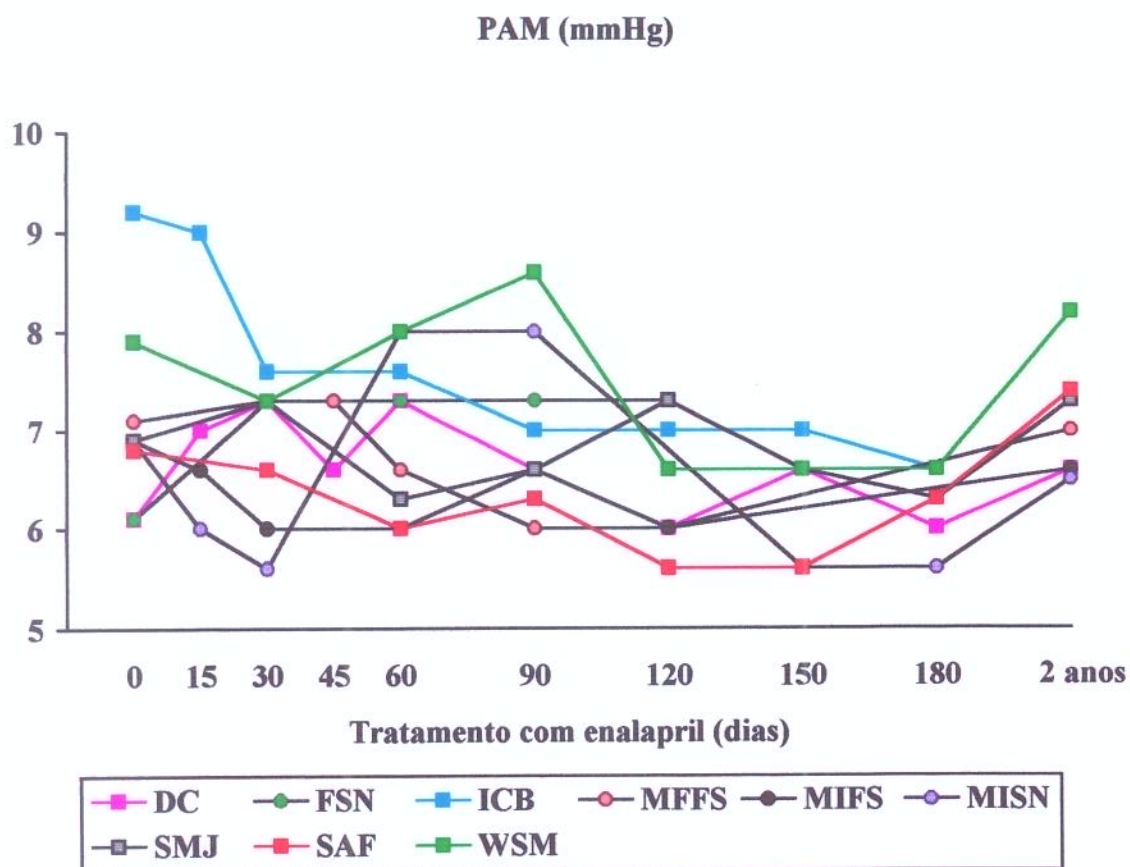


Figura 2 Pressão arterial média dos participantes do tratamento com enalapril.

Tabela VIII: Concentração de albumina urinária em mg/l no período do uso de placebo.

DIA	DC	FSN	ICB	MFFS	MIFS	MISN	SMJ	SAF	WSM
15	96	43	+320	40	-	71	+320	92	184
30	53	53	+320	50	+320	56	+320	103	-
45	36	48	-	-	-	-	-	-	156
60	-	-	+320	48	154	46	+320	48	+320
Media	61.7	48	+320	46	237	57.7	+320	81	220
DP	30.9	5	0	5.3	117.4	12.6	0	29.1	87.7

Tabela IX: Concentração de albumina urinária em mg/l no período do uso de enalapril 5 mg/dia.

DIA	DC	FSN	ICB	MFFS	MIFS	MISN	SMJ	SAF	WSM
15	28.0	-	+320	-	124	22.0	-	-	-
30	5.3	32	+320	22.0	220	23.0	+320	48	184
45	11.1	-	-	50.0	120	-	-	-	-
60	20.0	32	+320	13.0	80	40.0	+320	17	88
90	5.3	21	+320	20.0	70	7.4	+320	17	126
120	6.2	59	+320	27.0	-	-	+320	16	21
150	5.7	10	+320	13.0	-	5.7	+320	15	15
180	4.1	40	+320	4.1	-	6.2	+320	13	20

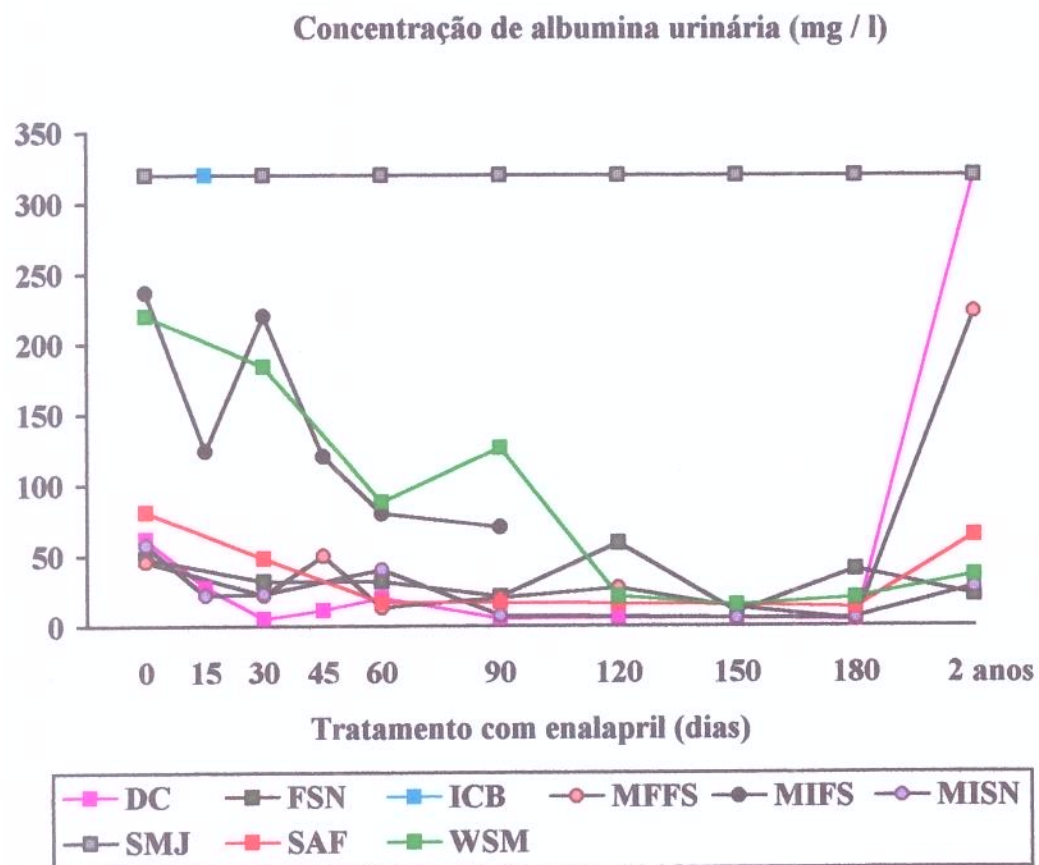


Figura 3 Concentração de albumina urinária dos participantes do tratamento com enalapril.

Tabela X: Proteinúria em g/24horas no período do uso de placebo.

DIA	DC	FSN	ICB	MFFS	MIFS	MISN	SMJ	SAF	WSM
15	0.5	0.9	1.8	0.5	-	0.2	-	0.2	0.6
30	0.2	0.4	1.5	0.5	0.7	0.6	1.0	0.4	-
45	0.6	0.2	-	-	-	-	-	-	0.7
60	-	-	2.3	0.6	0.5	0.3	1.7	0.5	0.7
Media	0.4	0.5	1.9	0.5	0.6	0.5	1.3	0.4	0.7
DP	0.2	0.4	0.4	0.0	0.1	0.2	0.5	0.1	0.0

Tabela XI: Proteinúria em g/24 horas no período do uso de enalapril 5 mg/dia.

DIA	DC	FSN	ICB	MFFS	MIFS	MISN	SMJ	SAF	WSM
15	0.3	-	2.2	-	0.5	0.4	-	-	--
30	0.3	0.5	2.5	0.8	0.7	0.3	1.5	0.5	0.9
45	0.4	-	-	0.6	0.7	-	-	-	-
60	0.5	0.5	2.0	-	0.7	0.7	1.5	0.4	1.0
90	0.9	0.3	1.7	0.9	0.5	0.5	1.2	0.4	0.8
120	0.3	0.7	1.4	0.7	-	-	1.6	0.4	0.6
150	0.3	0.4	1.3	0.7	-	0.3	1.4	0.3	0.8
180	0.3	0.5	1.3	0.6	-	0.2	1.5	-	0.6

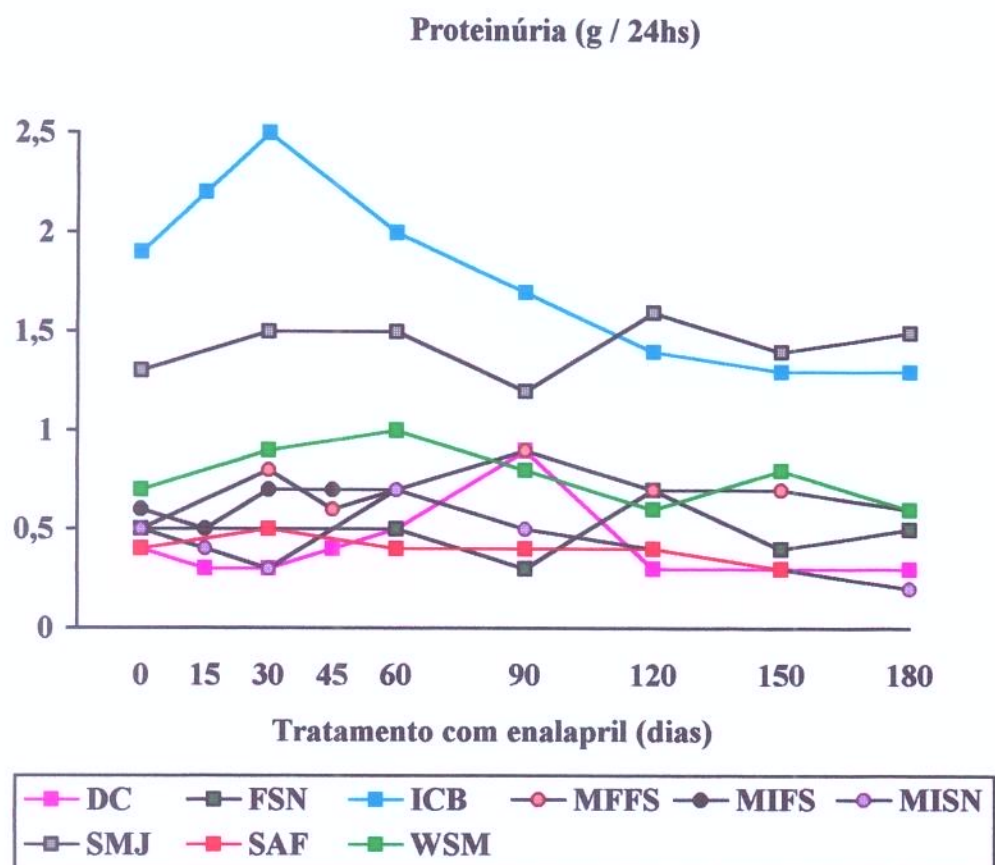


Figura 4 Proteinúria de 24 horas dos participantes do tratamento com enalapril.

Tabela XII: Clearance de creatinina em ml/min no período do uso de placebo.

DIA	DC	FSN	ICB	MFFS	MIFS	MISN	SMJ	SAF	WSM
15	194	172	87	226	-	91	337	90	-
30	100	106	56	187	218	-	199	129	275
45	300	71	-	-	-	151	-	-	103
60	-	-	141	190	286	217	255	120	252
MEDIA	198.0	116.3	94.7	201	252	153	263.7	113	210
DP	100.0	51.3	43.0	21.7	47.1	63.0	69.4	20.4	93.4

Tabela XIII: Clearance de creatinina em ml/min no período do uso de enalapril 5 mg/dia.

DIA	DC	FSN	ICB	MFFS	MIFS	MISN	SMJ	SAF	WSM
15	164	-	138	-	138	171	-	-	-
30	137	108	125	189	218	268	264	142	144
45	84	-	-	186	-	-	-	-	-
60	287	166	269	152	217	224	255	119	320
90	241	228	260	152	210	119	338	-	167
120	166	105	127	186	-	-	164	79	222
150	268	122	148	189	-	105	250	131	109
180	164	169	174	152	-	226	257	147	110

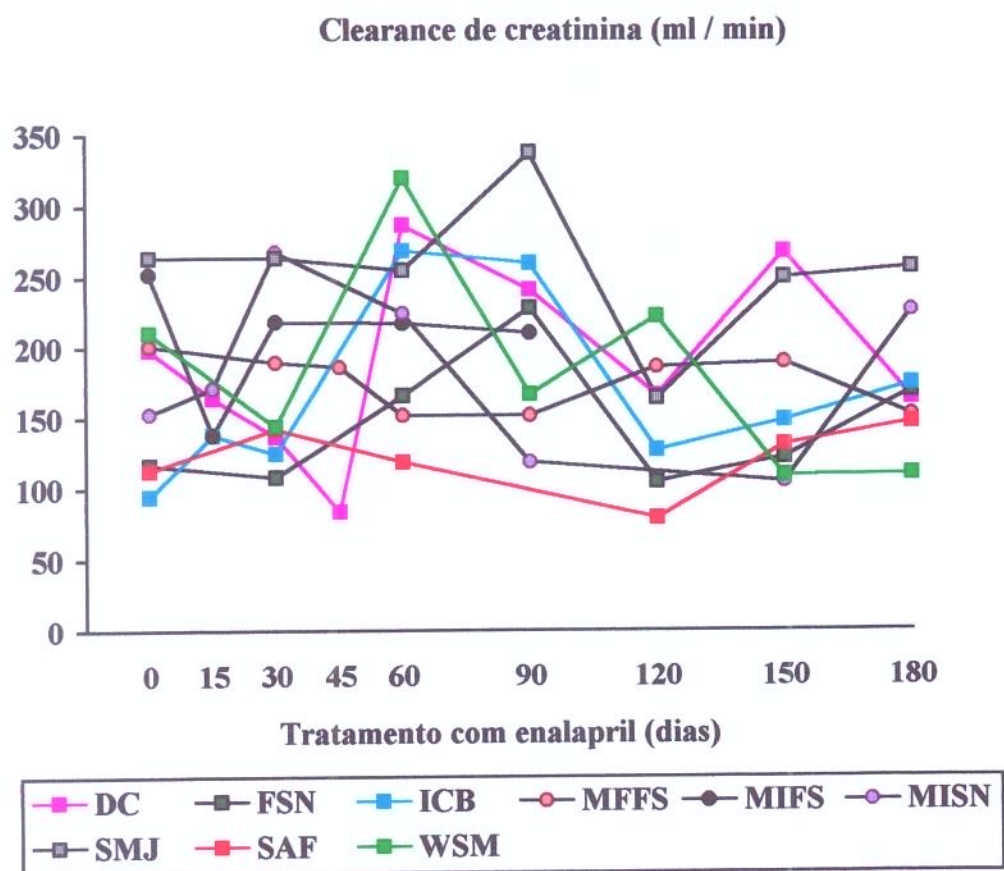


Figura 5 Clearance de Creatinina dos participantes do tratamento com enalapril.

Tabela XIV: Sódio sérico em mEq/l no período do uso de placebo.

DIA	DC	FSN	ICB	MFFS	MIFS	MISN	SMJ	SAF	WSM
15	-	150	-	144	-	153	144	134	-
30	155	137	147	-	151	147	147	130	137
45	145	143	-	-	-	-	-	-	141
60	-	-	146	150	146	146	146	146	145
MEDIA	150	134.3	146.5	147	148.5	148.7	145.7	136.7	141
DP	7.0	6.5	0.7	4.2	3.5	3.7	1.5	8.3	4.0

Tabela XV: Sódio sérico em mEq/l período do uso de enalapril 5 mg/dia.

DIA	DC	FSN	ICB	MFFS	MIFS	MISN	SMJ	SAF	WSM
15	148	-	146	-	139	146	-	-	-
30	148	147	141	150	137	142	147	139	147
45	144	-	-	156	-	-	-	-	-
60	137	134	139	-	140	151	145	147	138
90	148	139	142	150	140	148	144	146	161
120	137	155	141	147	145	-	143	147	141
150	144	162	141	153	-	133	143	139	147
180	142	140	139	147	-	140	144	134	137

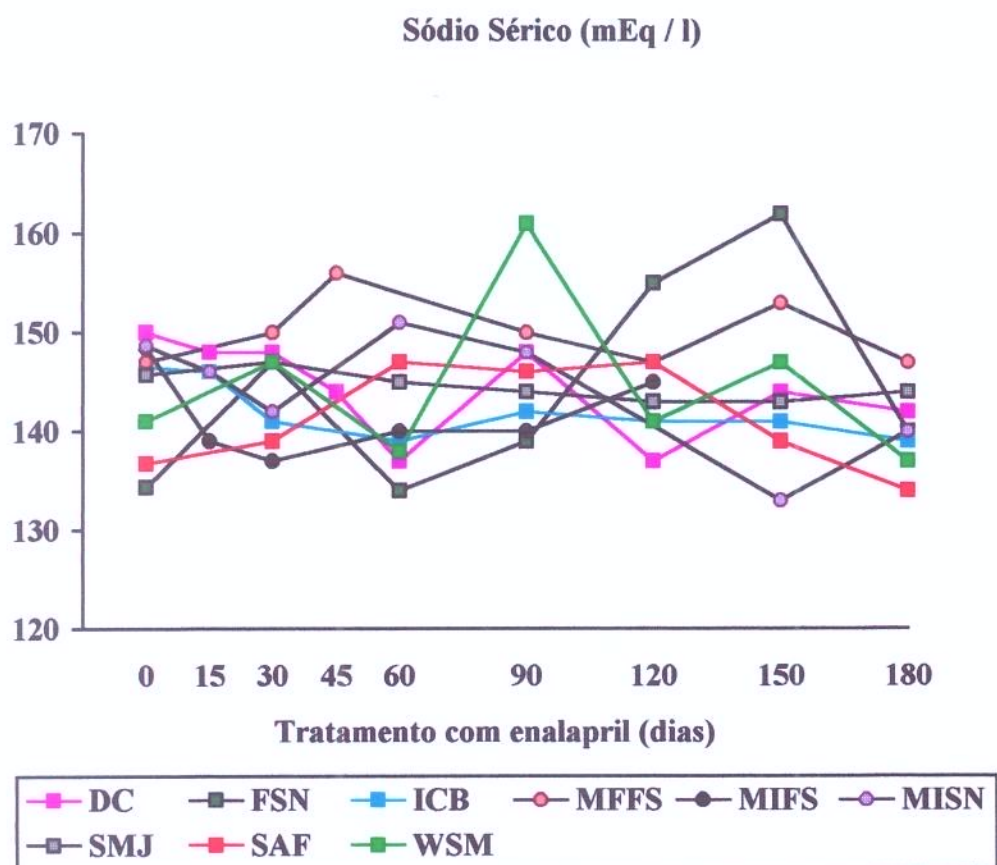


Figura 6 Sódio sérico dos participantes do tratamento com enalapril.

Tabela XVI: Fração de excreção de sódio em % no período do uso de placebo.

DIA	DC	FSN	ICB	MFFS	MIFS	MISN	SMJ	SAF	WSM
15	-	1.4	-	0.4	-	0.6	0.2	0.8	-
30	1.0	0.6	1.4	-	0.6	-	-	1.0	0.6
45	0.6	1.3	-	-	-	0.6	-	-	1.0
60	-	-	0.6	0.2	0.5	0.4	0.4	0.9	0.7
MEDIA	0.8	1.1	1.0	0.3	0.5	0.5	0.3	0.9	0.8
DP	0.3	0.4	0.6	0.1	0.0	0.1	0.1	0.1	0.2

Tabela XVII: Fração de excreção de sódio em % no período do uso de enalapril 5 mg/dia.

DIA	DC	FSN	ICB	MFFS	MIFS	MISN	SMJ	SAF	WSM
15	0.7	-	0.9	-	0.9	0.6	-	-	-
30	0.5	0.4	0.8	0.7	0.6	0.4	0.4	0.4	0.7
45	-	-	-	-	-	-	-	-	-
60	0.5	-	0.3	-	0.7	0.6	0.0	0.6	0.5
90	0.5	0.4	0.4	1.1	0.7	0.9	0.0	-	0.5
120	0.7	0.6	0.6	0.7	-	-	0.2	0.6	0.8
150	0.6	0.7	0.7	0.5	-	1.0	0.3	0.3	1.3
180	0.9	0.6	0.5	0.5	-	0.6	0.1	0.4	1.2

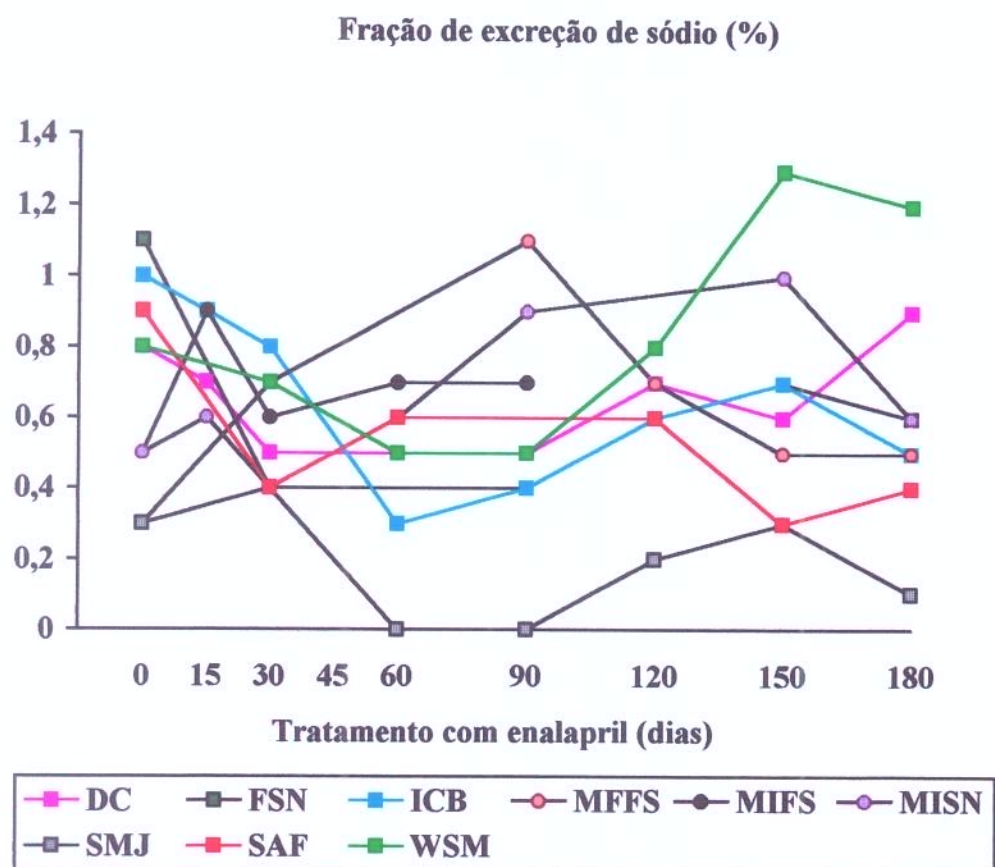


Figura 7 Fração de excreção de sódio dos participantes do tratamento com enalapril.

Tabela XVIII: Potássio sérico em mEq/l no período do uso de placebo.

DIA	DC	FSN	ICB	MFFS	MIFS	MISN	SMJ	SAF	WSM
15	-	4.9	3.8	4.2	-	4.9	4.8	5.5	-
30	5.8	3.9	5.3	-	5.6	-	5.9	4.8	4.7
45	6.7	4.3	-	-	-	4.0	-	-	3.8
60	-	-	4.7	6.8	5.8	4.5	4.8	5.8	4.7
MEDIA	6.2	4.4	4.6	5.5	5.7	4.5	5.2	5.4	4.4
DP	0.6	0.5	0.7	1.8	0.1	0.4	0.6	0.5	0.5

Tabela XIX: Potássio sérico em mEq/l no período do uso de enalapril 5 mg/dia.

DIA	DC	FSN	ICB	MFFS	MIFS	MISN	SMJ	SAF	WSM
15	4.0	-	7.1	-	6.8	5.6	-	-	-
30	4.8	4.6	5.6	6.1	6.2	4.3	6.1	5.4	5.2
45	4.0	-	-	6.1	-	-	-	-	-
60	5.5	4.0	7.5	4.9	6.6	6.6	5.4	6.1	4.7
90	5.4	4.4	6.7	5.7	6.1	6.1	4.9	5.4	6.8
120	5.9	5.3	5.6	6.1	6.7	6.7	6.0	6.1	6.9
150	5.5	5.7	5.4	6.8	-	-	5.4	5.7	5.2
180	4.0	4.4	4.7	6.7	-	-	6.0	5.5	4.7

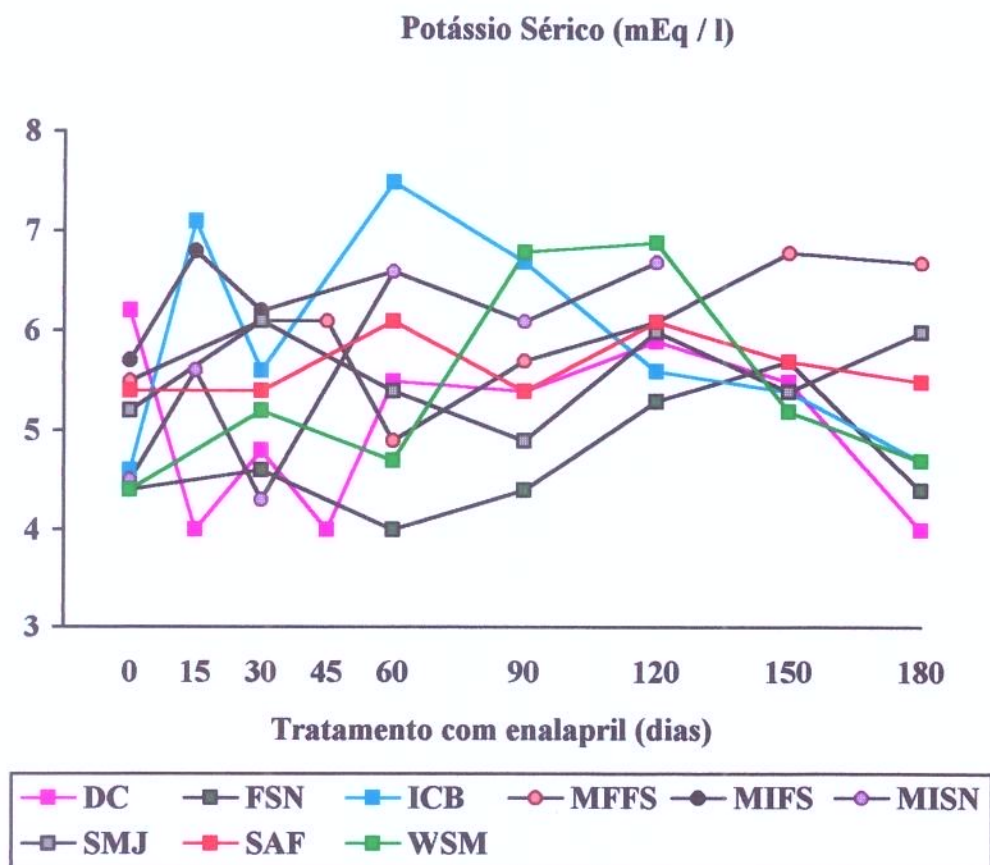


Figura 8 Potássio sérico dos participantes do tratamento com enalapril.

Tabela XX: Fração de excreção de potássio em % no período do uso de placebo.

DIA	DC	FSN	ICB	MFFS	MIFS	MISN	SMJ	SAF	WSM
15	-	6.0	2.7	0.7	-	2.0	1.0	0.5	-
30	1.4	3.9	3.8	-	2.5	-	-	2.9	1.9
45	0.4	3.2	-	-	-	2.3	-	-	2.8
60	-	-	2.9	0.8	1.3	3.4	1.6	1.3	1.6
MEDIA	0.9	4.4	3.1	0.7	1.9	2.6	1.3	1.6	2.1
DP	0.7	1.3	0.6	0.0	0.8	0.7	0.4	1.2	0.6

Tabela XXI: Fração de excreção de potássio em % no período do uso de enalapril 5 mg/dia.

DIA	DC	FSN	ICB	MFFS	MIFS	MISN	SMJ	SAF	WSM
15	1.7	-	2.1	-	1.4	2.2	-	-	-
30	1.2	1.4	2.5	3.0	1.0	2.1	1.6	1.8	1.9
45	2.2	-	-	1.6	-	-	-	-	-
60	1.0	-	1.0	4.7	1.5	2.7	-	1.2	1.1
90	0.9	4.0	1.2	1.8	1.9	2.7	-	-	0.9
120	1.3	2.8	2.3	2.0	1.8	-	0.9	2.9	2.0
150	1.2	2.1	2.9	1.8	-	3.9	1.2	1.3	3.4
180	1.9	2.8	1.5	2.0	-	2.0	1.2	1.4	3.7

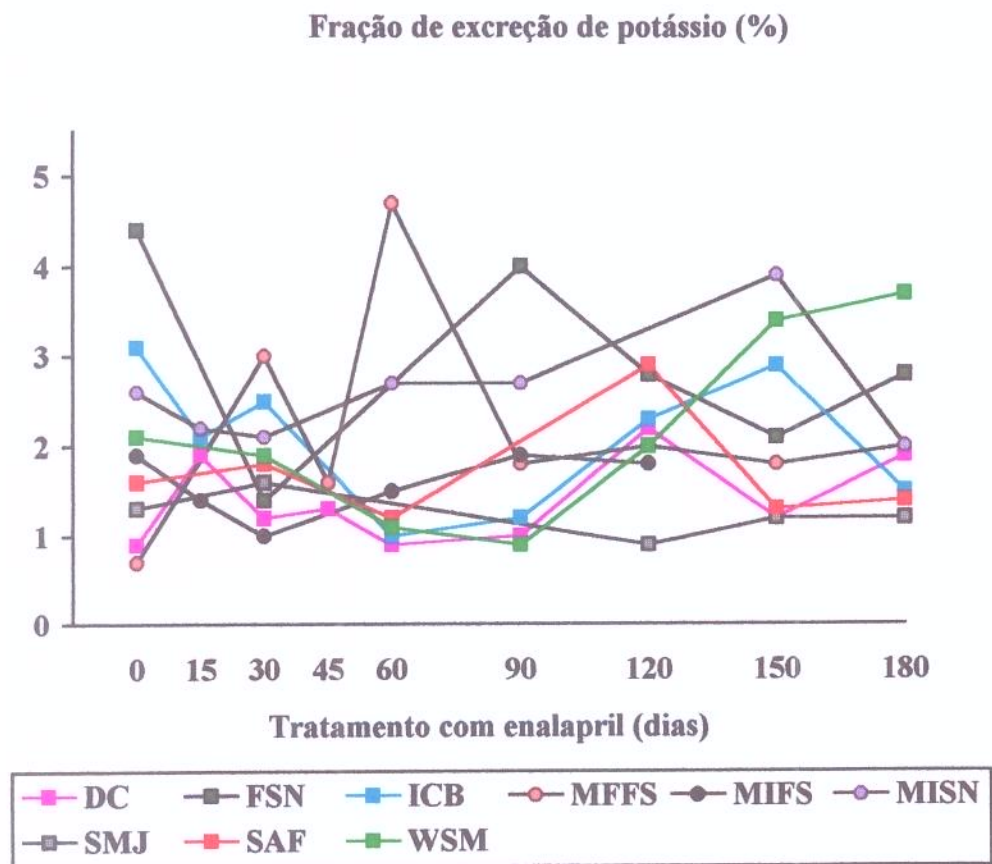


Figura 9 Fração de excreção de potássio dos participantes do tratamento com enalapril.

Tabela XXII: Valores do clearance de lítio, fração de excreção de lítio em % nos pacientes antes e depois do uso de enalapril 5 mg/dia.

NOME	Cl Li		FE Li	
	antes	depois	antes	depois
DC	13.7	7.0	6.9	2.6
FSN	17.4	52.7	17.4	27.7
ICB	7.9	20.0	9.1	15.7
MFFS	54.0	12.8	23.8	8.4
MIFS	25.3	-	11.6	-
MISN	8.3	41.3	5.5	24.1
SMJ	6.2	42.8	3.8	16.2
SAF	16.4	11.8	13.7	14.8
WSM	13.4	64.5	6.3	59.5
MÉDIA	18.1	31.7	10.9	21.1
DP	14.7	21.4	6.5	17.4

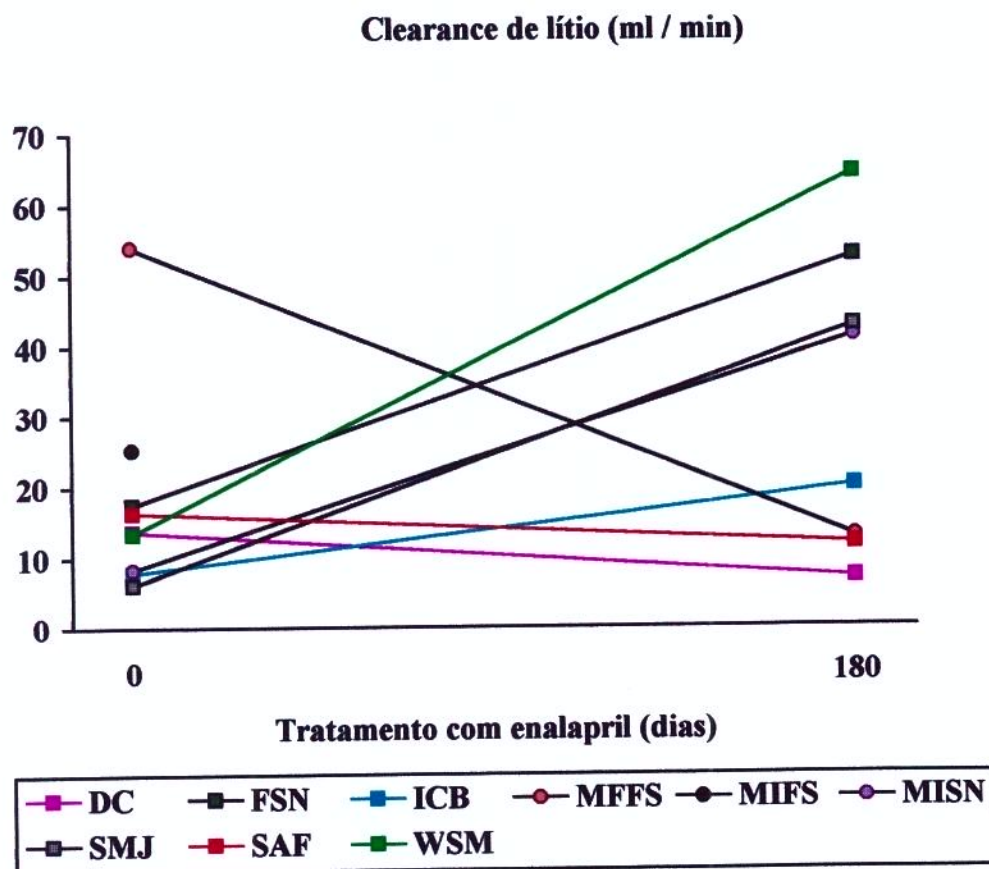


Figura 10 Valores do clearance de lítio dos participantes do tratamento com enalapril.

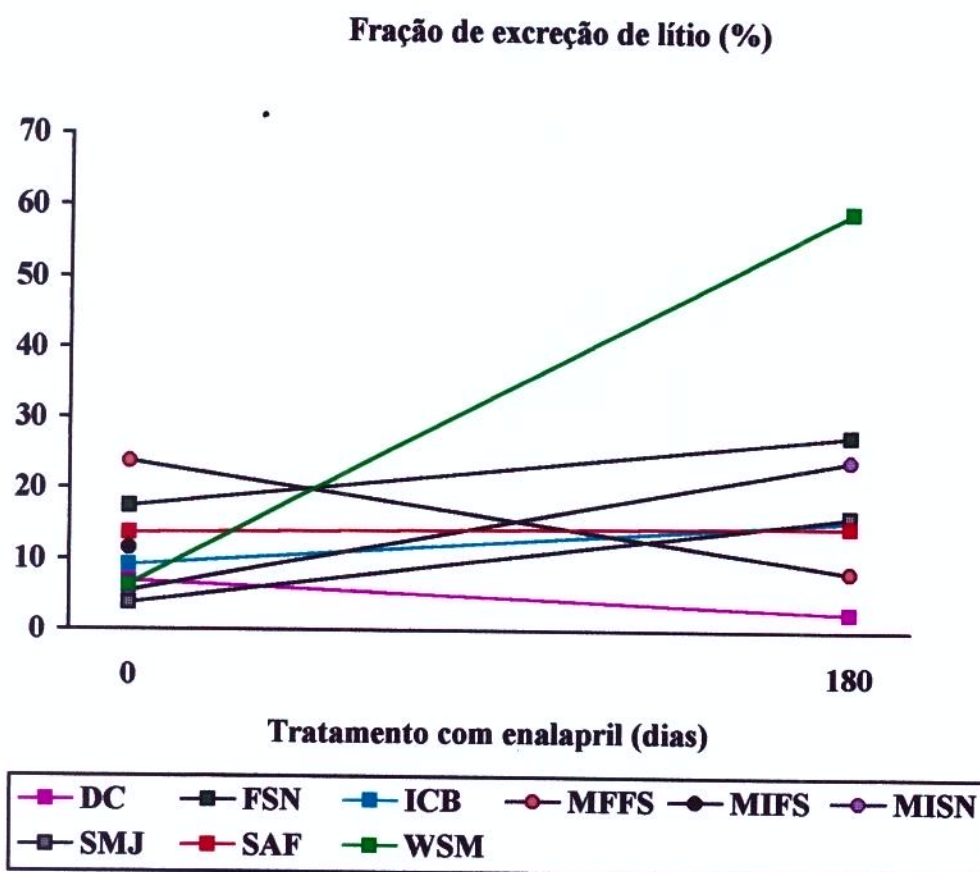


Figura 11 Valores da fração de excreção de lítio dos participantes do tratamento com enalapril.

DISCUSSÃO

Uma nova classe de drogas antihipertensivas foi desenvolvida a partir de fatores inibidores da enzima conversora da angiotensina II (ACE), encontrado no veneno da cobra *Bothrops jararaca*. O peptídeo bothrops foi chamado de tepróide (SQ 20881) e foi utilizado como droga antihipertensiva em humanos, apenas por via parenteral (Ferreira e cols, 1965), pois eram inativados quando administrados por via oral (Rotmensch e cols, 1988). Em 1977, Ondetti e cols desenvolveram um tepróide sintético, o captopril ou SQ 14225, potente inibidor da enzima conversora e ativo mesmo quando administrado por via oral. Todos os inibidores da enzima conversora têm em comum um grupo 2-metil propranolol-1-prolina, que é de importância crítica no bloqueio do sítio ativo da enzima conversora da angiotensina II (Williams, 1988). Infelizmente, inicialmente foram utilizadas grandes doses de captopril (600 - 1200 mg/dia), com alta incidência de efeitos colaterais tais como "rash" cutâneo (Edwards, 1985), distúrbios gustativos (Borek, 1989), neutropenia (Cooper, 1983) e proteinúria (Vidt, 1982), principalmente nos pacientes já portadores de alterações renais; estes efeitos colaterais foram atribuídas em parte à porção sulfidril da estrutura química do captopril (Rotmensch e cols, 1988). Foi então desenvolvido um inibidor da enzima conversora da angiotensina II, livre do radical sulfidril, o enalapril ou MK 421, tão efetivo quanto o captopril para o tratamento da hipertensão arterial e da insuficiência cardíaca, mas com menor incidência de efeitos colaterais. A molécula de enalapril é maior do que a do captopril, e é uma pró-droga, ou seja, é inativa até ser convertida no fígado em seu componente ativo, o enalaprilat (Brunner e cols, 1985).

Em 1981 o enalapril foi administrado por Brunner em voluntários sadios, e este demonstrou que a absorção do enalapril por via oral não sofria alterações pela administração concomitante de alimentos. O bloqueio máximo da atividade da angiotensina é alcançada com doses de 10 a 20 mg, porém doses menores como 2,5 mg já eram ativas para a inibição. Há uma queda no nível plasmático da pró-droga em menos de 1 hora após sua ingestão e a concentração do enalaprilat alcança seu máximo em 3 a 4 horas; funcionalmente, a meia vida da droga é de aproximadamente 11 horas, mas a atividade enzimática não retorna aos níveis normais até 72 horas após sua ingestão (Brunner e cols, 1981). Tanto o enalapril como o seu componente ativo, o

enalaprilat, são excretados na urina, por filtração glomerular e por secreção tubular (Davies, 1984).

O rim contém todos os componentes do sistema renina angiotensina. A renina e a angiotensina são excretadas nos componentes tubulares, vasculares e intersticiais do rim e tanto a angiotensina II produzida no local como a produzida sistemicamente, atuam no rim (Johnston e cols, 1973). A angiotensina II tem múltiplas ações incluindo a regulação e distribuição do fluxo sanguíneo renal, efeito vasoconstrictor nas arteríolas glomerulares, principalmente nas eferentes, contração do mesângio e regulação do fluxo da vasa reta (Dunn, 1990). A capacidade de concentração renal, supressão da síntese de renina e o transporte de sódio no túbulo proximal também sofrem influência da ação da angiotensina II (Navar e Rosivall, 1984).

Em 1940, Addies e cols induziram proteinúria experimentalmente em ratos através da injeção de renina; a proteinúria resultante foi atribuída aos efeitos hipertensivos da renina, assim como possíveis alterações na permeabilidade glomerular. Vários grupos descrevem que o uso de inibidores da enzima conversora da angiotensina reduz a proteinúria, e previne as alterações estruturais na nefropatia diabética (Bjorck e cols, 1986; Marre e cols, 1987; Parving e cols, 1988; Myres e cols, 1990), assim como na estenose renal, arteriolonefroesclerose e na insuficiência renal crônica de várias outras etiologias (Heeg, 1987). A redução da proteinúria não se deve apenas ao controle dos níveis pressóricos, porque a terapia convencional antihipertensiva não demonstra efeito semelhante sobre a proteinúria (Smith e cols, 1990 e Bjorck e cols, 1990).

A proteinúria é marcador de doença renal e pode ser transitória ou persistente; se persistente necessita de investigação clínica (Rennie, 1971). Os pacientes com doença renal, ou diabéticos que apresentam proteinúria, têm aumento na taxa de mortalidade; caso apresentem alto risco para doença cardiovascular a taxa de mortalidade é ainda maior, mesmo quando comparado a indivíduos com risco para doença cardiovascular sem proteinúria (Waller e cols, 1989). A proteinúria renal que tem origem glomerular é chamada "seletiva"; e "não seletiva" quando moderada e com proteínas de alto peso molecular. Ambas acontecem quando a permeabilidade glomerular está alterada pelo aumento no número ou tamanho dos poros ou por alterações nas cargas elétricas da membrana glomerular com consequente alteração na permeabilidade glomerular

às proteínas séricas. Imunocomplexos podem se depositar na membrana glomerular e aumentar o número dos poros e/ou alterar as cargas aniônicas por interação com proteoglicans glomerulares. Este mecanismo é encontrado na nefrite lúpica e nefrite pós infecções estreptocóccicas. No *Diabetes mellitus* a membrana glomerular perde o componente aniônico, alterando sua permeabilidade (Waller e cols, 1989).

Em condições normais, a reabsorção protéica tubular é dependente de energia e não é seletiva; é um processo competitivo no qual a proteína filtrada é reabsorvida e catalisada (Waller e cols, 1989). A proteinúria tubular primária é caracterizada pela reabsorção incompleta de proteínas de baixo peso molecular tais como β_2 microglobulina (Scharbijn e Statium van Eps, 1987) α_1 glicoproteínas e outras enzimas ou hormônios (Waller e cols, 1989). Doenças associadas à proteinúria tubular pura, resultam em perdas menores do que 1 g de proteína urinária ao dia.

A albumina está presente em considerável número de proteínas renais. Adultos sadios não perdem mais do que 150 mg de proteínas nas 24 h, 1/3 deste valor é albumina e 2/3 globulinas (Waller e cols, 1989).

O termo microalbuminúria é muito discutido. Quando a concentração de albumina urinária não é detectada facilmente pelas técnicas convencionais, mas está acima da taxa normal, é chamada de microalbuminúria. Os limites da microalbuminúria não estão definidos mas aceita-se como limite superior 20 mg/min (Bennett, 1989 e Steffes e cols, 1989) ou aproximadamente 30 mg/l (Mogensen, 1987, Howey e cols, 1989 e Clerico e cols, 1990). A dosagem da concentração de albumina urinária em um mesmo indivíduo varia em cerca de 35% no mesmo dia, e em dias diferentes (Bennett, 1989 e Gosling e Beevers, 1989). A concentração de albumina e proteínas aumentam de 114,2% para 128,1%, se a urina for colhida durante a noite em repouso, quando comparada à colheita durante o dia com atividade normal. Observa-se ainda variações significativas se as amostras são colhidas em repouso durante o dia e a noite, sugerindo variações pelo ritmo circadiano (Montagna e cols, 1983). Os homens apresentam excreção de albumina mais baixa do que as mulheres, mas esta diferença é menor na primeira urina da manhã. A primeira urina do dia tem menor variação intraindividual, e sua variação é semelhante em todos os indivíduos (Howey e cols, 1989).

A proteinúria é incomum nos portadores de anemia falciforme na infância, porém sua prevalência aumenta na segunda e terceira décadas. Assim, 22% dos portadores de anemia falciforme com mais de 30 anos e 46% acima dos 50 anos de idade apresentam proteinúria (Morgan e Serjeant, 1981). A maioria das proteinúrias (64,5%) são do tipo glomerular seletiva, enquanto que as não seletivas só são vistas em adultos, sendo 12,6% com padrão tubular e 22,9% de padrão misto (Lonsdorfer e cols, 1989). O mecanismo patogênico da proteinúria na anemia falciforme é múltiplo : a falcização dos eritrócitos nos capilares glomerulares e pós glomerulares, resultado da estase e anóxia; a associação com falência cardíaca e trombose da veia renal (Pardo e cols, 1996); os efeitos tóxicos pelos depósitos de ferro (Walker e cols, 1971); a fagocitose dos eritrócitos falciformes fragmentados pelas células mesangiais (Elfenbein e cols, 1974); a glomerulonefrite por imunocomplexo, antígenos microbianos ou produtos do sangue transfundidos (Pardo e cols, 1975; Strauss e cols, 1975) e fatores locais como estagnação dos eritrócitos nos capilares das alças ou proliferação mesangial (Walker e cols, 1971).

O presente trabalho teve como objetivo estudar a frequência da albuminúria em pacientes com doenças falciformes e o efeito do uso de inibidores da enzima conversora sobre a concentração da albumina urinária nas hemoglobinopatias S. O enalapril foi escolhido para o ensaio porque é eficaz mesmo quando administrado uma vez ao dia, sua absorção não é afetada pela ingestão concomitante de alimentos, além de ser melhor tolerado com menor incidência de efeitos colaterais.

O captopril e o enalapril são capazes de reduzir a microalbuminúria, a proteinúria não nefrótica e a proteinúria nefrótica. Estas diminuições são secundárias às alterações nas pressões dos fluxos renais, às alterações da permeabilidade e seletividade das membranas basais, e ao transporte das macromoléculas pelas células mesangiais (Meyer e cols, 1985). Especula-se que os inibidores da enzima conversora da angiotensina diminuem o tono da arteriola eferente glomerular, diminuindo a pressão hidrostática intraglomerular (Mann e cols, 1990); e a abertura adicional de capilares glomerulares e das alças redistribuem os fluxos plasmáticos renais (Taguma e cols, 1985). Agem também diretamente nas microfibras que integram o mesângio com as células e a matrix mesangial, e estas contraem quando expostas a angiotensina II. Quando a produção de

angiotensina é inibida, a superfície de filtração glomerular aumenta (Marre e cols, 1988) e a atração de macromoléculas pelo mesângio é reduzida, contribuindo para melhora da função mesangial, diminuição da expansão do mesângio e finalmente redução da proteinúria (Ferder e cols, 1990).

No presente trabalho houve redução significativa na concentração de albumina urinária nos da portadores de doença falciforme com o uso de enalapril, com diminuição mais acentuada nos portadores de concentração de albumina urinária intermediária. Apenas em 2 pacientes, cujos níveis de albumina urinária excederam o limite de sensibilidade do nosso método, não se observou redução concentração de albumina urinária. Dois anos após a suspensão da droga, a concentração de albumina urinária em 2 pacientes, manteve níveis normais; em 2 doentes voltou aos valores pré-tratamento, e nos demais indivíduos que participaram do estudo, assim como em 2 indivíduos que não utilizaram a droga, houve aumento da concentração de albumina urinária em relação aos níveis iniciais.

O excesso na produção de prostaglandinas e a perda de eletrólitos e água (de Jong e Statius van Eps, 1982) fazem com que indivíduos adultos, portadores de hemoglobinopatia S, com níveis de creatinina normais, tenham pressão arterial abaixo do esperado quando comparados com a população de raça, idade e sexo compatíveis. Por essa razão, os pacientes com doenças falciformes apresentaram pressão arterial média menor quando comparada ao do grupo controle. Durante o uso do enalapril, houve queda significativa na pressão arterial média (PAM), mas os pacientes não apresentaram sintomas colaterais. Apesar da redução de pressão arterial explicar parcialmente a queda na concentração de albumina urinária, nossos resultados sugerem a presença de um efeito antiproteinúrico mais específico do enalapril, por dois motivos: a redução da PAM foi discreta e 2 pacientes mantiveram níveis baixos de concentração da albumina urinária mesmo após suspensão da droga, apesar da elevação da PAM aos níveis pré-tratamento.

É fato conhecido que o clearance de creatinina apresenta variações no mesmo indivíduo e é sujeito a erros, pois depende da coleta e medida da urina de 24 horas, da presença ou ausência de edema, da dieta e da secreção tubular de creatinina. Em indivíduos normais a secreção tubular de creatinina varia de 10-40% do valor total da creatinina urinária, aumentando para 50 a 60% nos

pacientes com doença tubulointersticial; esta secreção é influenciada pelo uso de drogas como cimetidine, trimetropin e probenecid, e pela degradação da creatinina pela microflora intestinal (Levey e cols, 1988). Neste estudo, o clearance de creatinina foi significativamente maior nos pacientes quando comparados aos controles. Este aumento no clearance de creatinina é comumente observado em pacientes com doenças falciformes e se deve ao aumento do fluxo sanguíneo renal efetivo e da filtração glomerular (Etteldorf e cols, 1955). A hiperfiltração glomerular parece ser mediada por prostaglandinas, pois o tratamento com indometacina reduz a taxa de filtração glomerular (TFG) nos portadores de anemia falciforme mas não altera a TFG de indivíduos normais (de Jong e cols, 1980 e Allon, 1990). O tratamento com enalapril não modificou o clearance de creatinina.

O potássio sérico esteve aumentado significativamente nos pacientes estudados. Normalmente, a quantidade diária de potássio ingerida varia muito, e a quantidade excretada pela pele e pelas fezes é pequena, sendo o rim o maior responsável pela excreção deste íon (Riella, 1980). As causas mais comuns de hipercalemia são aquelas em que o rim não consegue excretar o potássio proveniente da liberação endógena pela destruição celular como por exemplo hemólise crônica. A maioria dos pacientes com anemia falciforme e com insuficiência renal são normocalêmicos (Battle e cols, 1982). Uma aparente hipercalemia é frequentemente observada na anemia falciforme e pode ser artefactual devido a uma tendência das células contendo HbS liberarem potássio (Serjeant, 1992). Apesar destes pacientes apresentarem risco de desenvolver hipercalemia pelo uso de inibidores da ACE (Allon e cols, 1988), neste trabalho não houve aumento significativo nos níveis de potássio sérico durante a administração do enalapril.

A diminuição da fração de excreção de potássio, observada em todos os pacientes com anemia falciforme deste estudo, quando comparados ao grupo controle, pode ser resultado de duas síndromes maiores : deficiência seletiva de aldosterona e acidose renal tubular distal hipercalemica (Battle, 1981). Geralmente a deficiência seletiva da aldosterona é vista na nefrite intersticial (Arruda e cols, 1979), e está associada à baixa atividade da renina plasmática, sugerindo lesão do aparelho justaglomerular. Porém, de Fronzo e cols (1979) demonstraram diminuição na capacidade de excreção de potássio em pacientes com anemia falciforme, níveis de

aldosterona normais e taxa de filtração glomerular normal. É possível que exista também um mecanismo direto das células do ducto coletor, capaz de secretar potássio independentemente da aldosterona (Allon, 1990). Na acidose renal hipercalemica tubular distal observa-se diminuição da secreção dos íons potássio e hidrogênio como consequência da reabsorção distal de sódio que está prejudicada, na anemia falciforme, o que causa uma alteração do gradiente elétrico ótimo necessário para a secreção de potássio e hidrogênio (Battle e cols, 1982). O tratamento com os inibidores da enzima conversora da angiotensina pode aumentar os níveis séricos de potássio, porque a excreção de potássio urinário é influenciada pela aldosterona e por sua vez dependente da angiotensina II (Bjork e cols, 1990). Entretanto, não observamos diferença significativa na fração de excreção de potássio durante o uso do enalapril.

A capacidade de concentração urinária nos portadores de anemia falciforme é comprometida precocemente. Os eritrócitos da vasa reta estão expostos a um ambiente hiperosmolar, resultando em falcização, aumento da viscosidade do sangue e dificuldade ao fluxo sanguíneo. Estes fatores diminuem a oxigenação das células tubulares da alça de Henle na medula renal e prejudicam a capacidade de absorção de sódio do lúmen tubular (Allon e cols, 1988). Entretanto, há um aumento da reabsorção de sódio no túbulo proximal, que parece ser secundário para a correção dos defeitos da medula renal (Strauss e cols, 1986). No presente trabalho, o uso de enalapril não alterou o sódio plasmático e a fração de excreção de sódio dos pacientes com doenças falciformes.

A taxa de filtração glomerular e a excreção urinária de sódio e água não são adequados para a avaliação do balanço de sódio e água nos túbulos renais. Certas substâncias como ácido úrico, fosfatos, cálcio e clearance de água livre podem ser utilizadas, embora não estimem apenas a reabsorção no túbulo proximal (Thomsem, 1984). Recentemente observou-se que o íon lítio é reabsorvido no túbulo proximal (pars convoluta e pars reta) na mesma proporção que o sódio e a água, mas nenhum lítio é reabsorvido ou secretado nos segmentos mais distais do néfron (Navar e Schafer, 1987). Portanto, o clearance de lítio estimaria quantitativamente o balanço de sódio e água do túbulo proximal (Koomans e cols, 1989). Este é o primeiro trabalho onde se realizou o clearance de lítio nos portadores de doenças falciformes, com o objetivo de avaliar a função

tubular proximal e os efeitos do enalapril nesta função. Nossos dados demonstram uma diminuição significativa do clearance e da fração de excreção de lítio nos pacientes com doenças falciformes, quando comparados aos controles normais. Estes resultados sugerem um aumento na reabsorção de sódio no túbulo proximal, em concordância aos dados de literatura que mostram que a função tubular proximal na anemia falciforme é supranormal, com aumento na capacidade de reabsorção do fosfato (de Jong e cols, 1978), β_2 microglobulina (de Jong e cols, 1981) e secreção do ácido úrico (Diamond e cols, 1975) e da creatinina (Allon, 1990). Holdaas e cols (1991) observaram que diabéticos com microalbuminúria recebendo lisinopril apresentavam redução não significativa do clearance de lítio e da excreção da β_2 microglobulina. No presente trabalho, durante o uso de enalapril, não houve alteração significativa do clearance e da fração de excreção de lítio, porém estas tenderam à normalização.

Com a melhora no atendimento dos portadores de anemia falciforme e doenças correlatas, a sobrevida desses pacientes tem aumentado. Doenças cérebro-cardio-vasculares e doenças renais também se tornam comuns em pacientes com mais de 40 anos de idade (Morgan e Serjeant, 1981 e Skalar e cols, 1990). Os dados deste trabalho sugerem que o uso dos inibidores da enzima conversora da angiotensina II na doença falciforme reduz persistentemente a concentração de albumina urinária, sem modificar a fração de excreção de sódio e potássio, o clearance de creatinina e a função tubular proximal. A diminuição da concentração de albumina urinária pode ser apenas um índice das consequências mecânicas da redução da pressão glomerular, sem evidências de melhora das lesões glomerulares (Marre, 1987). Porém, a redução da proteinúria per si já é um protetor renal porque, independente da origem da proteinúria, a sua presença perpetua o processo de glomeruloesclerose (Bjorck, 1990). Aparentemente, os inibidores da enzima conversora da angiotensina II protegem o rim de pacientes hipertensos e normotensos com nefropatia diabética (Parving e cols, 1988; Mathiesen e cols, 1991), assim como o rim de indivíduos não-diabéticos com proteinúria (Ferder e cols, 1990; Apperiso e cols, 1991). Adicionalmente, um efeito estabilizador prolongado (5 anos) nos níveis de creatinina plasmática e na proteinúria tem sido observado em diabéticos tipo II normotensos (Ravid e cols, 1993). Entretanto, estudos prospectivos de longa duração são necessários para avaliar os efeitos dos

inibidores da ACE na prevenção de insuficiência renal crônica em pacientes com doenças falciformes.

CONCLUSÕES

Nos pacientes com doenças falciformes estudados a frequência da albuminúria foi de 45 % nos portadores de anemia falciforme (SS), 20 % nos portadores de hemoglobinopatia SC e 25 % nos portadores de S β talassemia.

Nossos resultados demonstram que o enalapril reduz persistentemente a albuminúria de pacientes com anemia falciforme durante a utilização da droga. Após a suspensão do enalapril a albuminúria pode aumentar para níveis iguais ou maiores aos iniciais.

A pressão arterial média diminuiu durante o tratamento com o enalapril, porém apesar desta redução, os pacientes não apresentaram sintomatologia.

O sódio e o potássio plasmático, o clearance de creatinina e do lítio, a fração de excreção de sódio, potássio e lítio não se alteraram durante o uso do enalapril.

SUMMARY

The angiotensin - converting enzyme inhibitor (captopril and enalapril) are able to reduce albuminuria and proteinuria in patients with diabetic nephropathy as well as proteinuria in patients with renal disease of various origins. The reduction of proteinuria is most likely related to decreased renal vascular resistance, particularly in postglomerular arterioles, which results in a fall in intraglomerular capillary pressure.

The purpose of this study was to determine the prevalence of microalbuminuria and to evaluate the effects of enalapril, an angiotensin - converting enzyme inhibitor, on albuminuria associated with sickle cell anemia.

The microalbuminuria was measured by radioimmunoassay. The urine samples were collected on three separate occasions at intervals of 15 to 30 days. The study included 42 patients with sickle cell anemia (SS), 10 patients with hemoglobin SC disease (SC), 4 patients with S β - thalassenmia (S β) and 10 normal controls. Nineteen SS patients (45%) and 2 SC (20%) and 1 S β (25%) patients presented mean urinary albumin excretion above normal values (30 mg/l).

Nine patients with sickle cell anemia and albuminuria received B complex for 60 days and after that, they took oral enalapril (Renitec®) 5 mg daily for 180 days. All measurements were repeated every 15 to 30 days. Enalapril reduced in 6 patients, the pretreatment hyperalbuminuria to normal values and one patient had a 70 % reduction. In two patients it was not possible to demonstrate a variation in the albuminuria because the values were above the limit of detection by our method. Two years after enalapril was discontinued, we repeated all measurements in 6 patients who had received the drug and in 2 sickle cell anemia patients who presented hyperalbuminuria, but did not participate in the study. Urinary albumin concentration increased in all individuals, except for 4 patients who had received enalapril. The urinary albumin concentration returned to pretreatment levels in 2. The other 2 still had values below 30 mg/l.

There were no change in sodium, potassium or creatinine levels and fractional excretion of sodium, potassium, and lithium during the treatment. Mean arterial pressure decreased by $8,6 \pm 0,42$ mm Hg.

Our results demonstrate that enalapril reduced albuminuria in patients with sickle cell anemia. After discontinuation of the drug, however, the albuminuria may increase to pretreatment levels or higher. Whether the reduction in urinary albumin concentration by angiotensin -

converting enzyme inhibitors can delay the development of progressive renal failure in sickle cell anemia patients remains to be established.

ANEXOS

MICROALBUMINURIA IN SICKLE CELL DISEASE

R.Y. AOKI and S.T.O. SAAD

*Departamento de Clínica Médica, Universidade Estadual de Campinas,
13081 Campinas, SP, Brasil*

The kidney is involved in virtually all individuals who inherit the sickle cell form of hemoglobin. Though asymptomatic and relatively common, proteinuria in patients with sickle cell anemia (SS) over 40 years old is associated with reduced creatinine clearance. The subclinical increase in urinary albumin is termed microalbuminuria and is a marker of preclinical glomerular damage. The aim of the present study was to determine the presence of microalbuminuria measured by radioimmunoassay in patients with sickle cell disease. The study included 41 patients with SS, 11 patients with hemoglobin SC disease, 4 subjects with S β -thalassemia and 10 normal controls. All subjects were teenagers or adults. Sixteen SS patients (40%) and 1 SC (9%) and 1 S β (25%) patient presented mean urinary albumin excretion (UAE) above normal values (30 mg/l). No correlation was observed between UAE and age, creatinine clearance, hemoglobin level or %HbF. These parameters, as well as the presence of leg ulcers, were not significantly different between SS patients with and without UAE above 30 mg/dl. The high prevalence of microalbuminuria in patients with sickle cell anemia indicates that glomerular damage is common. The connection between microalbuminuria and clinical nephropathy has been demonstrated in diabetes and may indicate a sign of early disease rather than a marker for susceptibility. Thus, microalbuminuria may be an early indicator of glomerular damage for patients with sickle cell disease.

Key words: anemia, β -thalassemia, hemoglobin F, microalbuminuria, sickle cell disease.

Sickle cell disease is characterized by multiple organ infarctions following the blockage of capillaries by sickled erythrocytes and no organ appears to be free of these changes. The kidney is involved in virtually all individuals who inherit sickle cell hemoglobin. The increased concentration of deoxyhemoglobin S in the renal medulla leads to enhanced polymerization and consequent damage by vascular occlusion (1). Defects of renal tubular function have been frequently identified in sickle cell disease and the impairment in concentrating ability has been reported in all the sickle cell disorders, including sickle cell trait. Description of kidney involvement in homozygous sickle cell disease includes disruption of the medullary vasculature (2), cortical scarring (3), nephrotic syndrome with uremia (4,5) and asymptomatic renal failure (6). All these processes may be accompanied by abnormal amounts of protein in the urine and, therefore, it is not unexpected that the prevalence of proteinuria in patients with sickle cell disease is greater than normal. The proportion of

Presented at the V Annual Meeting of the Federação de Sociedades de Biologia Experimental, Caxambu, MG, August 24-28, 1990.

Publication supported by FAPESP.

Correspondence: Dr. S.T.O. Saad, Hemocentro Campinas, UNICAMP, Caixa Postal 6198, 13081 Campinas, SP, Brasil.

patients with proteinuria has varied between 17 and 33% (5,7,8) in several studies in which proteinuria was determined by the dipstick method. In sickle cell disease, both proteinuria and leg ulcers start to occur mainly in the second decade of life and their prevalence increases with age thereafter (5). However, in a study of 407 patients with sickle cell anemia (8), there was no significant association between the two, and it is therefore likely that they result from independent effects of the hemoglobinopathy on the kidneys and skin. Though asymptomatic and relatively common, proteinuria in SS patients over 40 years old is associated with reduced creatinine clearance. Without qualitative identification of the urinary protein it is not possible to determine whether the high prevalence of proteinuria results from renal tubular damage, glomerular damage, or both. The subclinical increase in urinary albumin is termed microalbuminuria and is a marker of preclinical glomerular damage (9).

The aim of the present study was to determine the prevalence of microalbuminuria in patients with sickle cell disease since, to our knowledge, there is no report on this subject in the literature. The study included 41 patients with sickle cell anemia (SS), 11 patients with hemoglobin SC disease (SC), 4 patients with S β -thalassemia (S β) and 10 normal controls (C). All subjects were adults or teenagers. Clinical and laboratory data for controls and patients are summarized in Table 1. Patients were clinically stable and the diagnosis of sickle cell disease was based on clinical, familial and laboratory data, including electrophoresis on cellulose acetate at pH 8.9 and on agar gel at pH 6.2 (10), solubility test (11), estimation of HbF (12) and HbA₂ (10). Three urine samples were collected at monthly intervals after oral water loading with 10 ml/kg (13), and urinary albumin excretion was determined by radio-immunoassay (Pharmacia kit). The results for urinary albumin excretion (UAE), i.e., the mean of three measurements, are shown in Figure 1. The deviation from mean of the three measurements was 26.3%. Sixteen SS patients (39%), 1 SC (9%) and 1 S β (25%) patient

Table 1 - Clinical and laboratory data of patients with sickle cell anemia (SS), hemoglobin SC disease (SC), S β -thalassemia (S β), and normal controls (C).

Data are reported as mean $\pm$ SD. *P < 0.05 compared to control (Student *t*-test).

	Sex	Age (years)	Hb (g/dl)	Creatinine clearance ml min ⁻¹ (1.73 m ²) ⁻¹
SS	21F/20M	26.2 $\pm$ 7.7 (14-47)	8.5 $\pm$ 1.4* (6.2-12.0)	180.0 $\pm$ 49.5* (92-264)
SC	6F/5M	28.6 $\pm$ 8.0 (19-42)	11.9 $\pm$ 0.8* (10.3-12.6)	134.6 $\pm$ 36.3* (96-202)
S β	2F/2M	27.8 $\pm$ 13.7 (13-44)	9.4 $\pm$ 1.7* (7.0-12.0)	158.3 $\pm$ 49.1* (106-221)
C	5F/5M	29.6 $\pm$ 4.5 (22-37)	14.0 $\pm$ 1.2 (12-17.2)	111.1 $\pm$ 20.9 (93-145)

presented UAE above the normal value of 30 mg/l reported in the literature and also to the mean +4 SD for our normals who were $\bar{x} \pm \text{SD} = 9.55 \pm 5.22$ mg/l (14). The frequency of UAE was lower in SC than in SS patients (Fisher exact test, $P < 0.05$). Creatinine clearance was measured (15) in all individuals and was significantly higher (Student *t*-test, $P < 0.001$) in patients with sickle cell disease than in normal controls (Table 1). Also, creatinine clearance was higher in SS than in SC patients ($P < 0.001$). No correlation (Pearson coefficient) was observed between UAE and age, creatinine clearance, hemoglobin level or %HbF. These parameters, as well as the presence of leg ulcers, were not significantly different (Student *t*-test and Chi-square test, respectively) between SS patients with and without UAE above 30 mg/dl.

Although all patients with sickle cell anemia show some evidence of tubular dysfunction from early childhood (5), the high frequency of microalbuminuria in the present study indicates that glomerular damage is also common. The connection between microalbuminuria and clinical nephropathy has been demonstrated in diabetes and may represent a sign of early disease rather than a marker for susceptibility (15). The higher creatinine clearance observed in our patients was expected. In fact, patients with sickle cell anemia, like diabetics, present an increase in effective renal blood and plasma flow and glomerular filtration rate (16), probably due to anemia and increased renal synthesis of prostaglandins (17,18). However, these functions decline with age (5). Our patients with sickle cell anemia were quite homogeneous, especially in terms of age. There were few patients less than 18 years old or more than 35 years old and most were 20 to 30 years old. This homogeneity may not permit a clear correlation between parameters as age or creatinine clearance and microalbuminuria. Furthermore, the hemoglobin SC disease is less severe than sickle cell anemia (5). In this study, Hb level was higher in SC than in SS, which could explain, in part, the lesser increase in creatinine clearance in SC patients. Thus, the lower frequency of microalbuminuria in SC disease may be due to a lower level of renal damage.

In addition to the chronic damage to the microcirculation caused by sickling, the deleterious effects of high glomerular blood flow may determine capillary damage through

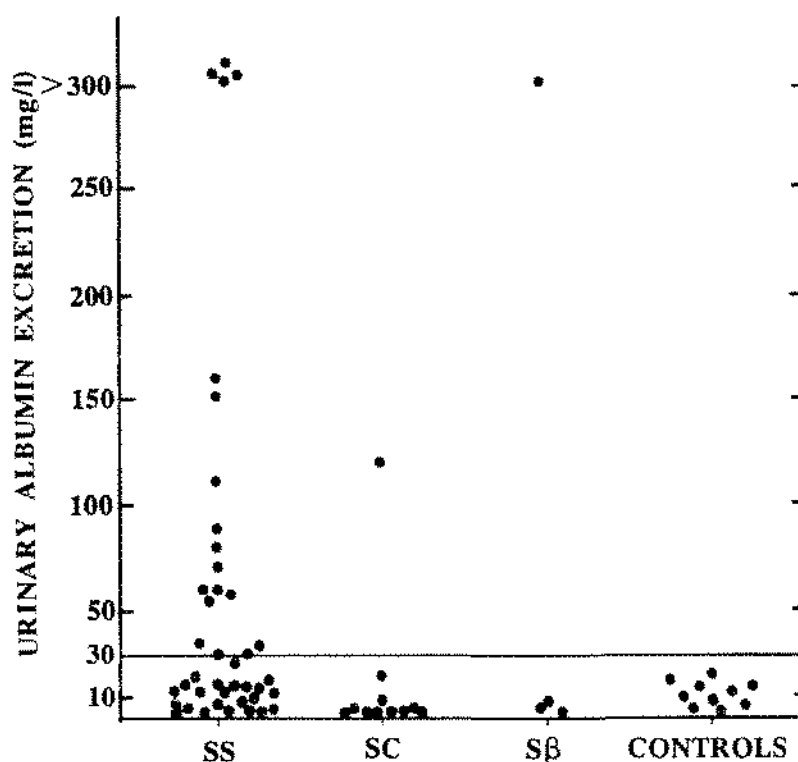


Figure 1 - Microalbuminuria in patients with sickle cell anemia (SS), hemoglobin SC disease (SC), S β -thalassemia (S β), and normal controls (C). The data reported are the mean of three monthly urine samples obtained after oral water loading.

direct mechanical injury and increased transcapillary passage of macromolecules (19). Thus, microalbuminuria could be an early detector of glomerular damage also for patients with sickle cell disease, a fact that can be confirmed by long-term follow-up of these patients.

References

1. Bunn HF & Forget BG (1986). *Hemoglobin: Molecular, Genetic and Clinical Aspects*. W.B. Saunders, Philadelphia, 523-526.
2. Statius van Eps LW, Pinedo-Veels G, de Vries GH & de Koning J (1970). *Lancet*, 1: 450-451.
3. McCall IA, Moule N, Desai P & Serjeant GR (1978). *Radiology*, 126: 99-104.
4. Pardo V, Kramer H, Levi D & Strauss J (1973). *American Journal of Pathology*, 70: 4a.
5. Serjeant GR (1985). *Sickle Cell Disease*. Oxford University Press, Oxford, 206-222.
6. Morgan AG & Serjeant GR (1981). *British Medical Journal*, 282: 1181-1186.
7. Henderson AB (1950). *American Journal of Medicine*, 9: 757-765.
8. Morgan AG (1982). *Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 85: 205-208.
9. Viberti GC & Heen H (1984). *Diabetes*, 33: 686-692.
10. Weatherall DJ & Clegg B (1981). *The Thalassaemia Syndromes*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 744-769.
11. Zago MA, Costa FF & Bottura C (1982). *Revista Paulista de Medicina*, 100: 15-17.
12. Pembrey ME, MacWade P & Weatherall DJ (1972). *Journal of Clinical Pathology*, 25: 738-742.
13. Howey JEA, Browning MCK & Fraser CG (1989). *American Journal of Kidney Disease*, 13: 35-37.
14. Viberti G (1988). *Diabetes Care*, 11: 840-845.
15. Henry RJ (1964). *Clinical Chemistry, Principle and Technics*. Harper & Row, New York, 213-215.
16. Strauss J, Zilleruelo G & Abitbol C (1986). *Nephron*, 43: 241-245.
17. De Jong PE & Statius Van Eps LW (1985). *Kidney International*, 27: 711-717.
18. De Jong PE, De Jong-Van den Berg LTW, De Zeeuw D, Donker AJM, Schouten H & Statius Van Eps LW (1982). *Clinical Science*, 63: 53-58.
19. Zatz R & Brenner BM (1986). *American Journal of Medicine*, 80: 443-453.

Received April 16, 1990

Accepted September 6, 1990

Enalapril Reduces the Albuminuria of Patients With Sickle Cell Disease

Regina Y. Aoki, MD, Sara T.O. Saad, MD, Campinas, Brazil

PURPOSE: To evaluate the effects of enalapril, an angiotensin-converting enzyme inhibitor, on albuminuria associated with sickle cell anemia.

PATIENTS AND METHODS: Two males and 6 females, mean age 22.8 ± 5.5 years, with sickle cell anemia and albuminuria, received enalapril for 6 months. Before entry into the study, all had a urinary albumin concentration above 30 mg/L as determined by radioimmunoassay documented on three separate occasions at intervals of 15 to 30 days. Samples were collected before 10 AM after an oral water load of 10 mL/kg.

RESULTS: Enalapril reduced 6 patients' pretreatment hyperalbuminuria to normal. One patient whose levels did not reach normal values experienced a reduction of 70%. Fractional excretion of sodium, potassium, and lithium did not change during the treatment. Mean arterial pressure decreased by 8.6 ± 0.42 mm Hg. Two years after enalapril was discontinued, there were no changes in sodium, potassium, or creatinine levels of 7 patients who had received enalapril or in their mean arterial pressures. Urinary albumin concentration increased relative to pretreatment levels in 2 individuals, returned to pretreatment levels in 2, and remained below 30 mg/L in 2.

CONCLUSION: Our results demonstrate that enalapril reduces albuminuria in patients with sickle cell anemia. After discontinuation of the drug, however, the albuminuria may increase to pretreatment levels or higher. Whether the reduction in urinary albumin concentration by angiotensin-converting enzyme inhibitors can delay the development of progressive renal failure in sickle cell anemia patients remains to be established.

Focal segmental glomerulosclerosis in the setting of glomerular hypertrophy is a common lesion in sickle cell disease.^{1,4} One explanation for this glomerular hypertrophy is a vasodilation of the af-

ferent glomerular arterioles and glomerular hypertension resulting from the increased renal production of prostaglandins by the kidney.⁵ Thus, young patients with sickle cell disease have supranormal renal hemodynamics with an elevated glomerular filtration rate and renal plasma flow.^{6,8} The prolonged glomerular hyperfiltration may damage the glomeruli, leading to glomerular sclerosis, proteinuria, and progressive renal failure.⁹

The prevalence of proteinuria in patients with sickle cell disease has varied from 17% to 33% in several studies in which proteinuria was determined by the dipstick method.^{1,10,11} While asymptomatic and relatively common, proteinuria is associated with reduced creatinine clearance in patients over 40 years old with sickle cell anemia.¹²

Angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors preferentially dilate the efferent glomerular arterioles, leading to a fall in the intraglomerular pressure and a decrease in the glomerular permeability to albumin.¹³ These drugs are able to reduce albuminuria in normotensive patients with incipient diabetic nephropathy^{14,15} as well as proteinuria in patients with renal disease of various origins.¹⁶ Falk et al¹ administered enalapril for 2 weeks to sickle cell anemia patients and observed a 57% decrease in their mean 24-hour urinary protein excretion.

Healthy adults excrete from 2 to 26 mg of albumin daily in their urine, with a geometric mean of 9.5 mg/d.¹⁷ Albumin comprises up to 11% of their total urinary protein. These levels are defined as normoalbuminuria. Urinary albumin excretion can vary due to the combined effects of concentration, urine flow, and inherent day-to-day variability. Day-to-day variability is generally around 40% and decreases when the samples are collected early in the morning. Although hydration status fluctuates, the intra-individual variance is lower for albumin concentration than for albumin excretion rate.¹⁸ Forty percent of teenagers and adults with sickle cell anemia present abnormal albuminuria.¹⁹

The aim of this study was to evaluate whether or not the ACE inhibitor enalapril is able to lower the albuminuria in patients with sickle cell anemia and, if so, for how long.

PATIENTS AND METHODS

Eight patients with sickle cell anemia and albuminuria received enalapril. They were 2 males and 6

From the Hematology Division, Department of Internal Medicine and Hemocentro, State University of Campinas, Campinas-SP, Brazil. Requests for reprints should be addressed to Sara T.O. Saad, MD, Hemocentro-UNICAMP, CP 6198 - Cep 13081-970, Campinas-SP, Brazil. Manuscript submitted August 19, 1993 and accepted in revised form July 8, 1994.

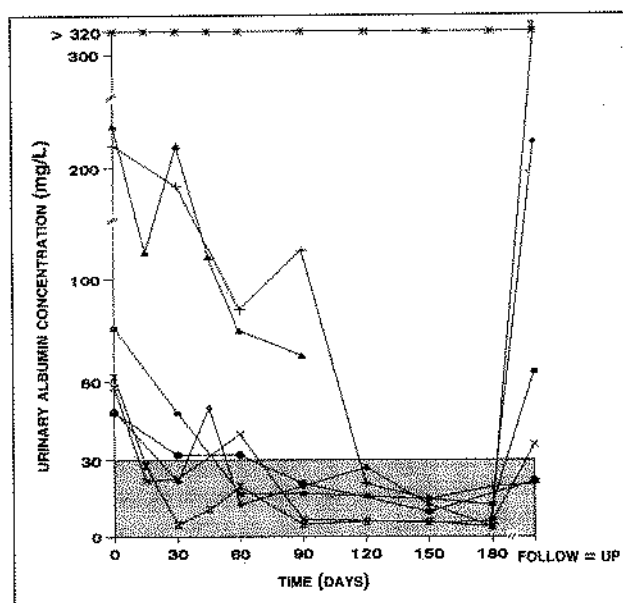


Figure. Urinary albumin concentration (mg/L) in patients with sickle cell anemia before (0 days) and during enalapril treatment (30, 60, 90, 120, 150, 180 days) and 2 years after discontinuation of the drug (follow-up). Shaded area corresponds to the normal range.

females with a mean age of 22.8 ± 5.5 years. All were clinically stable and the diagnosis of sickle cell disease was based on clinical, familial, and laboratory data, including electrophoresis on cellulose acetate at pH 8.9 and on agar gel at pH 6.2,²⁰ the solubility test,²¹ and the estimation of HbF²² and HbA2.²⁰ All gave informed consent. The study was approved by the Ethical Committee of this hospital.

Our eligibility criteria required urinary albumin concentration (UAC) above 30 mg/L on three separate occasions at intervals of 15 to 30 days. Ten normal individuals (5 males, 5 females; mean age 29.6 ± 4.5 years) had mean UAC levels of 9.55 ± 5.22 mg/L. Samples were collected before 10 AM following an oral water load of 10 mL/kg. Albumin was measured by radioimmunoassay (Kit Pharmacia, Uppsala, Sweden). None of the patients had hypertension or serum creatinine levels higher than 1.7 mg/dL. After three pretreatment determinations of arterial pressure, UAC, serum and urinary electrolytes, and creatinine clearance, the patients took oral enalapril 5 mg daily for 6 months. All measurements were repeated every 15 to 30 days. Lithium clearance was performed before and after the treatment, as previously described.^{23,24} After 2 years without enalapril, we repeated the UAC determination.

Blood pressure was measured with a standard mercury sphygmomanometer. Mean arterial pressure (MAP) was calculated as the diastolic blood pressure plus one third of the difference between systolic and diastolic pressure. Sodium, potassium, and lithium were measured by flame spectrophotometry and creatinine by the Jaffé reaction.

STATISTICAL ANALYSIS

Significance was defined as $P < 0.05$. Variations in albuminuria, mean arterial pressure, creatinine clearance, serum potassium, and fractional excretion of sodium and potassium were compared by regression analysis. To compare fractional excretion of lithium before and after 6 months of enalapril treatment, we used the Wilcoxon signed rank test. To compare patients and controls we used the Mann-Whitney U test.

RESULTS

Pretreatment hyperalbuminuria decreased to normal in 6 patients (Figure). One patient whose levels did not reach normal values experienced a 70% reduction. In one patient the change in albuminuria was not measured because the values were above the limit of detection of the method used. There were no adverse effects from enalapril treatment and no vaso-occlusive crises. Before enalapril treatment, the creatinine clearance was higher in patients than controls ($P = 0.002$), and the mean arterial pressure and fractional excretion of potassium and lithium were significantly lower ($P = 0.002$, $P = 0.014$, and $P = 0.001$, respectively). These values did not change significantly during the course of treatment except for the decrease in the MAP. There was a tendency to increase the serum potassium levels during the course of treatment. These results are presented in the Table.

Two years after enalapril was discontinued, we repeated all measurements in 6 patients who had received the drug and in 2 sickle cell anemia patients who presented UAC above 30 mg/L but did not participate in the study. There were no changes in sodium, potassium, and creatinine levels or in the mean arterial pressure. Urinary albumin concentration increased in all individuals, except for 4 patients who had received enalapril. The UAC returned to pretreatment levels in 2. The other 2 still had values below 30 mg/L (Figure).

DISCUSSION

Our results demonstrate that enalapril reduces albuminuria in patients with sickle cell anemia. After discontinuation of the drug the albuminuria may increase to pretreatment levels or higher. Enalapril did not alter creatinine clearance or sodium, potassium, or lithium fractional excretion. Arterial pressure decreased with enalapril. Although this reduction in blood pressure could partially account for the fall in albuminuria, our results suggest the presence of a more specific antiproteinuric effect of ACE inhibitors. Such an effect would explain the results in 2 patients whose albuminuria decreased markedly with only mild reductions in blood pressure, and whose low albuminuria values persisted while their blood pres-

TABLE

Clinical and Laboratory Data (Mean $\pm$ SD) for Patients With Sickle Cell Anemia Before and During Enalapril Treatment and 2 Years After Discontinuation of the Drug (Follow-Up)

	Controls (n = 10)	Sickle Cell Anemia Patients (n = 8) Enalapril Treatment		
		Before	After 6 Months	Follow-Up
MAP (mm Hg)	86.9 $\pm$ 8.6	70.4 $\pm$ 5.5 [†]	61.7 $\pm$ 3.4 [†]	72.2 $\pm$ 6.9
Ks (mEq/L)	4.5 $\pm$ 0.2	5.0 $\pm$ 0.6	5.5 $\pm$ 1.0	5.2 $\pm$ 0.8
FEK (%)	4.2 $\pm$ 1.1	2.1 $\pm$ 1.0 [†]	2.1 $\pm$ 0.7	2.2 $\pm$ 1.0
FELi (%)	28.8 $\pm$ 9.1	10.9 $\pm$ 6.16 [§]	21.1 $\pm$ 16.3	—
FENa (%)	0.9 $\pm$ 0.2	0.7 $\pm$ 0.2	0.6 $\pm$ 0.3	0.7 $\pm$ 0.3
CreatCl (mL/min)	109 $\pm$ 19	178 $\pm$ 58 [†]	175 $\pm$ 46	180 $\pm$ 50

[†]Significantly lower (P = 0.004) when compared to before or follow-up values.[†]P = 0.002 vs. controls.[†]P = 0.014 vs. controls.[§]P = 0.001 vs. controls.

Significantly different when compared to controls.

MAP = mean arterial pressure; Ks = serum potassium; FEK = fractional excretion of potassium; FELi = fractional excretion of lithium; FENa = fractional excretion of sodium; CreatCl = creatinine clearance.

sure returned to baseline levels after discontinuation of the drug.

The elevated creatinine clearance observed in this study is a common finding and probably reflects the high creatinine secretion in the proximal tubules and the supranormal renal hemodynamics that are both usually found in sickle cell anemia patients.⁸ An apparent hyperkalemia is usually observed in sickle cell disease and may be artifactual because of the tendency of HbS-containing cells to release potassium on standing.²⁵ After enalapril was discontinued, these biochemical parameters maintained their baseline values.

In sickle cell anemia, the proximal tubule is hyperfunctional,²⁵ as was confirmed by the low fractional excretion of lithium observed in our study. Throughout enalapril treatment, this laboratory parameter remained unchanged or tended to normalize.

ACE inhibitors induce renal vasodilation. In healthy volunteers and in patients with essential hypertension and normal renal function, both captopril and enalapril stimulate a rise in the effective renal plasma flow.^{26,27} Efferent vascular tone (post-glomerular) is regulated primarily by angiotensin II,^{28,29} hence efferent vasomotor tone will decrease after ACE inhibition.¹⁶ The reduction in proteinuria is most likely related to decreased renal vascular resistance, particularly in postglomerular arterioles, which results in a fall in the intraglomerular capillary pressure. In the rat renal ablation model,³⁰ the development of glomerulosclerosis and progressive albuminuria can be prevented by normalizing glomerular capillary pressure through the use of ACE inhibitors.

Renal protection by ACE inhibitors has been described in hypertensive and normotensive patients with diabetic nephropathy³¹⁻³³ and also in nondiabetic patients with proteinuria.^{34,35} In addition, a long-term (5 years) stabilizing effect of ACE inhibitors on

plasma creatinine and on proteinuria in normotensive type II diabetic patients has been reported.³⁶ Whether the decrease in the urinary albumin concentration by enalapril treatment delays the course of progressive renal failure in sickle cell anemia patients remains to be established.

ACKNOWLEDGMENT

We are most grateful to Drs. Mario J.A. Saad, Waldir Eduardo Garcia, and Fernando F. Costa for helpful discussions. We also thank Drs. Stephen Hyslop and Mary Lucy S. Queiroz for proofreading the manuscript.

REFERENCES

1. Falk RJ, Scheinman J, Phillips G, et al. Prevalence and pathologic features of sickle cell nephropathy and response to inhibition of angiotensin-converting enzyme. *NEJM*. 1992;326:910-915.
2. Elfenbein IB, Patchefsky A, Schwartz W, Weinstein AG. Pathology of the glomerulus in sickle cell anemia with and without nephrotic syndrome. *Am J Pathol*. 1974;77:357-374.
3. Bernstein J, Whitten CF. A histologic appraisal of the kidney in sickle cell anemia. *Arch Pathol Lab Med*. 1960;70:407-418.
4. Tejani A, Phadke K, Adamson O, et al. Renal lesions in sickle cell nephropathy in children. *Nephron*. 1985;39:352-355.
5. De Jong PE, Status van Eps LW. Sickle cell nephropathy: new insights into its pathophysiology. *Kidney Int*. 1985;27:711-717.
6. De Jong PE, de Jong-van den Berg TW, Sewrajsingh GS, et al. The influence of indomethacin on renal hemodynamics in sickle cell anemia. *Clin Sci*. 1980;59:245-250.
7. Allon M, Lawson L, Eckman JR, et al. Effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on renal function in sickle cell anemia. *Kidney Int*. 1988;34:500-506.
8. Allon M. Renal abnormalities in sickle cell disease. *Arch Intern Med*. 1990;150:501-504.
9. Zatz R, Brenner BM. Pathogenesis of diabetic microangiopathy: the hemodynamic view. *Am J Med*. 1986;80:443-453.
10. Bakir AA, Hathiwalla SC, Alnis H, et al. Prognosis of the nephrotic syndrome in sickle glomerulopathy: a retrospective study. *Am J Nephrol*. 1987;7:110-115.
11. Morgan AG. Proteinuria and leg ulcers in homozygous sickle cell disease. *J Trop Med Hyg*. 1982;85:205-208.
12. Morgan AG, Serjeant GR. Renal function in patients over 40 with homozygous sickle cell disease. *BMJ*. 1981;282:1181-1183.
13. Anderson S, Renke HG, Brenner BM. Therapeutic advantage of converting

- enzyme inhibitors in arresting progressive renal disease associated with systemic hypertension in the rat. *J Clin Invest*. 1986;77:1993-2000.
14. Mirman A, Insua A, Ribstein J, et al. Comparative effect of captopril and nifedipine in normotensive patients with incipient diabetic nephropathy. *Diabetes Care*. 1988;11:850-853.
 15. Marre M, Chatellier G, Leblanc H, et al. Prevention of diabetic nephropathy with enalapril in normotensive diabetics with microalbuminuria. *BMJ*. 1988;297:1092-1095.
 16. Heeg JE, de Jong PE, van der Helm GK, de Zeeuw D. Reduction of proteinuria by angiotensin converting enzyme inhibition. *Kidney Int*. 1987;32:78-83.
 17. Viberti G. Etiology and prognostic significance of albuminuria in diabetes. *Diabetes Care*. 1988;11:840-845.
 18. Howey JEA, Broging MCK, Fraser CG. Biologic variation of urinary albumin: consequences for analysis, specimen collection, interpretation of results, and screening programs. *Am J Kidney Dis*. 1989;13:35-37.
 19. Aoki RY, Saad STO. Microalbuminuria in sickle cell disease. *Brazilian J Med Biol Res*. 1990;23:1103-1106.
 20. Weatherall DJ, Clegg B. *The Thalassemia Syndromes*. Third Ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications; 1981:744-769.
 21. Zago MA, Costa FF, Botura C. Teste de solubilidade quantitativo modificado em hemolizados normais e em variantes de hemoglobina. *Rev Paul Med*. 1982;100:15-17.
 22. Parving HH, Andersen AR, Smidt UW. Diabetic nephropathy and arterial hypertension: the effect of antihypertensive treatment. *Diabetes*. 1983;32:83.
 23. Thomsen K. Lithium clearance: a new method for determining proximal and distal tubular reabsorption of sodium and water. *Nephron*. 1984;37:217-223.
 24. Koomans HA, Boer WH, Mees EJD. Evaluation of lithium clearance as a marker of proximal tubule sodium handling. *Kidney Int*. 1989;36:2-12.
 25. Serjeant GR. *Sickle Cell Disease*. 2nd ed. New York: Oxford University Press; 1992:273.
 26. Navis GJ, de Jong PE, Donker AJM, de Zeeuw D. Effects of enalapril on blood pressure and renal haemodynamics in essential hypertension. *Proc Eur Dial Transplant Assoc*. 1983;20:577-581.
 27. Simon G, Morioka S, Snyder DK, Cohn JN. Increased renal plasma flow in long-term enalapril treatment of hypertension. *Clin Pharmacol Ther*. 1983;34:459-465.
 28. Edwards RM. Segmental effects of norepinephrine and angiotensin II on isolated renal microvessels. *Am J Physiol*. 1983;24:526-534.
 29. Feig PU, Rutan GH. Angiotensin converting enzyme inhibitors: the end of end-stage renal disease. *Ann Intern Med*. 1989;111:451-452.
 30. Anderson S, Meyer TW, Rennke HG, Brenner BM. Control of glomerular hypertension limits glomerular injury in rats with reduced renal mass. *J Clin Invest*. 1985;76:612-619.
 31. Parving HH, Hommel E, Smidt UM. Protection of kidney function and decrease in albuminuria by captopril in insulin dependent diabetics with nephropathy. *BMJ*. 1988;297:1086-1091.
 32. Bjorck S, Mulec H, Johnsen SA, et al. Renal protective effect of enalapril in diabetic nephropathy. *BMJ*. 1992;304:339-343.
 33. Mathiesen ER, Hommel E, Giese J, Parving HH. Efficacy of captopril in postponing nephropathy in normotensive insulin dependent diabetic patients with microalbuminuria. *BMJ*. 1991;303:81-87.
 34. Ferder LF, Inserra F, Daccordi H, Smith RD. Enalapril improved renal function and proteinuria in chronic glomerulopathies. *Nephron*. 1990;55(suppl 1):90-95.
 35. Apperiso AJ, de Zeeuw D, Sluiter HE, de Jong PE. Differential effects of enalapril and atenolol on proteinuria and renal hemodynamics in nondiabetic renal disease. *BMJ*. 1991;303:821-824.
 36. Ravid M, Savin H, Jutrin I, et al. Long-term stabilizing effect of angiotensin-converting enzyme inhibition on plasma creatinine and on proteinuria in normotensive type II diabetic patients. *Ann Intern Med*. 1993;118:577-581.

BIBLIOGRAFIA

- Addies T, Barret E, Bayd RI : Renin proteinuria in rat : Tge relation between the proteinuria and the pressor effect of renin. **J. Exp. Med.** **89**:131-40, 1940.
- Alleyne GAO, Staius van Eps LW, Addae SK, Nicholson GD, Schouten H: The kidney in sickle cell anemia. **Kidney Intern.** **7**:371-79,1975.
- Allon M, Lawson L, Eckman J, Delaney V, Bourke E : Effects of nonsteroidal antinflammatory drugs on renal function in sickle cell anemia. **Kidney Inter.** **34**:500-506, 1988.
- Allon M : Renal abnormalities in sickle cell disease. **Arch. Intern. Med.** **150**:501-504, 1990.
- Anderson S, Rennke HG, Brenner BM : Therapeutic advantage of converting enzyme inhibitors in arresting progressive renal disease associated with systemic hypertension in the rats. **J. Clin. Invest.** **77**:1993-2000, 1986.
- Antonarakis SE, Boehm CD, Serjeant GR, Theisen CE, Dover GJ, Kazazian HH : Origin of the β s-globin gene in blacks: The contribution of recurrent mutation or gene conversion or both. **Proc. Natl. Acad. Sci.** **81**:853-56, 1984.
- Apperiso AJ, de Zeeuw D, Sluiter HE, de Jong PE : Differential effects of enalapril and atenolol on proteinuria and renal hemodynamics in non-diabetic renal disease. **Br.Med.J.** **303**:821-24, 1991.
- Arruda JAL, Battle D, Sehy JT, Roseman M, Baranowski R, Kurtzman NA : Hyperkalemia in renal insufficiency: Role of aldosterone deficiency and renal tubular dysfunction. **Clin. Res.** **27**:624A-628, 1979.
- Battle D : Hyperkalemic hyperchloremic metabolic acidosis associated with seletive aldosterone deficiency and distal renal tubular acidosis. **Semin. Nephrol.** **1**:260-73, 1981.
- Battle D, Itsarayoungyuen K, Arruda JAL, Kurtzman NA : Hyperkalemic hyperchoremic metabolic acidosis in sickle cell hemoglobinopathies. **Am. J. Med.** **71**:188-92, 1982.
- Beiguelman B : **Curso prático de Bioestatística**. Rev. Bras. Genética, 1991.
- Benedetti RG, Linas SL : Mechanism of decreased vascular response to angiotensin II in renal vascular hypertension. **Kidney Inter.** **31**:906-12, 1987.

- Bennett PH : "Microalbuminuria" and Diabetes : A critique-assessment of urinary albumin excretion and its role in screening for diabetic nephropathy. **Am. J. Kid. Dis.** 13:29-34, 1989.
- Bjorck S, Nyberg G, Mulec H, Granerus G, Herlitz H, Aurell M : Beneficial effects of angiotensin converting enzyme inhibition on renal function in patients with diabetic nephropathy. **Br. Med. J.** 293:471-74, 1986.
- Bjorck S, Mulec H, Johnsen SA, Aurell M : Contrasting effects of enalapril and metoprolol on proteinuria in diabetic nephropathy. **Br. Med. J.** 300:905-07, 1990.
- Borek M, Chalap S, Frishman WH : Angiotensin-converting enzyme inhibitors in heart failure. **Med. Clin. North Amer.** 73:315-39, 1989.
- Brunner DB, Desponds G, Biolla J : Effect of a new angiotensin converting enzyme inhibitor MK 421 and its lysine analogue on the components of the renin system in healthy subjects. **Br. J. Clin. Pharmacol.** 11:461-67, 1981.
- Brunner HR, Nussberg J, Waeber B : The present molecules of converting enzyme inhibitors. **J. Cardiovascular Pharmacol.** 7suppl:2-11, 1985.
- Burn HF, Forget BG : **Hemoglobin: molecular, genetic and clinical aspects.** W.B.Saunders Philadelphia, 1986.
- de Ceulaer K, Morgan AG, Choo Kang E, Wilson WA, Serjeant GR : Serum urate concentrations in homozygous sickle cell disease. **J. Clin. Pathol.** 34:965-70, 1981.
- Clerico A, Giammattel C, Cecchini L, Lucchetti A, Cruschelli L, Penno G, Gregori G, Giampietro O : Exercise-Induce proteinuria in well-trained athletes. **Clin. Chem.** 3.613:562-64, 1990.
- Cook JJ, Daneman D : Microalbuminuria in adolescents with insulin-dependent diabetes mellitus. **Am. J. Dis. Children** 144:234-37, 1990.
- Cooper RA : Captopril associated neutropenia. Who is at risk? **Arch. Intern. Med.** 143:659-60, 1983.
- Costa FF, Aruda VE, Gonçalves MS, Sonatti MF, Saad STO, Zesleire F, Fernandez D, Queiroz IL : β S genes cluster haplotypes in sickle cell anemia patients from two regions in Brazil. **Am. J. Hematol.** 46:96-97,1994.
- Davies RO, Irvin JD, Kramsch DK, Walker JF, Moncloa F : Enalapril worldwide experience. **Am. J. Med.** 20:23-35, 1984.

- Diamond HS, Meisel A, Sharon E, Holden D, Cacatian A : Hyperuricosuria and increased tubular secretion of urate in sickle cell anemia. **Am. J. Med.** 59:796-802, 1975.
- Dunn MJ : Prostaglandins, angiotensin II and proteinuria. **Nephron** 55/suppl 1:30-37, 1990.
- Edwards CRW, Padfield PL : Angiotensin-converting enzyme inhibittors : Past, present and bright future. **The Lancet** 1:30-34, 1985.
- Elfenbein IB, Patchefsky A, Schwartz W, Weinstein AG : Pathology of the glomerulus in sickle cell anemia with and without nephrotic syndrome. **Am. J. Pathol.** 77:357-74, 1974.
- Embury SH, Clark MR, Monroy G, Mohandas N, Hoesch R : Concurrent sickle cell anemia and α thalassemia. Effect on pathological properties of sickle erythrocytes. **J. Clin. Invest.** 73:116-20, 1984.
- Etteldorf JN, Smith JD, Tuttle AH, Diggs LW : Renal hemodynamic studies in adults with sickle cell anemia. **Am. J. Med.** 18:243-48, 1955.
- Falk RJ, Scheinman J, Phillips G, Orringer E, Johnson A, Jennette JC : Prevalence and pathologic features of sickle cell nephropathy and response to inhibition of angiotensin-converting enzyme. **N. Engl. J. Med.** 326:910-915, 1992.
- Ferder LF, Inserra F, Daccordi H, Smith RD : Enalapril improved renal function and proteinuria in chronic glomerulopathies. **Nephron** 55/suppl 1:90-95, 1990.
- Ferreira SH, Rocha e Silva M : Potentiation of bradykynin and eledoisin by BPH (Bradykinin potentiating factor) from *Bothrops jararaca* venom. **Experientia** 21:347-49, 1965.
- de Fronzo RA, Tanfield PA, Black H, McPhedran P, Cooke CR : Impaired renal tubular potassium secretion in sickle cell disease. **Ann. Int. Med.** 90:310-16, 1979.
- Gosling P, Beevers DG : Urinary albumin excretion and blood pressure in the general population. **Clin. Sci.** 76:39-42, 1989.
- Guimarães, PRB : Modelo linear misto de Laird-Ware: Predição de efeitos aleatórioa e estimação de parâmetros via filtro de Kalman. Dissertação de Mestrado em Estatística, IMECC UNICAMP-SP, 1994.

- Hebbel RP, Boogaerts MAB, Eaton JW, Steinberg MH : Erythrocyte adherence to endothelium in sickle-cell anemia. A possible determinant of disease severity. **N. Engl. J. Med.** 302:992-96, 1980.
- Hebbel RP, Moldow CF, Steinberg MH : Modulation of erythrocyte-endothelial interactions and the vasoocclusive severity of sickling disorders. **Blood** 58:947-53, 1981.
- Heeg JE, Jong PE, van der Hem GK, Zeeuw D : Reduction os proteinuria by angiotensin converting enzyme inhibition. **Kidney Intern.** 32:78-83, 1987.
- Heeg JE, Zeeuw D, Jong PE : Antiproteinuric effect of ACE inhibitors. **The Lancet** 26:1251-52, 1988.
- Herrick JB : Peculiar elongated and sickle shaped red blood corpuscles in a case of severe anemia. **Arch. Intern. Med.** 6:517-27, 1910.
- Holdaas H, Hartmann A, Lien MG, Nilsen L, Jervell J, Fauchald P, Endresen L, Djoseland O, Berg KJ : Contrasting effects of lisinopril and nifedipine on albuminuria and tubular transport functions in insulin dependent diabetics with nephropath. **J. Inter. Med.** 229(2): 163-70, 1991.
- Horne MK : Sickle cells anemia as a reologic disease. **Am. J. Med.** 70: 288-98, 1981.
- Hostetter TH, Rennke HG, Brenner BM : The case for intrarenal hypertension in the initiation and progression of diabetic and other glomerulopathies. **Am. J. Med.** 72:378-80, 1982.
- Howey JEA, Browing MCK, Fraser CG : Biologic variation of urinary albumin: Consequences for analysis, specimen collection, interpretation of results, and screening programs. **Am. J. Kidney Dis.** 13:35-37, 1989.
- Jandl LH : **Blood : Textbook of Hematology.** Little, Brown and Company, Toronto, 1987.
- Johnston CI, Mendelsohn FAO, Hutchinson JH : Composition of juxtaglomerular granules isolated from rat kidney cortex in mechanism of hypertension. **Excerpta Medica** 17:238-48, 1973.
- Jones RH : Experts from: Longitudinal data with serial correlata. A state space approach. Dep. Preventive Medicine and Biometrics University of Colorado Health Sciences Center, Jan 1993.
- de Jong PE, de Jong van den Berg LTW : The tubular reabsorption of phosphate in sickle cell nephropathy. **Clin. Sci. Mol. Med.** 55:429-34, 1978.

- de Jong PE, de Jong van den Berg LTW, Sewralsingh GS, Schouten H, Donker AJM, Statius van Eps LW : The influence of indomethacin on renal haemodynamics in sickle cell anemia. **Clin. Science** **59**:245-50, 1980.
- de Jong PE, de Jong van den Berg LTW, Sewralsingh GS, Schouten H, Donker AJM, Statius van Eps LW : Beta₂ microglobulin in sickle cell anemia: evidence of increased tubular reabsorption. **Nephron** **29**:138-41, 1981.
- de Jong PE, Landman H, Statius van Eps LW : Blood pressure in sickle cell disease. **Arch. Intern. Med.** **142**:1239-40, 1982.
- de Jong PE, Statius van Eps LW : Sickle cell nephropathy : New insights into its pathophysiology. **Kidney Intern.** **27**:711-17, 1985.
- Kasiske BL, O'Donnell MP, Keane WF : Glucose induced increases in renal haemodynamic function. Possible modulation by renal prostaglandins. **Diabetes** **34**:360-64, 1985.
- Koomans HA, Boer WH, Mees EJD : Evaluation of lithium clearance as a marker of proximal tubule sodium handling. **Kidney Intern.** **36**:2-12, 1989.
- Levey AS, Perrone RD, Madias NE : Serum creatinine and renal function. **Ann. Rev. Med.** **39**:465-90, 1988.
- Lonsdorfer A, Comoe L, Yapo AE, Lonsdorfer J : Proteinuria in sickle cell trait and disease : an electrophoretic analysis. **Clin. Chimica Acta** **181**:239-48, 1989.
- Mann JFE, Reisch C, Ritz E : Use of angiotensin-converting enzyme inhibitors for the preservation of kidney function. **Nephron** **55/suppl1**:38-42, 1990.
- Marre M, Leblanc H, Suarez L, Guyenne TT, Menard J, Passa P : Converting enzyme inhibition and kidney function in normotensive diabetic patients with persistent microalbuminuria. **Br. Med. J.** **294**:1448-52, 1987.
- Marre M, Chatellier G, Leblanc H, Guyene TT, Menard J, Passa P : Prevention of diabetic nephropathy with enalapril in normotensive diabetics with microalbuminuria. **Br. Med. J.** **297**:1092-95, 1988.
- Marre M : La microalbuminurie. **Rev. Prat.** **18**:38-40, 1990.

- Mathiesen ER, Hommel E, Giese J, Parving HH : Efficacy of captopril in postponing nephropathy in normotensive insulin dependent diabet patients with microalbuminuria. **Br.Med.J.** 303:81-87, 1991.
- Meyer TW, Anderson S, Rennke HG :Converting enzyme inhibitor therapy limits progressive glomerular injury in rats with renal insufficiency. **Am. J. Med.** 79/suppl 3C:31-6, 1985.
- Mimran A, Insua A, Ribstein J, Bringer J, Monnier L : Comparative effects of captopril and nifedipina in normotensive patients with incipient diabetic nephropathy. **Diabetes Care** 11:850-53, 1988.
- Myres BD, Meyer TW : Angiotensin-Converting enzyme inhibitors in the prevention of experimental diabetic glomerulopathy. **Am. J. Kid. Diseases** 13:20-24, 1989.
- Myres BD, Meyer TW : Angiotensin-Converting enzyme inhibitors inthe treatment of diabetic glomerulopathy. **Nephron** 55/suppl 1:27-29, 1990.
- Mogensen CE, Christiansen CK : Predicting diabetic nephropathy in insulin-dependent patients. **N. Engl. J. Med.** 311:89-93, 1984.
- Mogensen CE : Microalbuminuria as a predictor of clinical diabetic nephropathy. **Kidney Intern.** 31:673-89, 1987.
- Mohandas N, Evans E, Kukan B : Adherence of sickle erythrocytes to vascular endothelium: Requirement for both cell membrane changes and plasma factors **Blood** 64:282-87, 1984.
- Montagna G, Calderini BC, Quaretti P, Migione L : Relationship of proteinuria and albuminuria of posture and to urine collection period. **Nephron** 35:143-44, 1983.
- Morgan AG, Serjeant GR : Renal function in patients over 40 with homozygous sickle-cell disease. **Br. Med. J.** 282:1181-83, 1981.
- Morgan AG : Sickle cell leg ulcers. **Intern. J. Dermatology** 24:643-44, 1985.
- Motulsky AG : Frequency of sickling disorders in U.S. blacks. **N. Engl. J. Med.** 288:31-34, 1973.
- Navar LG, Rosivall L : Contributions of the renin-angiotensin system to the control of intrarenal hemodynamics. **Kidney Intern.** 25:857-68, 1984.
- Navar LG, Schafer JA : Comments on "lithium clearance : a new research area". **New Physiol. Sci.** 2:34-35, 1987.

- Nicholson GD : **Proteinuria and the nephrotic syndrome in sickle cell disease**. Md Thesis, University of Oxford, 1977.
- Noguchi CT, Schechter AN : The intracellular polymerization of sickle hemoglobin and its relevance to sickle cell disease. **Blood** 58:1057-68, 1981.
- Ondetti MA, Rubin B, Cushman DW : Design of specific inhibitors of angiotensin converting enzyme: New class of orally active antihypertensive agents. **Science** 196:441-43, 1977.
- Oster JR, Lespier LE, Lee PM, Pellegrini EL, Vaamande CA : Renal acidification in sickle cell disease. **J. Lab. Clin. Med.** 88:389-94, 1976.
- Pardo V, Strauss J, Kramer H, Ozawa T, McIntosh R : Nephropathy associated with sickle cell anemia : an autologous Immune Complex Nephritis. **Am. J. Med.** 59:650-59, 1976.
- Parving HH, Andersen AR, Smidt UW : Diabetic nephropathy and arterial hypertension: The effect of antihypertensive treatment. **Diabetes** 32:83-90, 1983.
- Parving HH, Hommel E, Smidt UM : Protection of kidney function and decrease in albuminuria by captopril in insulin dependent diabetics with nephropathy. **Br. Med. J.** 294:1086-91, 1988.
- Pesce MA, Strande CS : A new micromethod for determination of protein in cerebrospinal fluid and urine. **Clin. Chem.** 19:1265-67, 1973.
- Powars DR, Weiss JN, Chan LS, Schroeder WA : Is there a threshold level of fetal hemoglobin that ameliorates morbidity in sickle cell anemia. **Blood** 63:921-27, 1984.
- Powars DR, Chan L, Schroeder WA : β gene cluster haplotypes in sickle cell anemia: clinical implication. **Am. J. Pediatr. Hematol. Oncol.** 12:367-74, 1990.
- Ramalho AS : **As hemoglobinopatias hereditárias: Um problema de saúde pública no Brasil**. Ed. Rev. Bras. Genética. Ribeirão Preto, 1986.
- Ravid M, Savin H, Jutrin I, Bental T, Katz B, Lishner M : Long-term stabilizing effect of angiotensin-converting enzyme inhibition on plasma creatinine and on proteinuria in normotensive type II diabetic patients. **Ann. Intern. Med.** 118:577-81, 1993.
- Rennie D : Proteinuria. **Med. Clin. North Am.** 55:213-30, 1971.
- Riella CM : **Princípios de nefrologia e distúrbios hidroeletrólitos**. Guanabara Koogan, 1980.

- Rotmensch HH, Vlasses PH, Ferguson RK : Angiotensin-converting enzyme inhibitors. **Med. Clin. North Am.** 72:399-25, 1988.
- Saad STO, Zago MA : Leg ulceration and abnormalities of calf blood flow in sickle cell anemia. **Eur. J. Haematol.** 46:188-90, 1991.
- Schardijn GHC, Stadius van Eps LW : β_2 microglobulin : its significance in the evaluation of renal function. **Kidney Intern.** 32:635-41, 1987.
- Schechter AN, Bunn HF : What determines severity in sickle cell disease? **New England J. Med.** 306:295-98, 1982.
- Serjeant GR, Aschroft MT, Serjeant BE, Milner PE : The Clinical features of sickle cell/b thalassemia in Jamaica. **Br. J. Haematol.** 24:19-24, 1973.
- Serjeant GR : **Sickle cell disease**. 2nd ed., Oxford University. Press, New York, 1992.
- Skalar AH, Campbell H, Caruana RJ, Lighfoot BO, Gaier JG, Milner P : A population study of renal function in sickle cell anemia. **Int. J. Artif. Organs.** 13:231-36, 1990.
- Smith RD, Rodel PV, Mulcahy WS, Prince BA : Long term renal effects of enalapril therapy in patients with renal insufficiency. **Nephron.** 55:49-58, 1990.
- Stamatoyannopoulos G, Nienhwi AW, Leder P, Majierus PW : **The molecular basis of blood disease**. W. P. Saunders Company, 1987.
- Steffes MW, Chaves BM, Bilous RW, Mauer M : The predictive value of microalbuminuria. **Am. J. Kid. Dis.** 13:25-28, 1989.
- Strauss J, Pardo U, Koss MN, Griswold W, Mc Intosh RW : An autologous immune complex nephritis. **Am. J. Med.** 58:382-90, 1975.
- Strauss J, Zilleruelo G, Abitbol C : The kidney and hemoglobin S. **Nephron** 43:241-45, 1986.
- Taguma Y, Kitamoto Y, Futaki G, Ueda H, Monma H, Ishizaki M, Takahashi H, Sekino H, Sasaki Y : Effect of captopril on heavy proteinuria in azotemic diabetics. **N. Engl. J. Med.** 313:1617-20, 1985.
- Tejani A, Phadke K, Adamson O, Nicastrì A, Chen DiLip, Sen CK : Renal lesions in sickle cell nephropathy in children. **Nephron** 39:352-55, 1985.

- Thomsem K : Lithium clearance : A new method for determining proximal and distal tubular reabsorption of sodium and water. **Nephron** 37:217-33, 1984.
- Tuck M : Treatment of hypertensive diabetic patients. **Diabetes care** 11:828-32, 1988.
- Viberti GC : Etiology and prognostic significance of albuminuria in diabetes. **Diabetes Care** 11:840-45, 1988.
- Viberti GC (b), Bending JJ : Early diabetic nephropathy : detection and prevention. **Adv. Nephrol.** 17:101-12, 1988.
- Vidt DG, Bravo EL, Fovad FM : Captopril. **N. Engl. J. Med.** 28:214-19, 1982
- Waller KV, Ward KM, Mahan JD, Wismatt DK : Current concepts in proteinuria. **Clin. Chem.** 35:755-65, 1989.
- Walker BR, Alexander F, Birdsall TR, Warren RL : Glomerular lesions in sickle cell nephropathy. **J.A.M.A.** 215:437-40, 1971.
- Wick TM, Moake JL, Udden MM, Eskin SG, Sears DA, McIntire LV : Unusually large von Willebrand factor multimers increase adhesion of sickle erythrocytes to human endothelial cells under controlled flow. **J. Clin. Invest.** 80:905-10, 1987.
- Williams GH : Converting enzyme inhibitors in the treatment of hypertension. **New Engl. J. Med.** 319:1517-25, 1988.
- Weatherall DJ, Clegg B : **The thalassemia syndromes** 3rd edn, Blackwell Scientific Publications Oxford, 1981.