
ALTERAÇÕES ESTRUTURAIS E FUNCIONAIS NA NEFROPATIA DIABÉTICA E RELAÇÃO ENTRE A ESTRUTURA GLOMERULAR E A FUNÇÃO RENAL

Maria Luiza Avancini Caramori

RESUMO

Os estudos iniciais, mostrando que cerca de 80% dos pacientes com diabetes melito (DM) tipo 1 e microalbuminúria progrediam para proteinúria, levaram ao uso da microalbuminúria como um indicador de pacientes com risco aumentado para nefropatia diabética, tanto no DM tipo 1 quanto no tipo 2. Entretanto, alguns pacientes com microalbuminúria apresentam alterações de estrutura renal avançadas e a microalbuminúria pode, nestes casos, ser mais um marcador da presença de lesões glomerulares do que um indicador do desenvolvimento futuro de nefropatia diabética. Estudos mais recentes sugerem que apenas 30-45% dos pacientes microalbuminúricos irão progredir para proteinúria, enquanto que cerca de 30% irá regredir para normoalbuminúria. Apesar disto, a excreção urinária de albumina ainda é o melhor indicador não-invasivo de pacientes em risco para nefropatia diabética e deve ser pesquisada de acordo com as normas vigentes. Entretanto, é necessário que novos indicadores de risco sejam avaliados, para uso isolado ou em associação a outros parâmetros disponíveis. A estrutura glomerular no DM e as relações entre a estrutura glomerular e a função renal têm sido estudadas. Neste sentido, o uso de parâmetros estruturais renais na tentativa de identificar pacientes com risco aumentado de desenvolver nefropatia diabética poderia ser útil, uma vez que existe boa correlação entre a estrutura glomerular e as manifestações clínicas da nefropatia diabética. Além disto, em estudos longitudinais, estes parâmetros parecem estar associados à progressão clínica da nefropatia diabética.

ABSTRACT

Initial studies showing an 80% rate of progression from microalbuminuria to proteinuria in type 1 diabetic patients led to the broad acceptance of microalbuminuria as an useful clinical predictor of increased diabetic nephropathy risk among type 1 and type 2 diabetic patients. Some microalbuminuric patients, however, have quite advanced renal structural changes, and microalbuminuria may, in such cases, be a marker rather than a predictor of diabetic nephropathy. More recent studies have observed only about 30-45% of progression from microalbuminuric to proteinuria over 10 years, while about 30% of microalbuminuric patients became normoalbuminuric and the rest remained microalbuminuric. Albumin excretion rate remains the best available noninvasive predictor of diabetic nephropathy risk and should be regularly measured according to established guidelines. Nonetheless, investigations into new risk markers of diabetic nephropathy risk or into the combined use of currently available predictive parameters are needed. Research has been done to evaluate the glomerular structure in patients with type 1 and type 2 diabetes, as well as to evaluate the relationships between glomerular structural parameters and renal function. Since there is a strong relationship between glomerular structural parameters and clinical manifestations of diabetic nephropathy, these structural parameters could be useful in the identification of patients with increased diabetic nephropathy risk. Moreover, longitudinal studies suggest that glomerular structural parameters are associated with clinical progression of diabetic nephropathy.

INTRODUÇÃO

Nos Estados Unidos da América, cerca de 45% dos pacientes que ingressam em programas de substituição renal são portadores de diabetes melito (DM) ¹. Também na Europa, o DM é a doença renal primária mais freqüente em pacientes com doença renal terminal ². A maioria destes pacientes (80%) apresenta DM tipo 2. Tendo como base estes dados, pode-se concluir que a nefropatia diabética representa um importante problema de saúde pública.

Alguns autores relataram que a proporção de pacientes com DM tipo 1 que desenvolvem nefropatia diabética vem declinando ao longo dos anos ³⁻⁵. Entretanto, isto não foi confirmado em estudos mais recentes ⁶ e, na última década, um rápido e contínuo aumento no número de pacientes com DM ingressando em programas de substituição renal vem sendo observado ¹. É interessante notar que este aumento na incidência de doença renal terminal causada pelo DM tem sido observado apesar das recomendações, por parte de associações como a Associação Americana de Diabetes ⁷, de avaliações periódicas da excreção urinária de albumina, na tentativa de identificar pacientes com risco aumentado de nefropatia diabética e de intensificar o controle glicêmico e da pressão arterial nestes pacientes. Mudanças nos critérios de indicação para o início do tratamento da doença renal terminal em pacientes com DM e aumento na sobrevivência destes pacientes podem ter contribuído para o aumento no número de pacientes com DM ingressando em programas de substituição renal.

As alterações na estrutura renal causadas pelo DM são específicas, criando um padrão que não é visto em outras doenças renais. A gravidade das lesões parece estar relacionada à duração do DM, ao grau de controle metabólico e a fatores genéticos. Finalmente, estas alterações estruturais progressivas levam aos distúrbios funcionais da nefropatia diabética. Entretanto, a relação entre a duração do DM e a extensão das lesões glomerulares não é precisa. Isto está de acordo com a marcada variabilidade na susceptibilidade à nefropatia diabética, onde alguns pacientes podem apresentar insuficiência renal após terem DM por 15 anos ou menos, enquanto outros não apresentam complicações apesar de apresentarem DM por várias décadas.

ESTRUTURA GLOMERULAR NA NEFROPATIA DIABÉTICA

Microscopia Óptica

A alteração estrutural mais precoce do DM tipo 1, a hipertrofia renal, não se reflete em alterações específicas na microscopia óptica. Em muitos pacientes, a estrutura glomerular permanece normal, ou quase normal, apesar

de várias décadas de DM ⁸⁻¹⁰. Outros, desenvolvem expansão mesangial difusa progressiva, que se apresenta como um aumento na quantidade de material na matriz mesangial que se cora pela técnica do ácido periódico de Schiff (PAS) (Figura 1). Áreas de expansão mesangial extrema, chamadas de nódulos de Kimmelstiel-Wilson, ou expansão mesangial nodular (Figura 2), ocorrem em cerca de 40-50% dos pacientes que desenvolvem proteinúria. Nestes nódulos, os núcleos das células mesangiais estão situados em paliçadas na periferia da lesão, circundando massas de matriz mesangial. É possível que estes nódulos resultem de microaneurismas que se formam nos capilares glomerulares ¹¹. Apesar de serem diagnósticos de DM, os nódulos de Kimmelstiel-Wilson não são necessários para que disfunção renal se desenvolva. Alterações renais mais precoces incluem a presença de material hialino nas arteríolas aferentes e eferentes. A gravidade destas lesões é diretamente relacionada à freqüência de glomerulosclerose global que, por sua vez, parece resultar da isquemia glomerular. É também possível detectar, por microscopia óptica, espessamento das membranas basais glomerular e tubular, entretanto estas alterações são mais facilmente detectadas por microscopia eletrônica. Finalmente, em fases tardias da doença, atrofia tubular avançada e fibrose intersticial, alterações comuns à maioria das doenças renais, são geralmente observadas.

Imunofluorescência

O DM é caracterizado, na imunofluorescência, pela presença de um padrão linear de IgG (especialmente IgG4) e de albumina nas membranas basais glomerular e tubular e na cápsula de Bowman ¹². Os estudos imunohistoquímicos indicam que as alterações da matriz extracelular no mesângio e nas membranas basais glomerular e tubular representam, pelo menos em parte, expansão de componentes intrínsecos da matriz, incluindo colágenos tipo IV e tipo VI, laminina e fibronectina ¹³. Entretanto, a natureza exata do material que se acumula não é completamente conhecida ^{14,15}.

Microscopia Eletrônica

A estrutura glomerular no início do DM é normal e alterações morfométricas podem ser detectadas somente após 1,5 a 2,5 anos de doença ¹⁶. Entretanto, enquanto alguns indivíduos apresentam estrutura glomerular normal por vários anos, outros desenvolvem lesões graves rapidamente. Usando técnicas morfométricas, a primeira alteração renal detectável no DM é o espessamento da membrana basal glomerular ¹⁷ (Figura 3), sendo que o espessamento da membrana basal tubular ocorre quase que em paralelo ^{18,19}. O aumento na área relativa do mesângio pode ser observado, de maneira objetiva, entre 4 e 5 anos de DM. Estudos de morfometria renal em pacientes com

DM tipo 1 sugerem que o volume fracional do mesângio por glomérulo, $[V_v(\text{Mes}/\text{glom})]$, aumenta de 0,2, no estado normal, para cerca de 0,4 quando a proteinúria inicia, atingindo 0,6 a 0,8 em pacientes cuja filtração glomerular está reduzida em 50-60%^{8,9,20-22}. Entretanto, como será discutido posteriormente, existe uma importante variação individual na gravidade das lesões associadas a aumentos na excreção urinária de albumina^{23,24}.

Em pacientes com DM também são observadas alterações qualitativas e quantitativas no interstício renal. Alterações intersticiais renais são comuns a várias doenças renais e a fibrose intersticial é caracterizada por um aumento das proteínas e da matriz extracelular²⁵. Entretanto, diferente do que é observado no glomérulo²⁶, o acúmulo de matriz extracelular no interstício parece ser um evento tardio, ocorrendo somente quando a filtração glomerular já se encontra reduzida²⁷. Nas fases iniciais de expansão intersticial as alterações celulares predominam e não se observa aumento quantitativo no colágeno²⁷.

ALTERAÇÕES FUNCIONAIS NA NEFROPATIA DIABÉTICA

Na fase inicial da nefropatia diabética, os pacientes predispostos seriam caracterizados pela presença de indicadores de risco para nefropatia. Estes indicadores estariam relacionados aos fatores relacionados à patogênese da nefropatia diabética. Neste sentido, o grau de controle metabólico, as alterações hemodinâmicas, os fatores genéticos e outros fatores associados ao acúmulo de matriz extracelular estariam entre os possíveis candidatos. Tem sido geralmente aceito que pacientes com DM de longa duração e excreção urinária de albumina normal apresentam baixo risco de progressão para nefropatia diabética. Entretanto, um número significativo de pacientes normoalbuminúricos com DM tipo 1 de longa duração evolui para nefropatia clínica^{23,28}. Apesar de certa controvérsia existir^{8,29}, é importante notar que pacientes normoalbuminúricos com DM tipo 1 podem apresentar alterações histopatológicas renais^{9,24}. Entretanto, a gravidade das lesões renais nestes pacientes é variável e parece estar associada, entre outros fatores, à duração do DM (ver abaixo). A taxa de desenvolvimento das lesões de nefropatia diabética é menos clara em pacientes com DM tipo 2, uma vez que, à exceção dos estudos em índios Pima, a duração do DM não é conhecida. Mesmo assim, pacientes normoalbuminúricos com DM tipo 2 Caucásianos³⁰, Japoneses³¹ e índios Pima³² apresentam aumento da espessura da membrana basal do glomérulo e do volume fracional do mesângio. Assim como em pacientes com DM tipo 1, existe importante sobreposição com valores normais, e alguns pacientes com normoalbuminúria apresentam alterações glomerulares avançadas^{30,31}.

Estudos realizados no início da década de 80³³⁻³⁵ estabeleceram que níveis de excreção urinária de albumina acima de determinados valores (15, 30 ou 70 $\mu\text{g}/\text{min}$, dependendo do estudo) eram preditivos para o desenvolvimento de nefropatia clínica. Com base nestes estudos³³⁻³⁵, foi publicado um consenso que estabeleceu que valores entre 20 e 200 $\mu\text{g}/\text{min}$ caracterizavam a etapa de microalbuminúria³⁶. Nestes estudos, cerca de 80% dos pacientes que apresentavam níveis de excreção urinária de albumina acima dos valores considerados críticos desenvolveu proteinúria. Entretanto, estudos mais recentes^{23,28,37,38} sugerem que o risco de progressão para proteinúria, apesar de aumentado em pacientes com microalbuminúria, não é tão elevado como sugerido inicialmente. Os pacientes microalbuminúricos apresentam, em média, alterações histopatológicas renais mais graves do que os pacientes normoalbuminúricos^{9,24}. Entretanto, parece existir uma sobreposição importante entre a gravidade das lesões observadas nestes pacientes e a de pacientes com normoalbuminúria ou com proteinúria²⁴ (Figura 4). Estes achados estruturais estão de acordo com a observação de que cerca de 30% dos pacientes microalbuminúricos podem reverter para normoalbuminúria, enquanto que 30-45% deles irão progredir para nefropatia clínica nos próximos 10 anos e os pacientes restantes permanecerão microalbuminúricos²³. É interessante ressaltar que cerca de 30% dos pacientes com DM tipo 2 e microalbuminúria apresentam estrutura glomerular normal ou quase normal, outros 30% lesões típicas de nefropatia diabética, semelhantes às observadas em pacientes com DM tipo 1, e 40% apresentam padrões atípicos de lesões renais³⁹ (Figura 5).

No estágio de nefropatia clínica a concentração de proteínas totais em urina de 24 h é superior a 500 mg. Os valores de albuminúria correspondentes a este valor de proteinúria são: 200 mg/min, 300 mg/24 h e 300 mg/g creatinina⁷. Nos pacientes com DM tipo 1, a partir do diagnóstico de nefropatia clínica, ocorre uma redução média nos valores de filtração glomerular da ordem de 1 ml/min/mês⁴⁰⁻⁴². Aproximadamente 50% dos pacientes com DM tipo 1 desenvolvem insuficiência renal terminal após 10 anos do início da proteinúria e cerca de 75% após 15 anos. Sem intervenção terapêutica específica, a sobrevida mediana após o surgimento de proteinúria persistente se situa entre 7 e 10 anos^{3,43}. Nestes pacientes, as lesões renais são ainda mais avançadas e há um aumento na proporção de glomérulos esclerosados²⁴. A evolução desfavorável observada neste estágio reforça a necessidade de se indentificar pacientes com risco aumentado de nefropatia diabética cedo no curso da doença, num período em que intervenções terapêuticas específicas possam ser mais efetivas.

RELAÇÕES ESTRUTURAIS E FUNCIONAIS NA NEFROPATIA DIABÉTICA

Se acredita que a expansão mesangial, causada principalmente pelo acúmulo de matriz extracelular, leve à redução do lúmen capilar, reduzindo a superfície de filtração glomerular e, conseqüentemente, a taxa de filtração glomerular. Sendo assim, o volume fracional do mesângio é um dos determinantes da taxa de filtração glomerular (Figura 6) e da taxa de excreção urinária de albumina (Figura 7). A superfície de filtração glomerular, por sua vez, está diretamente correlacionada com a taxa de filtração glomerular (Figura 8) e inversamente correlacionada ao grau de expansão mesangial²⁴.

DM Tipo 1

Estudos avaliando pacientes normoalbuminúricos com DM tipo 1 de curta duração^{17,29} observaram aumento da espessura da membrana basal glomerular e do volume fracional da matriz mesangial, mas não do volume fracional do mesângio. Entretanto, estudos avaliando pacientes normoalbuminúricos com DM de longa duração consistentemente encontram alterações na estrutura glomerular destes pacientes, incluindo aumento do volume fracional de mesângio^{9,24}. Além disto, pacientes normoalbuminúricos com DM tipo 1 de longa duração que apresentam redução da taxa de filtração glomerular apresentam lesões glomerulares mais avançadas do que pacientes normoalbuminúricos com filtração glomerular normal⁴⁴. É também de interesse o achado de que pacientes normoalbuminúricos com DM tipo 1 de longa duração que progrediram para microalbuminúria ou proteinúria após 5 a 17 anos de seguimento apresentavam, na avaliação inicial, lesões glomerulares mais avançadas do que pacientes que permaneceram normoalbuminúricos⁴⁵. Também em pacientes microalbuminúricos com DM tipo 1, a espessura da membrana basal do glomérulo é um dos determinantes ($r^2=0,67$; $P<0,0001$) dos níveis de excreção urinária de albumina após 6 anos de acompanhamento⁴⁶. Estes achados sugerem que o estado diabético *per se* é estímulo suficiente para que alterações estruturais renais iniciem, mas que outros fatores governam a progressão destas lesões, uma vez que apenas uma fração dos pacientes com DM desenvolverá nefropatia clínica. As alterações intersticiais renais também parecem se correlacionar às alterações funcionais em pacientes com DM tipo 1^{27,47}, contudo esta relação parece ser complexa e mudar com a progressão da doença. De fato, em pacientes normoalbuminúricos e microalbuminúricos com DM tipo 1⁴⁸, o aumento na excreção urinária de albumina está associado ao aumento no $V_v(\text{Mes}/\text{glom})$, mas não ao aumento no volume fracional de interstício por córtex [$V_v(\text{Int}/\text{córte})$], enquanto que em pacientes proteinúricos^{47,49} ambos, $V_v(\text{Mes}/\text{glom})$ e $V_v(\text{Int}/\text{córte})$, estão relacionados à

excreção urinária de albumina e à taxa de filtração glomerular. A atrofia tubular progressiva, a hialinose arteriolar, a arterioesclerose e a glomerulosclerose também são componentes importantes da nefropatia diabética que provavelmente contribuem para uma redução adicional na filtração glomerular. Por último, a arterioesclerose de vasos de maior calibre, especialmente em pacientes com DM tipo 2, pode levar a dano renal isquêmico.

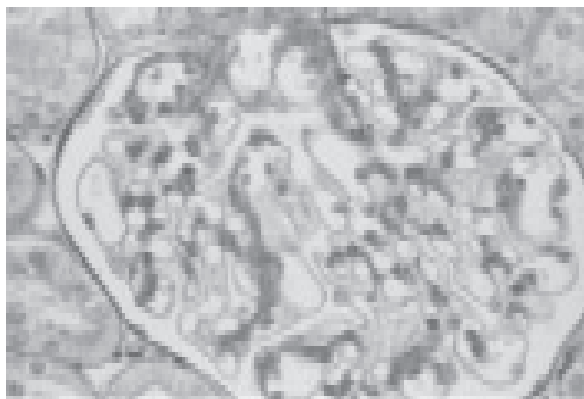
DM Tipo 2

Em pacientes com DM tipo 1 as lesões renais tendem a progredir em paralelo, enquanto que em pacientes com DM tipo 2 isto freqüentemente não é o caso^{39,50}. Sendo assim, em pacientes com DM tipo 2, as relações entre estrutura glomerular e função renal são menos claras. Alguns estudos relatam relações fracas entre estrutura e função^{30,31}, enquanto que outros descrevem relações mais típicas^{51,52}, semelhantes às observadas em pacientes com DM tipo 1. Apesar disto, pacientes microalbuminúricos com DM tipo 2 parecem ter a evolução de sua função renal (avaliada por alterações na taxa de filtração glomerular) dependente das alterações histopatológicas renais. Pacientes com lesões típicas de nefropatia diabética, isto é, aumento do volume fracional do mesângio acompanhado por alterações vasculares e intersticiais, apresentam queda mais acelerada da taxa de filtração glomerular, quando comparados a pacientes com predomínio de lesões vasculares e/ou intersticiais ou a pacientes que apresentam estrutura glomerular normal ou quase normal³⁹. Estudos de microscopia eletrônica corroboram estes achados, e pacientes microalbuminúricos ou proteinúricos com declínio mais rápido da filtração glomerular apresentam maior volume fracional do mesângio e aumento da espessura da membrana basal glomerular⁵³. Outro estudo, acompanhando pacientes com DM tipo 2 e microalbuminúria ou proteinúria, observou que o aumento observado no volume fracional do interstício [$V_v(\text{Int}/\text{córte})$] após dois anos estava associado a alterações na proteinúria neste mesmo intervalo⁵⁴. Estes resultados ainda são controversos, um vez que não foi observada associação entre a gravidade das lesões glomerulares e a velocidade da queda da taxa de filtração glomerular pacientes proteinúricos com DM tipo 2 após 1,8 anos de acompanhamento⁵⁵.

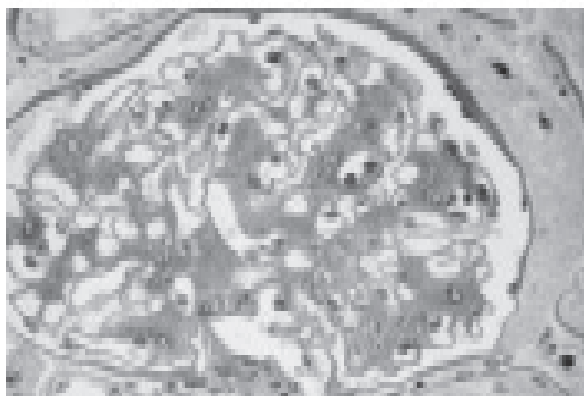
COMENTÁRIOS GERAIS

A nefropatia diabética, por sua prevalência, morbidade e mortalidade associadas, é uma importante complicação do DM. Até o presente momento, não existem marcadores que permitam identificar de forma precisa os pacientes predispostos ao desenvolvimento de nefropatia. O papel da excreção urinária de albumina como marcador de risco para a nefropatia diabética e a sua relação com a gravidade das lesões glomerulares não estão

bem definidos. A avaliação mais precisa destes aspectos fornecerá subsídios para o melhor entendimento da associação entre estes fatores e o desenvolvimento de nefropatia clínica. A identificação precoce de pacientes susceptíveis permitiria que medidas terapêuticas, como o controle intensivo da glicemia e da pressão arterial e a manipulação protéica da dieta, fossem direcionadas a estes indivíduos. Além disto, o conhecimento dos fatores e mecanismos associados à patogênese da nefropatia diabética poderia levar ao desenvolvimento de estratégias preventivas e terapêuticas mais específicas e eficazes a serem oferecidas a pacientes com risco aumentado. Neste sentido, a avaliação da presença de lesões glomerulares em pacientes com DM de longa duração pode, talvez, ajudar a definir pacientes que apresentem risco mais elevado de progressão para nefropatia diabética. É razoável concluir que alterações glomerulares são importantes no desenvolvimento das alterações funcionais iniciais da nefropatia diabética, enquanto que alterações intersticiais e vasculares são importantes em determinar a taxa de progressão da nefropatia estabelecida para doença renal terminal.



A



B

Figura 1. Fotografia de microscopia óptica de um glomérulo de (A) um indivíduo sem diabetes mellitus e (B) de um paciente com diabetes mellitus tipo 1. Note a expansão mesangial difusa e o espessamento da membrana basal glomerular e da cápsula de Bowman no glomérulo do paciente com diabetes mellitus (B) (Ácido Periódico de Schiff 400X).

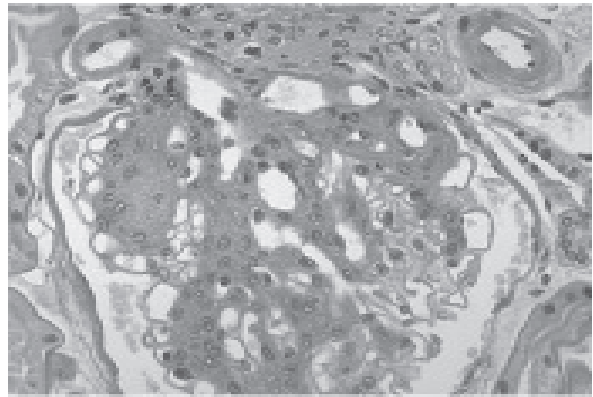
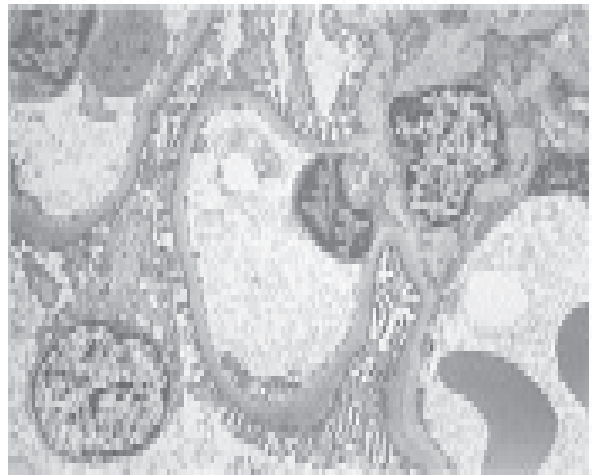
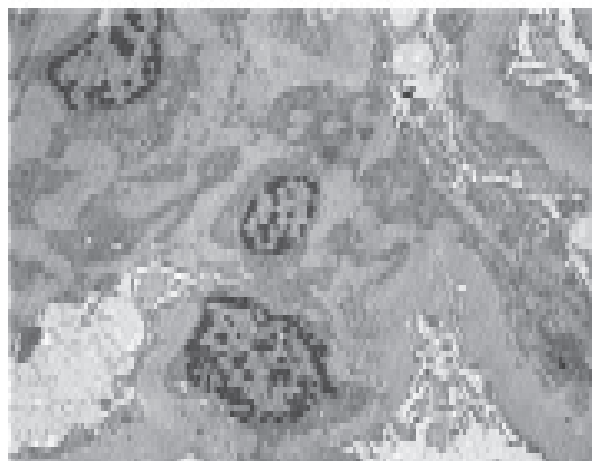


Figura 2. Fotografia de microscopia óptica de um glomérulo de um paciente com diabetes mellitus tipo 1 e proteinúria. Note a presença de expansão mesangial nodular (nódulo de Kimmelstiel-Wilson) e a presença de múltiplas arteriolas na região hilar (Ácido Periódico de Schiff 400X).



A



B

Figura 3. Fotografia de microscopia eletrônica de um glomérulo de (A) um indivíduo sem diabetes mellitus e (B) de um paciente com diabetes mellitus tipo 1. Note o espessamento da membrana basal glomerular no glomérulo do paciente com diabetes mellitus (B) (11.000X).

ALTERAÇÕES ESTRUTURAIS E FUNCIONAIS NA NEFROPATIA DIABÉTICA

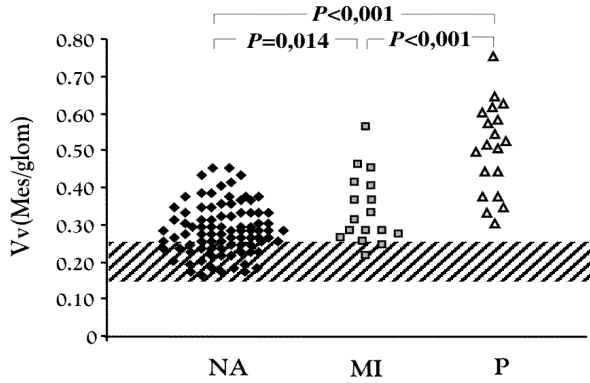


Figura 4. Volume fracional do mesângio [Vv(Mes/glom)] em 88 pacientes com diabetes mellitus tipo 1 normoalbuminúricos (NA), 17 microalbuminúricos (MI) e 19 proteinúricos (P). A barra horizontal representa os valores de referência (média \pm 2 DP) do Vv(mes/glom) em um grupo de 76 indivíduos sem diabetes melito.

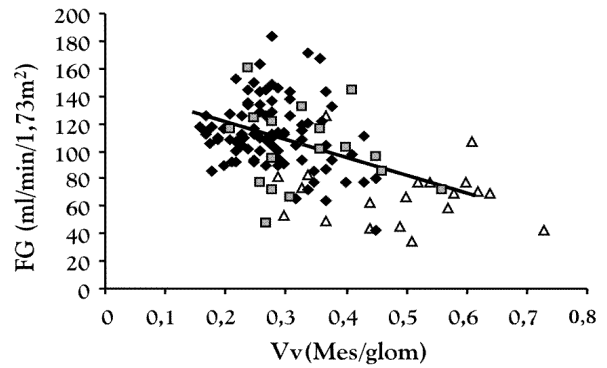


Figura 6. Correlação entre o volume fracional do mesângio por glomérulo [Vv(Mes/glom)] e a taxa de filtração glomerular (FG) em 125 pacientes com diabetes mellitus tipo 1; 88 normoalbuminúricos (\blacklozenge), 17 microalbuminúricos (\square) e 19 proteinúricos (\triangle).

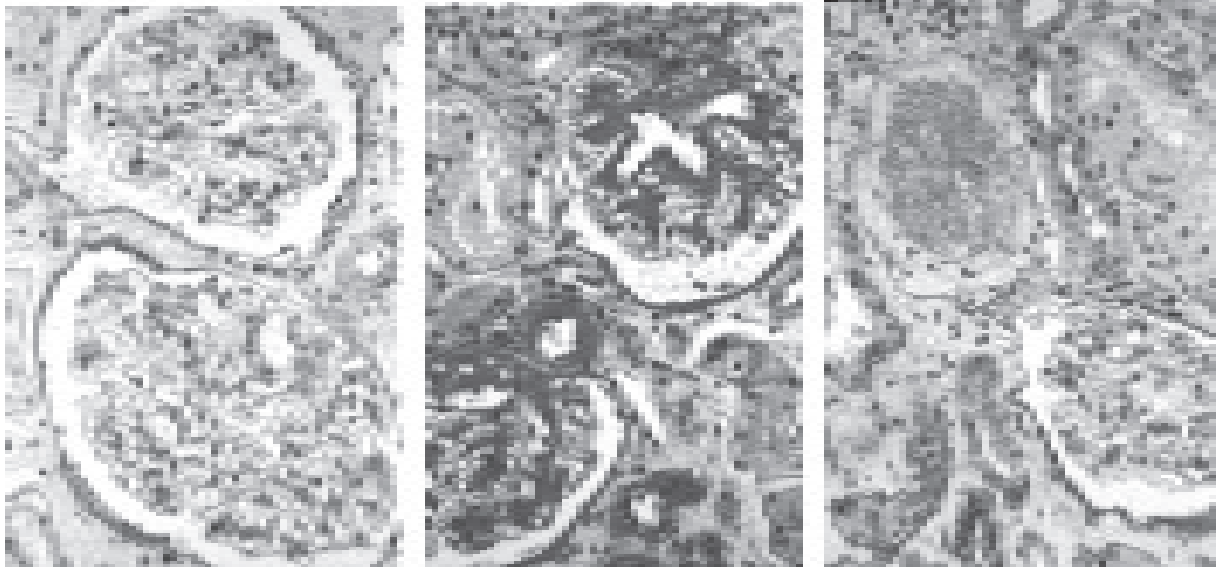


Figura 5. Fotografia de microscopia óptica de um glomérulo de indivíduos microalbuminúricos com diabetes mellitus tipo 2 classificados de acordo com a presença e tipo das lesões estruturais renais. (A) Estrutura glomerular, tubular, intersticial e vascular preservadas. (B) Expansão mesangial difusa acompanhada de atrofia tubular, fibrose intersticial e aterosclerose vascular. (C) Lesões atípicas, com presença de um glomérulo esclerosado ao lado de um glomérulo com estrutura normal. Note também a presença de atrofia tubular difusa e fibrose intersticial. (Ácido Periódico de Schiff 300X).

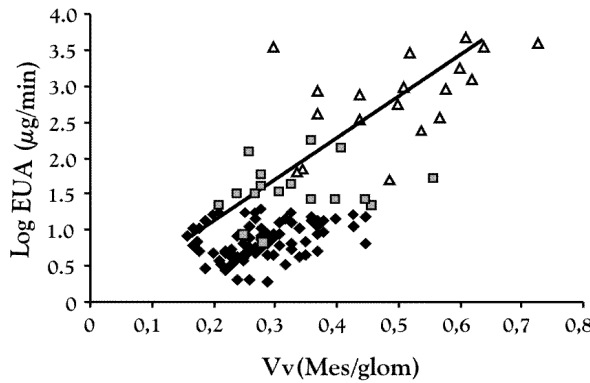


Figura 7. Correlação entre o volume fracional do mesângio por glomérulo [Vv(Mes/glom)] e a excreção urinária de albumina (EUA) em 125 pacientes com diabetes mellitus tipo 1; 88 normoalbuminúricos (\blacklozenge), 17 microalbuminúricos (\square) e 19 proteinúricos (\triangle).

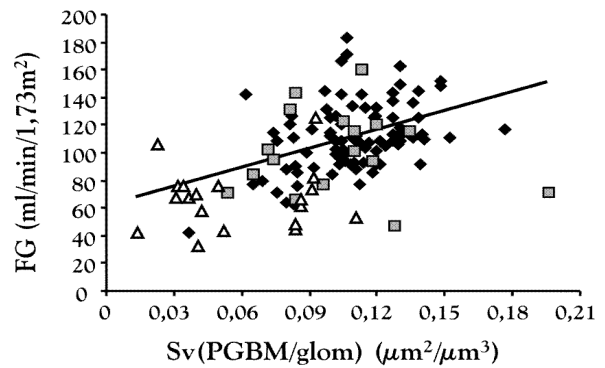


Figura 8. Correlação entre a superfície de filtração glomerular por glomérulo [Vv(Mes/glom)] e a taxa de filtração glomerular (FG) em 125 pacientes com diabetes mellitus tipo 1; 88 normoalbuminúricos (\blacklozenge), 17 microalbuminúricos (\square) e 19 proteinúricos (\triangle).

BIBLIOGRAFIA

1. USRDS 1999 Annual Data Report, 1999. The National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases.
2. Rychlik I, Miltenberger-Miltenyi G, Ritz E. The drama of the continuous increase in end-stage renal failure in patients with type II diabetes mellitus. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13:6-10.
3. Krolewski AS, Warram JH, Christlieb AR, Busick EJ, Kahn CR. The changing natural history of nephropathy in type I diabetes. *Am J Med* 1985; 78:785-94.
4. Bojestig M, Arnqvist HJ, Hermansson G, Karlberg BE, Ludvigsson J. Declining incidence of nephropathy in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1994; 330:15-8.
5. Kofoed-Enevoldsen A, Borch-Johnsen K, Kreiner S, Nerup J, Deckert T. Declining incidence of persistent proteinuria in type I (insulin-dependent) diabetic patients in Denmark. *Diabetes* 1987; 36:205-9.
6. Rossing P, Rossing K, Jacobsen P, Parving HH. Unchanged incidence of diabetic nephropathy in IDDM patients. *Diabetes* 1995; 44:739-43.
7. American Diabetes Association: clinical practice recommendations 2002. *Diabetes Care* 2002; 25 Suppl 1:S1-147.
8. Østerby R. Glomerular structural changes in type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus: causes, consequences, and prevention. *Diabetologia* 1992; 35:803-12.
9. Fioretto P, Steffes MW, Mauer M. Glomerular structure in nonproteinuric IDDM patients with various levels of albuminuria. *Diabetes* 1994; 43:1358-64.
10. Mauer SM, Steffes MW, Ellis EN, et al. Structural-functional relationships in diabetic nephropathy. *J Clin Invest* 1984; 74:1143-55.
11. Saito Y, Kida H, Takeda S, et al. Mesangiolysis in diabetic glomeruli: its role in the formation of nodular lesions. *Kidney Int* 1988; 34:389-96.
12. Michael AF, Brown DM. Increased concentration of albumin in kidney basement membranes in diabetes mellitus. *Diabetes* 1981; 30:843-6.
13. Falk RJ, Scheinman JI, Mauer SM, Michael AF. Polyantigenic expansion of basement membrane constituents in diabetic nephropathy. *Diabetes* 1983; 32 Suppl 2:34-9.
14. Moriya T, Gropoli TJ, Kim Y, Mauer M. Quantitative immunoelectron microscopy of type VI collagen in glomeruli in type I diabetic patients. *Kidney Int* 2001; 59:317-23.
15. Zhu D, Kim Y, Steffes MW, et al. Glomerular distribution of type IV collagen in diabetes by high resolution quantitative immunocytochemistry. *Kidney Int* 1994; 45:425-33.
16. Østerby R. Early phases in the development of diabetic glomerulopathy. *Acta Med Scand Suppl* 1974; 574:3-82.
17. Østerby R. Morphometric studies of the peripheral glomerular basement membrane in early juvenile diabetes. I. Development of initial basement membrane thickening. *Diabetologia* 1972; 8:84-92.
18. Steffes MW, Sutherland DE, Goetz FC, Rich SS, Mauer SM. Studies of kidney and muscle biopsy specimens from identical twins discordant for type I diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1985; 312:1282-7.
19. Brito PL, Fioretto P, Drummond K, et al. Proximal tubular basement membrane width in insulin-dependent diabetes mellitus. *Kidney Int* 1998; 53:754-61.
20. Walker JD, Close CF, Jones SL, et al. Glomerular structure in type-1 (insulin-dependent) diabetic patients with normo- and microalbuminuria. *Kidney Int* 1992; 41:741-8.
21. Chavers BM, Bilous RW, Ellis EN, Steffes MW, Mauer SM. Glomerular lesions and urinary albumin excretion in type I diabetes without overt proteinuria. *N Engl J Med* 1989; 320:966-70.
22. Bangstad HJ, Østerby R, Dahl-Jørgensen K, et al. Early glomerulopathy is present in young, type 1 (insulin-dependent) diabetic patients with microalbuminuria. *Diabetologia* 1993; 36:523-9.
23. Caramori ML, Fioretto P, Mauer M. The need for early predictors of diabetic nephropathy risk: is albumin excretion rate sufficient? *Diabetes* 2000; 49:1399-408.
24. Caramori ML, Kim Y, Huang C, et al. Cellular Basis of Diabetic Nephropathy: 1. Study Design and Renal Structural-Functional Relationships in Patients With Long-Standing Type 1 Diabetes. *Diabetes* 2002; 51:506-13.
25. Eddy AA. Molecular insights into renal interstitial fibrosis. *J Am Soc Nephrol* 1996; 7:2495-508.
26. Steffes MW, Bilous RW, Sutherland DE, Mauer SM. Cell and matrix components of the glomerular mesangium in type I diabetes. *Diabetes* 1992; 41:679-84.
27. Katz A, Caramori ML, Sisson-Ross S, et al. An increase in the cell component of the cortical interstitium antedates interstitial fibrosis in type 1 diabetic patients. *Kidney Int* 2002; 61:2058-66.
28. Forsblom CM, Groop PH, Ekstrand A, Groop LC. Predictive value of microalbuminuria in patients with insulin-dependent diabetes of long duration. *Brit Med J* 1992; 305:1051-3.
29. Berg UB, Torbjørnsdotter TB, Jaremko G, Thalme B. Kidney morphological changes in relation to long-term renal function and metabolic control in adolescents with IDDM. *Diabetologia* 1998; 41:1047-56.

30. Fioretto P, Mauer M, Bortoloso E, et al. Glomerular ultrastructure in type 2 diabetes [Abstract]. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9:114A.
31. Moriya T, Moriya R, Yajima Y, Steffes MW, Mauer M. Urinary albumin as an indicator of diabetic nephropathy lesions in Japanese type 2 diabetic patients. *Nephron* 2002; 91:292-9.
32. Pagtalunan ME, Miller PL, Jumping-Eagle S, et al. Podocyte loss and progressive glomerular injury in type II diabetes. *J Clin Invest* 1997; 99:342-8.
33. Mogensen CE. Microalbuminuria predicts clinical proteinuria and early mortality in maturity-onset diabetes. *N Engl J Med* 1984; 310:356-60.
34. Parving HH, Oxenboll B, Svendsen PA, Christiansen JS, Andersen AR. Early detection of patients at risk of developing diabetic nephropathy. A longitudinal study of urinary albumin excretion. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1982; 100:550-5.
35. Viberti GC, Hill RD, Jarrett RJ, et al. Microalbuminuria as a predictor of clinical nephropathy in insulin-dependent diabetes mellitus. *Lancet* 1982; 1:1430-2.
36. Mogensen CE, Chachati A, Christensen CK, et al. Microalbuminuria: an early marker of renal involvement in diabetes. *Uremia Invest* 1985; 9:85-95.
37. Rossing P, Hougaard P, Parving HH. Risk factors for development of incipient and overt diabetic nephropathy in type 1 diabetic patients: a 10-year prospective observational study. *Diabetes Care* 2002; 25:859-64.
38. Perkins BA, Ficociello LH, Silva KH, et al. Regression of microalbuminuria in type 1 diabetes. *N Engl J Med* 2003; 348:2285-93.
39. Fioretto P, Mauer M, Brocco E, et al. Patterns of renal injury in NIDDM patients with microalbuminuria. *Diabetologia* 1996; 39:1569-76.
40. Parving HH, Andersen AR, Smidt UM, Svendsen PA. Early aggressive antihypertensive treatment reduces rate of decline in kidney function in diabetic nephropathy. *Lancet* 1983; 1:1175-9.
41. Viberti GC, Bilous RW, Mackintosh D, Keen H. Monitoring glomerular function in diabetic nephropathy. A prospective study. *Am J Med* 1983; 74:256-64.
42. Mogensen CE. Progression of nephropathy in long-term diabetics with proteinuria and effect of initial anti-hypertensive treatment. *Scand J Clin Lab Invest* 1976; 36:383-8.
43. Andersen AR, Christiansen JS, Andersen JK, Kreiner S, Deckert T. Diabetic nephropathy in Type 1 (insulin-dependent) diabetes: an epidemiological study. *Diabetologia* 1983; 25:496-501.
44. Caramori ML, Fioretto P, Mauer M. Low glomerular filtration rate in normoalbuminuric type 1 diabetic patients: an indicator of more advanced glomerular lesions. *Diabetes* 2003; 52:1036-40.
45. Caramori ML, Fioretto P, Mauer M. Long-term follow-up of normoalbuminuric longstanding type 1 diabetic patients: Progression is associated with worse baseline glomerular lesions and lower glomerular filtration rate [Abstract]. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10:126A.
46. Bangstad HJ, Østerby R, Hartmann A, Berg TJ, Hanssen KF. Severity of glomerulopathy predicts long-term urinary albumin excretion rate in patients with type 1 diabetes and microalbuminuria. *Diabetes Care* 1999; 22:314-9.
47. Lane PH, Steffes MW, Fioretto P, Mauer SM. Renal interstitial expansion in insulin-dependent diabetes mellitus. *Kidney Int* 1993; 43:661-7.
48. Fioretto P, Steffes MW, Sutherland DE, Mauer M. Sequential renal biopsies in insulin-dependent diabetic patients: structural factors associated with clinical progression. *Kidney Int* 1995; 48:1929-35.
49. Taft JL, Nolan CJ, Yeung SP, Hewitson TD, Martin FI. Clinical and histological correlations of decline in renal function in diabetic patients with proteinuria. *Diabetes* 1994; 43:1046-51.
50. Fioretto P, Mauer M, Carraro A, et al. Renal structural changes in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Am J Hypertens* 1997; 10:184S-88S.
51. Hayashi H, Karasawa R, Inn H, et al. An electron microscopic study of glomeruli in Japanese patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *Kidney Int* 1992; 41:749-57.
52. White KE, Bilous RW. Type 2 diabetic patients with nephropathy show structural-functional relationships that are similar to type 1 disease. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11:1667-73.
53. Nosadini R, Velussi M, Brocco E, et al. Course of renal function in type 2 diabetic patients with abnormalities of albumin excretion rate. *Diabetes* 2000; 49:476-84.
54. Cordonnier DJ, Pinel N, Barro C, et al. Expansion of cortical interstitium is limited by converting enzyme inhibition in type 2 diabetic patients with glomerulosclerosis. The Diabiopsies Group. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10:1253-63.
55. Ruggenenti P, Gambaro V, Perna A, Bertani T, Remuzzi G. The nephropathy of non-insulin-dependent diabetes: predictors of outcome relative to diverse patterns of renal injury. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9:2336-43.