

GDAŃSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY

Marcin Renke

**AKTUALNE MOŻLIWOŚCI LECZENIA
NEFROPROTEKCYJNEGO – BLOKADA UKŁADU
RENINA-ANGIOTENSYNA-ALDOSTERON
I CO DALEJ?**

Rozprawa habilitacyjna

**Katedra i Klinika Nefrologii, Transplantologii
i Chorób Wewnętrznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego
Kierownik: Prof. dr hab. med. Bolesław Rutkowski**

Gdańsk 2010

Wydano za zgodą
Senackiej Komisji Wydawnictw
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

Wydawca: Gdański Uniwersytet Medyczny
Druk: Dział Wydawnictw GUMed
Gdańsk, ul. Marii Skłodowskiej-Curie 3a
Zlecenie KW/10/11

SPIS TREŚCI

WYKAZ PUBLIKACJI BĘDĄCYCH PRZEDMIOTEM ROZPRAWY HABILITACYJNEJ	5
SPIS UŻYWANYCH SKRÓTÓW	7
1. WSTĘP	9
1.1. Przewlekła Choroba Nerek, epidemiologia i patogeneza	9
1.2. Nefroprotekcja i aktualne możliwości jej optymalizacji.....	10
2. CEL BADAŃ	12
3. MATERIAŁ I METODY	13
4. OMÓWIENIE WYNIKÓW	14
4.1. Dawkowanie Inhibitorów Konwertazy Angiotensyny w nefroprotekcji	14
4.2. Terapia potrójna hamująca układ Renina-Angiotensyna-Aldosteron	15
4.3. Zastosowanie N-acetylocysteiny w nefroprotekcji	16
4.4. Zastosowanie atorwastatyny u chorych z PChN.....	17
4.5. Zastosowanie pentoksyfiliny w nefroprotekcji	18
4.6. Bezpieczeństwo stosowania badanych schematów podawania leków potencjalnie nefroprotekcyjnych	19
4.7. Perspektywy i dalsze badania.....	19
4.8. Krytyczna ocena materiału i metod.....	20
5. PODSUMOWANIE	21
6. WNIOSKI.....	23
7. PIŚMIENNICTWO	24
8. PRACE BĘDĄCE PRZEDMIOTEM ROZPRAWY	31

WYKAZ PUBLIKACJI BĘDĄCYCH PRZEDMIOTEM ROZPRAWY HABILITACYJNEJ

Praca A: Tylicki L., Renke M., Rutkowski P., Larczyński W., Aleksandrowicz E., Łysiak-Szydłowska W., Rutkowski B. **Dual blockade of the renin-angiotensin-aldosterone system with high-dose angiotensin-converting enzyme inhibitor for nephroprotection: an open, con-trolled, randomized study.** *Scand. J. Urol. Nephrol.* 2008; vol. 42, nr 4, s. 381-388.
(IF 0,909; KBN/MNiSW 10)

Praca B: Renke M., Tylicki L., Knap N., Rutkowski P., Neuwelt A., Petranjuk A., Larczyński W., Woźniak M., Rutkowski B.: **High-dose angiotensin-converting enzyme inhibitor attenu-ates oxidative stress in patients with chronic kidney disease.** *Nephrol. Dial. Transplant.* 2009; vol. 24, nr 2, s. 689-690.
(IF 3,303; KBN/MNiSW 32)

Praca C: Tylicki L., Rutkowski P., Renke M., Larczyński W., Aleksandrowicz E., Łysiak-Szydłowska W., Rutkowski B. **Triple pharmacological blockade of the renin-angiotensin-aldosterone system in nondiabetic CKD : an open-label crossover randomized controlled trial.** *Am. J. Kidney Dis.* 2008; vol. 52, nr 3, s. 486-493.
(IF 4,822; KBN/MNiSW 24)

Praca D: Renke M., Tylicki L., Knap N., Rutkowski P., Neuwelt A., Larczyński W., Woźniak M., Rutkowski B.: **Spironolactone attenuates oxidative stress in patients with chron-ic kidney disease.** *Hypertension* 2008; vol. 52, s. e132-e133.
(IF 7,368; KBN/MNiSW 24)

Praca E: Renke M., Tylicki L., Rutkowski P., Larczyński W., Aleksandrowicz E., Łysiak-Szydłowska W., Rutkowski B. **The effect of N-acetylcysteine on proteinuria and markers of tubular injury in non-diabetic patients with chronic kidney disease : a placebo-controlled, ran-domized, open, cross-over study.** *Kidney Blood Press. Res.* 2008; vol. 31, nr 6, s. 404-410.
(IF 1,268; KBN/MNiSW 20)

Praca F: Renke M., Tylicki L., Rutkowski P., Larczyński W., Neuwelt A., Aleksandrowicz E., Łysiak-Szydłowska W., Rutkowski B. **The effect of N-acetylcysteine on blood pressure and markers of cardiovascular risk in non-diabetic patients with chronic kidney disease: a placebo-controlled, randomized, cross-over study.** *Med. Sci. Monit.* 2010; 16, 7, s 13-18. (IF 1,543; KBN/MNiSW 20)

Praca G: Tylicki L., Renke M., Rutkowski P., Larczyński W., Aleksandrowicz E., Łysiak-Szydłowska W., Rutkowski B. **Effects of N-acetylcysteine on angiotensin converting enzyme plasma activity in patients with chronic kidney diseases.** *Blood Purif.* 2008; 26, 4, s. 354. (IF 1,748; KBN/MNiSW 15)

Praca H: Renke M., Tylicki L., Rutkowski P., Neuwelt A., Larczyński W., Ziętkiewicz M., Aleksandrowicz E., Łysiak-Szydłowska W., Rutkowski B. **Atorvastatin improves tubular status in non-diabetic patients with chronic kidney disease – placebo controlled, randomized, cross-over study.** *Acta Biochim. Pol.* 2010; vol. 57, nr 4, s 547-552. (IF 1,262; KBN/MNiSW 20)

Praca I: Renke M., Knap N., Tylicki L., Rutkowski P., Neuwelt A., Larczyński W., Woźniak M., Rutkowski B.: **Atorvastatin attenuates oxidative stress in patients with chronic kidney disease.** *Med. Sci. Monit.* 2010; vol. 16, nr 3, s. LE3. (IF 1,543; KBN/MNiSW 20)

Praca J: Renke M., Rutkowski P., Tylicki L., Ziętkiewicz M., Larczyński W., Rutkowski B. **Pentoksyfilina stary lek czy nowa nadzieja nefrologii?** *Przegl. Lek.* 2008; 65, 7/8, s. 358-361. (KBN/MNiSW 4)

Praca K: Renke M., Tylicki L., Rutkowski P., Knap N., Ziętkiewicz M., Neuwelt A., Aleksandrowicz E., Łysiak-Szydłowska W., Woźniak M., Rutkowski B. **Effect of pentoxifylline on proteinuria, markers of tubular injury and oxidative stress in non-diabetic patients with chronic kidney disease : placebo controlled, randomized, cross-over study.** *Acta Biochim. Pol.* 2010; vol. 57, nr 1, s. 119-123. (IF 1,262; KBN/MNiSW 20)

SPIS UŻYWANYCH SKRÓTÓW

$\alpha 1m$	- $\alpha 1$ -mikroglobulina
AlAT	- aminotransferaza alaninowa
AspAT	- aminotransferaza asparaginianowa
ARA	- antagonist receptoru AT-1 dla Angiotensyny II
ATO	- atorwastatyna
CK	- kinaza kreatynowa
CRP	- białko C-reaktywne
GFR	- wskaźnik filtracji kłębuszkowej
eGFR	- wyliczony wskaźnik filtracji kłębuszkowej
GSH	- glutation
IKA	- Inhibitor Konwertazy Angiotensyny
KDIGO	- The Kidney Disease: Improving Global Outcomes
K/DOQI	- Kidney Disease Outcomes Quality Initiative
NAC	- N-acetylocysteina
NAG	- N-Acetylo- β -D-Glukozamina
NHANES III	- Third National Health and Nutrition Examination Survey
NKF	- National Kidney Foundation
PIIINP	- aminokońcowy propeptyd prokolagenu typu III
PChN	- Przewlekła Choroba Nerek
PNN	- przewlekła niewydolność nerek
PTF	- pentoksyfilina
RAA	- układ renina-angiotensyna-aldosteron
UCK GUMed	- Uniwersyteckie Centrum Kliniczne Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

1. WSTĘP

1.1. Przewlekła Choroba Nerek, epidemiologia i patogeneza

Przewlekłą Chorobę Nerek (PChN) rozpoznajemy, zgodnie z zaleceniami amerykańskiej organizacji National Kidney Foundation (NKF), gdy spełniony jest jeden z poniższych warunków: co najmniej przez 3 miesiące obserwuje się uszkodzenie nerek czynnościowe lub strukturalne z prawidłowym lub zmniejszonym wskaźnikiem filtracji kłębuszkowej (GFR) lub GFR wynosi w tym okresie stale poniżej 60 ml/min/1,73 m². Klasyfikacja PChN wg NKF została zawarta w tabeli 1.

Wyniki badań epidemiologicznych przeprowadzonych w wielu krajach na różnych kontynentach wskazują, że PChN może występować u 6 a nawet 15% badanej populacji, co stanowi 380, a nawet 870 milionów (średnio około 600 mln) ludzi na świecie. Dane na ten temat uzyskano między innymi z badań: NHANES III, przeprowadzonego w Stanach Zjednoczonych Ameryki Północnej, AusDiab w Australii, OGHMA w Japonii i PREVEND oraz HUNT zakończonych w Holandii i Norwegii. W Polsce wyniki badania PolNef wskazują, że problem ten może dotyczyć nawet 4 milionów osób [14]. Nawet te szacunkowe dane wskazują, że PChN jest istotnym problemem epidemiologicznym, który stanowi również poważny problem ekonomiczny dla większości krajów świata. Skłania to nefrologów na całym świecie do poszukiwania skutecznych metod nefroprotekcji, które byłyby w stanie zmniejszyć liczbę chorych u których dochodzi do progresji choroby w kierunku schyłkowej niewydolności nerek. W efekcie można by doprowadzić do zwolnienia narastania zapotrzebowania na kosztowne leczenie nerkozastępcze. W 2006 roku w Polsce liczba osób dializowanych wzrosła o 5,24%, a w 2007 o 6,27% (865 osób), łącznie dializowano w 2007 roku 18 214 chorych. Oznacza to, że liczba leczonych dializami stale wzrasta i roczny przyrost jest podobny jak w większości krajów europejskich (4-6%). Wszystko wskazuje na to, że zgodnie z przewidywaniami zawartymi w „Raportcie o Stanie Leczenia Nerkozastępczego – 2002” liczba chorych leczonych nerkozastępczo w naszym kraju w 2010 roku wyniesie 27 000 pacjentów [38].

Warto dodać, że we wszystkich badaniach epidemiologicznych znajduje potwierdzenie to, że czynnikami mającymi wpływ na częstsze występowanie PChN są nadciśnienie tętnicze, cukrzyca, płeć męska, otyłość, wiek i palenie tytoniu. Skuteczne działania nefroprotekcyjne, a więc postępowanie mające na celu ochronę funkcji nerek u chorych ze stadiami PChN od I do IV, są nie-

zmiernie ważne i powinny być wspierane nie tylko przez nefrologów, ale również organizatorów ochrony zdrowia w naszym kraju. Poszukiwanie skutecznych metod nefroprotekcji, również farmakologicznych, jest tylko częścią trudnego zadania zahamowania epidemii chorób cywilizacyjnych, które niewątpliwie mają wpływ na jakość i długość życia współczesnego człowieka.

Tabela 1. Klasyfikacja przewlekłej choroby nerek według NKF K/DOQI w modyfikacji KDIGO

Stadium	Opis	GFR (ml/min/1,73 m ²)	Inne określenia	
1	Uszkodzenie nerek z prawidłowym GFR	> 90	Albuminuria, białkomocz, hematuria	T, jeżeli po przeszczepie nerki
2	Uszkodzenie nerek z niewielkim ↓ GFR	60-89	Utajona PNN	
3	Umiarkowane ↓ GFR	30-59	Wyrównana PNN	
4	Znaczne ↓ GFR	15-29	Zaawansowana PNN	
5	Schyłkowa niewydolność nerek	< 15 (lub dializa)	Niewyrównana PNN, mocznica	D, jeżeli dializowany

NKF K/DOQI – The National Kidney Foundation Kidney Disease Outcomes Quality Initiative, KDIGO – The Kidney Disease: Improving Global Outcomes, PNN – przewlekła niewydolność nerek. Według: Levey A.S. i wsp.: *Kidney Int.* 2005, 67,2089-2100. [15]

1.2. Nefroprotekcja i aktualne możliwości jej optymalizacji

Ochrona funkcji nerek powinna być brana pod uwagę, u każdego człowieka, także zdrowego. Wielu chorobom nerek można zapobiegać, a u pacjenta z rozpozną PChN spowolnić jej postęp. Należy dodać, że spowalniając postęp PChN opóźnia się nie tylko moment rozpoczęcia leczenia nerkozastępczego, ale również zmniejsza się ryzyko śmierci wskutek powikłań sercowo-naczyniowych.

Wprowadzenie do praktyki klinicznej postępowania nefroprotekcijnego stało się możliwe po poznaniu i analizie mechanizmów leżących u podstaw postępującego uszkodzenia ne-

rek. Ważna okazała się hipoteza postawiona przez Brennera, który wskazał na istotną rolę zmian hemodynamicznych wewnątrz kłębuszków nerkowych w odpowiedzi na uszkodzenie nefronów [7]. Stało się to podstawą do badań, które potwierdziły rolę nadmiernej aktywacji układu renina-angiotensyna-aldosteron (RAA) w postępie niewydolności nerek. Przeprowadzono również szereg badań, które udowodniły nefroprotekcyny potencjał leków hamujących układ RAA. Były to między innymi duże badania kliniczne potwierdzające właściwości inhibitorów konwertazy angiotensyny I (IKA) wśród chorych z nefropatią cukrzycową (Collaborative Study Group, BENEDICT) i niecukrzycową (REIN, AASK) oraz antagonistów receptora AT-1 dla angiotensyny II (ARA): IDNT, RENAAL, DETAIL i wiele innych [45]. Również w Klinice Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych od końca lat 90. poprzedniego stulecia przeprowadzono szereg programów poświęconych optymalizacji leczenia nefroprotekcynnego przy pomocy farmakologicznej blokady układu RAA [33,34,39,49], które były podstawą rozprawy habilitacyjnej Kolegi Leszka Tylickiego. Niewątpliwie farmakologiczna blokada układu RAA jest podstawową strategią nefroprotekcynną stosowaną w leczeniu pacjentów z PChN. Jednak w ten sposób nie udaje się całkowicie zahamować postępu choroby. Prowadzi to do poszukiwania uzupełniających strategii terapeutycznych i/lub modyfikacji dotychczas stosowanych. Cykl badań przeprowadzonych w ostatnich latach pod kierownictwem Pana Profesora Bolesława Rutkowskiego, który miał na celu poprawę istniejących standardów postępowania nefroprotekcynnego u chorych z niecukrzycową przyczyną PChN stał się podstawą niniejszej rozprawy habilitacyjnej.

2. CEL BADAŃ

- Ocena wpływu terapii skojarzonej ARA i IKA w dawkach ponad maksymalnych na białkomocz, biomarkery uszkodzenia cewek nerkowych, włóknienia i stresu oksydacyjnego u chorych z PChN nie będącą następstwem cukrzycy.
- Ocena wpływu terapii skojarzonej potrójnej blokującej układ RAA (IKA, ARA i antagonistą aldosteronu) na białkomocz i wydalanie z moczem biomarkerów uszkodzenia cewek nerkowych, stresu oksydacyjnego oraz włóknienia u chorych z PChN nie będącą następstwem cukrzycy.
- Ocena wpływu dodania N-acetylocysteiny (NAC) do terapii blokującej układ RAA na wartości ciśnienia tętniczego, aktywność osoczową enzymu konwertującego angiotensynę, białkomocz, homocysteinę i biomarkery uszkodzenia cewek nerkowych u chorych z PChN nie będącą następstwem cukrzycy.
- Ocena wpływu dołączenia atorwastatyny (ATO) do terapii blokującej układ RAA na białkomocz i wydalanie z moczem biomarkerów uszkodzenia cewek nerkowych oraz stresu oksydacyjnego u chorych z PChN nie będącą następstwem cukrzycy.
- Ocena wpływu dodania pentoksyfiliny (PTF) do terapii blokującej układ RAA na białkomocz i wydalanie z moczem biomarkerów uszkodzenia cewek nerkowych oraz stresu oksydacyjnego u chorych z PChN nie będącą następstwem cukrzycy.

3. MATERIAŁ I METODY

Przeprowadzono badania, wśród chorych w wieku od 18 do 65 lat z białkomoczem pochodzenia niecukrzycowego, z prawidłową lub nieznacznie upośledzoną funkcją nerek będących pod stałą opieką Poradni Chorób Nerek przy UCK GUMed w latach 2004 – 2008. Badania rozpoczynano od okresu wstępnego w którym chorzy otrzymywali leczenie nefroprotekcyjne z użyciem leków blokujących układ RAA (IKA i/lub ARB). Pacjenci byli kwalifikowani do dalszej części projektu jeżeli ich wartości ciśnienia tętniczego były niższe od 130/80 mm Hg. Następnie chorzy byli randomizowani do badania i w zależności od schematu badawczego, szczegółowo opisanego w poszczególnych artykułach, otrzymywali dalsze leczenie. Oznaczenia wykonywano w trakcie randomizacji i po każdym okresie badania. Podczas prowadzonych badań oznaczono: ciśnienie tętnicze krwi, kreatyninę, poziom potasu w surowicy krwi, białkomocz dobowy, albuminurię, biomarkery uszkodzenia cewek nerkowych oznaczane w moczu: α 1-mikroglobulinę (α 1m) [12] i N-Acetylo- β -D-Glukozaminę (NAG) [3] i pośredni marker włóknienia – aminokońcowy propeptyd prokolagenu typu III (PIIINP) [41] oraz wydalanie z moczem 15-F_{2 α} -izoprostanów (biomarker stresu oksydacyjnego). Ponadto w wybranych badaniach oznaczano aktywność reninową osocza, poziom homocysteiny, wysoko czułe białko C-reaktywne (hsCRP), aminotransferazy alaninowej (ALAT), aminotransferazy asparaginianowej (AspAT), kinazy kreatynowej (CK) oraz poziomy cholesterolu i triglicerydów. Łącznie przeprowadzono badania u 92 chorych. Szczegółowy opis grup badanych pacjentów i stosowanych metod badawczych został zawarty w poszczególnych artykułach będących przedmiotem rozprawy habilitacyjnej, zamieszczonych w rozdziale 8.

4. OMÓWIENIE WYNIKÓW

4.1. *Dawkowanie Inhibitorów Konwertazy Angiotensyny w nefroprotekcji*

Jak do tej pory nie ustalono optymalnego nefroprotekcijnego dawkowania IKA oraz ARA. Udowodniono, że zarówno małe, jak i standardowo stosowane dawki IKA i ARA w leczeniu nadciśnienia tętniczego zmniejszają białkomocz oraz mają korzystny wpływ na biomarkery uszkodzenia cewek nerkowych. Jednocześnie efekt ten jest zależny od dawki. Małe dawki IKA, ramiprilu w badaniu DIABHYCAR, nie wpływały na zwolnienie progresji uszkodzenia nerek, pomimo zmniejszenia albuminurii [18]. Wydawać się więc by mogło, że w celu zapewnienia skutecznej nefroprotekcji stosować powinno się wysokie dawki leków hamujących układ RAA, oczywiście o ile nie występują działania uboczne stosowanych preparatów. Biorąc pod uwagę badania doświadczalne, które wskazywały na potencjalnie korzystne stosowanie dawek supramaksymalnych leków blokujących układ RAA przeprowadzono badanie, które miało na celu odpowiedź na pytanie czy stosowanie ponad maksymalnych dawek IKA ma sens z punktu widzenia dalszej redukcji białkomoczu i ograniczenia uszkodzenia cewek nerkowych. W pracy A [46] wykazano, że podwojenie dawki cilazaprilu pomimo zwiększonej blokady układu RAA, którą określono badając aktywność reninową osocza, nie miało wpływu na białkomocz, biomarkery uszkodzenia cewek nerkowych oznaczane w moczu: $\alpha 1m$ i NAG i pośredni marker włóknienia - PIIINP. Wnioski wypływające z tej pracy były zbieżne z doniesieniem Hasa i wsp., którzy stwierdzili, że stosowanie spiramilu w dawce dwukrotnie większa niż maksymalnie stosowana do leczenia nadciśnienia tętniczego nie miało wpływu na redukcję białkomoczu [11]. Warto dodać, że stosowanie ponad maksymalnych dawek ARA (telmisartan, losartan, irbesartan) miało korzystny wpływ na białkomocz i spowolnienie postępu przewlekłych nefropatii przebiegających z białkomoczem [1,36,50]. Przyczyny różnego wpływu ponad maksymalnych dawek IKA i ARA na progresję PChN są nie do końca jasne. Warto dodać, że podwojona dawka cilazaprilu miała korzystny wpływ na redukcję parametrów stresu oksydacyjnego (praca B) [28]. Oznaczano wydalanie z moczem $15-F_{2\alpha}$ -izoprostanów, które pod wpływem stosowanego leku zmniejszyło się istotnie statystycznie. Być może w ten sposób stosowane dawki ponad maksymalne IKA mogą korzystnie wpływać na hamowanie progresji PChN, ponieważ uważa się, że izoprostany mają

również pewną aktywność biologiczną, jako substancje o właściwościach obkurczających naczynia nerkowe [42].

4.2. Terapia potrójna hamująca układ Renina-Angiotensyna-Aldosteron

Terapia skojarzona dwulekowa blokująca układ RAA, polegająca na jednoczesnym stosowaniu leków z grupy ARA i IKA prowadzi do lepszej ochrony nerek niż monoterapia ARA lub IKA wśród chorych z PChN i współistniejącym białkomoczem. Na zasadność takiego rozumowania wskazują wyniki badań eksperymentalnych, jak również analiza mechanizmów działania obu grup leków. Udało się nam potwierdzić te przypuszczenia wykazując, że leczenie skojarzone zmniejsza białkomocz oraz ogranicza uszkodzenie cewek nerkowych w stopniu większym, niż monoterapia lekami obu grup wśród chorych z PChN i białkomoczem [33,49]. Wnioski wypływające z naszych badań zostały potwierdzone przez innych badaczy [35,37]. Entuzjazm stosowania terapii skojarzonej został zmałowany przez wyniki badania ONTARGET [16], które nie wykazało korzyści terapii skojarzonej ARA i IKA nad monoterapią. Obserwowano również w tym badaniu większą ilość działań niepożądanych wśród chorych leczonych terapią skojarzoną. Należy jednak dodać, że populację badaną stanowili w większości pacjenci bez cech PChN, co nie pozwala na proste przeniesienie wniosków na interesującą nas grupę pacjentów. Obecnie wielu badaczy uważa, że leczenie skojarzone ARA i IKA może być stosowane w profilaktyce rozwoju istniejącej PChN [4,8,17,25].

Ocena terapii skojarzonej potrójnej, czyli korzyści wynikających z łącznego stosowania IKA, ARA oraz antagonistów receptora dla aldosteronu, stanowiła kontynuację dotychczas zakończonych prac. Wydaje się, że tego typu terapia mogłaby być skuteczniejsza od terapii podwójnej z powodu dodatkowego ograniczenia efektów działania aldosteronu, który może być syntetyzowany drogą niezależną od osi RAA i w ten sposób nie podlegać w pełni hamującemu wpływowi IKA oraz ARA. W naszym badaniu ocenialiśmy wpływ stosowanej terapii na białkomocz, biomarkery uszkodzenia cewek nerkowych, włóknienia i nasilenie stresu oksydacyjnego u pacjentów z PChN w stadium od I do III. Wyniki badania przedstawiono w pracach C [48] i D [27]. Stwierdziliśmy, że terapia potrójna w porównaniu do podwójnej blokującej układ RAA w większym stopniu zmniejsza białkomocz, wydalanie NAG i PIIINP. Do podobnych wniosków doszli również inni badacze [6]. Warto dodać, że terapia potrójna miała

również korzystny wpływ na redukcję parametrów stresu oksydacyjnego (praca D). Oznaczano wydalanie z moczem 15-F_{2α}-izoprostanów, które pod wpływem stosowanego leczenia zmniejszyło się istotnie statystycznie. Prowadzona terapia była bezpieczna, nikt z badanych chorych nie przerwał programu z powodu działań niepożądanych stosowanych leków.

4.3. Zastosowanie *N-acetylocysteiny* w nefroprotekcji

Nie ulega wątpliwości, że farmakologiczna blokada układu RAA stanowi obecnie podstawową strategię leczenia przewlekłych nefropatii. Wprowadzenie leków hamujących układ RAA do terapii pacjentów z uszkodzeniem nerek doprowadziło do zwolnienia tempa progresji PChN. Do tej pory nie udało się jednak całkowicie zahamować jej postępu. Skłania to do poszukiwania uzupełniających strategii terapeutycznych. Podczas prowadzonych badań naszą uwagę zwróciło kilka preparatów o potencjalnych możliwościach nefroprotekcyjnych. Jednym z nich była *N-acetylocysteina* (NAC), syntetyczny prekursor zredukowanego glutationu (GSH), który stymuluje wewnątrzkomórkową syntezę GSH m.in. w ten sposób wpływając na ograniczenie stresu oksydacyjnego [2]. NAC w szeregu badań doświadczalnych wykazywała m.in. właściwości hamowania aktywności tkankowej i osoczowej enzymu konwertującego angiotensynę. Ponadto stwierdzano obniżenie poziomu aldosteronu w surowicy krwi, homocysteiny, poprawę GFR, czy systemowego ciśnienia krwi u badanych zwierząt [23,51]. W celu zweryfikowania hipotezy o potencjalnych właściwościach nefroprotekcyjnych NAC u chorych z PChN przeprowadzono podwójnie ślepe, krzyżowe, randomizowane badanie kliniczne, kontrolowane placebo w Klinice Nefrologii AM w Gdańsku. Oceniano wpływ 1200 mg NAC stosowanego przez okres 8 tygodni u 20 chorych z PChN i stabilnym białkomoczem. Wykazano, że NAC nie miało wpływu na badane parametry: białkomocz dobowy, albuminurię, biomarkery uszkodzenia cewek nerkowych (NAG i α 1m) i włóknienia (PIIINP), poziom homocysteiny oraz ciśnienie tętnicze krwi. Wyniki przedstawiono w pracach E [30] i F [31]. Potwierdzono natomiast wpływ NAC na aktywność enzymu konwertującego w badanej populacji (praca G) [47]. Podsumowując należy stwierdzić, że w przeprowadzonych krótkoterminowych badaniach nie udało się jednoznacznie potwierdzić korzystnego wpływu NAC na ochronę funkcji nerek u chorych z PChN. Być może jednym z powodów braku korzystnych efektów NAC było stosowanie leku u chorych z stabilnym, znikomym lub miernym białkomoczem oraz prawidłowymi poziomami homocysteiny i wartościami ciśnienia tętni-

czego krwi. Mogło to mieć wpływ na negatywne wyniki przeprowadzonych badań. Wydaje się, że dla poznania odpowiedzi na pytanie, czy potencjalne właściwości kardio- i nefroprotecyjne NAC mają znaczenie kliniczne, konieczne jest przeprowadzenie długoterminowych, randomizowanych badań na znacznie większej populacji chorych z PChN.

4.4. Zastosowanie atorwastatyny u chorych z PChN

Kolejnym ocenianym preparatem była atorwastatyna (ATO). Przedstawiciel grupy leków zwanej statynami, którego niewątpliwą zaletą jest siła działania, dobra tolerancja leku i brak konieczności modyfikacji dawki w zależności od stopnia niewydolności nerek [13]. ATO należy do inhibitorów reduktazy HMGCoA, których znaczenie w leczeniu hiperlipidemii jest obecnie powszechnie znane i akceptowane. Wiadomo również, że PChN towarzyszą zaburzenia lipidowe, które mają niekorzystny wpływ na rokowanie w tej grupie chorych [10,40]. Ponadto, od chwili odkrycia pierwszych statyn, trwają także badania nad innymi mechanizmami działania tych leków. W badaniach eksperymentalnych zwracano m.in. uwagę na korzystny wpływ statyn na białkomocz i hamowanie progresji niewydolności nerek. Wyniki badań klinicznych są niejednoznaczne, część badaczy opisywała zmniejszanie się białkomoczu pod wpływem stosowanych statyn [5,43], inni stosując wysokie dawki leków opisywali odwrotne zjawisko bez wpływu na oceniany GFR [9,19]. W celu wyjaśnienia potencjalnych właściwości nefroprotecyjnych ATO i rozszerzenia wskazań do stosowania tej grupy leków u pacjentów z PChN bez hipercholesterolemii przeprowadzono randomizowane, podwójnie ślepe, krzyżowe, kontrolowane placebo badanie kliniczne wśród 14 chorych z PChN i białkomoczem znikomym lub miernym. Po 8 tygodniowym okresie wstępnym, kiedy optymalizowano terapię lekami blokującymi układ RAA, dodawano przez okres 12 tygodni 40 mg ATO lub placebo, a następnie po 12 tygodniowej przerwie ponownie stosowano lek badany i placebo przez kolejne 12 tygodni. Wyniki przedstawiono w pracy H [32]. Stwierdzono korzystny, istotny statystycznie, wpływ stosowanego ATO na biomarkery uszkodzenia cewek nerkowych (NAG i α 1m) i brak takiego działania na oznaczany białkomocz dobowy i eGFR. Przedstawione wyniki są zbieżne z badaniami doświadczalnymi przedstawionymi przez Tsujihata i współpracowników [44]. Warto dodać, że ATO miała korzystny wpływ na redukcję parametrów stresu oksydacyjnego. Oznaczano wydalanie z moczem 15-F_{2α}-izoprostanów, które pod wpływem stosowanego leku zmniejszyło się istotnie statystycznie (praca I) [24].

Zarówno ograniczenie stresu oksydacyjnego, jak i zmniejszenie uszkodzenia śródmiąższu nerki mogą mieć korzystny wpływ na rokowanie wśród chorych z PChN. Dowody na kardio- i nefroprotecyjne działanie statyn wśród chorych z PChN najprawdopodobniej dostarczy duże badanie kliniczne SHARP (ponad 9000 chorych), którego wyniki mają być przedstawione pod koniec 2010 roku.

4.5. Zastosowanie pentoksyfiliny w nefroprotekcji

Istnieje szereg teoretycznych przesłanek wskazujących na słuszność hipotezy, że terapia nefroprotecyjna powinna być uzupełniona przez zastosowanie pentoksyfiliny (PTF). Omówiono to szczegółowo w jednej z poglądowych publikacji autora (praca J) [26]. Poza znanym od wielu lat działaniem na układ naczyniowy PTF ma również mieć właściwości antycytokinowe, zmniejszać nasilenie stanu zapalnego, hamować syntezę kolagenu, prowadzić do ograniczenia produkcji reaktywnych form tlenu i w efekcie zmniejszenia nasilenia stresu oksydacyjnego. Pierwsze badania kliniczne przeprowadzone wśród chorych na cukrzycę i PChN [20,21,22] wskazują na szereg korzyści płynących z tego typu leczenia. W celu weryfikacji hipotezy czy uzupełnienie optymalnej terapii lekami blokującymi układ RAA u chorych z PChN bez cukrzycy o PTF może przynieść dodatkowe korzyści przeprowadzono w Klinice Nefrologii AM w Gdańsku następujące badanie. 22 chorych z PChN i białkomoczem znikomym lub miernym po 8 tygodniach terapii optymalnej blokującej układ RAA otrzymało dodatkowo zgodnie z randomizacją 1200 mg PTF lub placebo. Następnie preparaty badane odstawiono na 8 tygodni i ponownie włączono na kolejne 8 tygodni. Wyniki tego krzyżowego, podwójnie ślepego badania kontrolowanego placebo przedstawiono w pracy K [29]. PTF dodana do terapii blokującej układ RAA zmniejszyła białkomocz (o 26%) , ale wynik ten nie osiągnął znamienności statystycznej prawdopodobnie z powodu zbyt małej liczebności grupy badanej. Było to spowodowane stosunkowo złą tolerancją stosowanej dawki leku. Działania niepożądane, głównie pod postacią zaburzeń żołądkowo-jelitowych wystąpiły u blisko 23% badanych pacjentów. PTF nie miała wpływu na oceniane wskaźniki stresu oksydacyjnego (wydalanie z moczem 15-F_{2α}-izoprostanów) i uszkodzenia cewek nerkowych (NAG i α1m). Pomimo częściowo negatywnych wyników tego badania wydaje się, że dopiero duże wieloosrodkowe badanie kliniczne da nam odpowiedź na pytanie czy PTF znajdzie swoje trwałe miejsce we współczesnej nefrologii. Dotychczas przeprowadzone badania budzą nadzieję, ale nie dają ostatecznej odpowiedzi czy warto stosować ten lek wśród chorych z PChN.

4.6. Bezpieczeństwo stosowania badanych schematów podawania leków potencjalnie nefroprotektoryjnych

Podczas prowadzonych badań nie stwierdzono niekorzystnego wpływu stosowanych leków blokujących układ RAA, NAC, ATO i PTF na poziom filtracji kłębuszkowej wyrażonej jako eGFR. Nie wystąpiło też w żadnym badaniu istotne klinicznie podwyższenie poziomu potasu wśród leczonych pacjentów. Podczas stosowania terapii potrójnej blokującej układ RAA notowano podwyższenie poziomu potasu u 10 spośród 18 chorych, wartości te wynosiły maksymalnie u 2 chorych 5,7 i 5,9 mmol/L. Natomiast przy stosowaniu ponadmaksymalnych dawek IKA u jednego z chorych stwierdzono poziom potasu 6,2 mmol/L bez objawów klinicznych, nie znaleziono też różnic istotnych statystycznie pomiędzy poziomami potasu w badanych grupach.

Działania niepożądane, głównie pod postacią zaburzeń żołądkowo-jelitowych wystąpiły podczas stosowania PTF. Uniemożliwiło to ukończenie badania przez 5 pacjentów, co mogło mieć istotny wpływ na uzyskane wyniki. Dolegliwości ustąpiły u wszystkich chorych po przerwaniu terapii z wykorzystaniem PTF. Stosowanie ATO w dawce dobowej 40 mg i NAC 1200 mg nie wiązało się z wystąpieniem istotnych działań niepożądanych w badanych grupach pacjentów. Leczenie tego typu można uznać za bezpieczne przy uwzględnieniu przeciwwskazań do stosowania poszczególnych preparatów.

4.7. Perspektywy i dalsze badania

Wydaje się konieczne kontynuowanie prac nad optymalnym blokowaniem układu RAA, który pełni kluczową rolę w utrzymaniu homeostazy ustroju. W badaniach, które są w pewien sposób kontynuacją podjętych tematów będziemy oceniać wpływ aliskirenu (inhibitora reniny) na funkcję i strukturę nerek, oraz wykładniki stresu oksydacyjnego. Planujemy również ocenę terapii łączonej zawierającej aliskiren i ARA oraz porównanie z innymi rodzajami terapii hamującymi układ RAA.

Niewątpliwie uzyskane wstępne wyniki stosowania PTF u chorych z PChN są zachęcające, ale wymagają przeprowadzenia dużego wielośrodkowego badania klinicznego, które pozwoliłoby na odpowiedź na pytanie o faktyczne miejsce tego leku we współczesnej nefro-

logii. Wydaje się konieczne porównanie efektów działania niskich i maksymalnych dawek PTF, które jak wykazują doświadczenia własne są gorzej tolerowane przez część chorych, co znacznie ogranicza stosowanie PTF w tej grupie pacjentów.

4.8. Krytyczna ocena materiału i metod

Badane grupy chorych były niejednorodne, obejmowały chorych z niecukrzycową przewlekłą chorobą nerek przebiegającą z białkomoczem, z prawidłową lub miernie upośledzoną funkcją nerek (PChN od I do III). Liczebność badanych grup była ograniczona z powodu szczupłości środków finansowych przeznaczonych na prowadzone badania, ale najczęściej wystarczająca dla potwierdzenia lub zaprzeczenia stawianych hipotez badawczych. Ponadto wykorzystywane metody badawcze mogły być obarczone błędami, m.in. zbierana przez pacjentów dobową zbiórka moczu może być niedokładna, co może mieć wpływ na uzyskiwane wyniki. Ponadto korzystne działanie badanych leków na biomarkery uszkodzenia cewek nerkowych, czy też włóknienia powinno być zweryfikowane przez badania histopatologiczne, których nie wykonywano rutynowo podczas prowadzonych badań.

5. PODSUMOWANIE

Tabela 2. Zestawienie badań będących podstawą rozprawy habilitacyjnej z wyszczególnieniem najważniejszych wniosków z nich wypływających.

Praca	Publikacja	Główne wnioski
Praca A [46]	<i>Scand J Urol Nephrol</i> 2008	Terapia skojarzona IKA i ARA, z wykorzystaniem ponad maksymalnych dawek IKA nie ma wpływu na białkomocz, badane biomarkery uszkodzenia cewek nerkowych i włóknienia u chorych z PChN i białkomoczem.
Praca B [28]	<i>Nephrol Dial Transplant.</i> 2009	Terapia skojarzona IKA i ARA, z wykorzystaniem ponad maksymalnych dawek IKA ma wpływ na zmniejszenie wydalania z moczem 15-F _{2α} -izoprostanów (wskaźnika stresu oksydacyjnego) u chorych z PChN i białkomoczem.
Praca C [48]	<i>Am J Kidney Dis.</i> 2008	Terapia potrójna blokującej układ RAA (IKA, ARA i antagonistą aldosteronu) zmniejsza białkomocz i wydalanie badanych biomarkerów uszkodzenia cewek nerkowych i włóknienia u chorych z PChN i białkomoczem.
Praca D [27]	<i>Hypertension</i> 2008	Terapia potrójna blokująca układ RAA (IKA, ARA i antagonistą aldosteronu) ma wpływ na zmniejszenie wydalania z moczem 15-F _{2α} -izoprostanów u chorych z PChN i białkomoczem.
Praca E [30]	<i>Kidney Blood Press Res.</i> 2008	NAC dodane do terapii blokującej układ RAA nie ma wpływu na białkomocz i badane biomarkery uszkodzenia cewek nerkowych u chorych z PChN i białkomoczem.
Praca F [31]	<i>Med. Sci. Monit.</i> 2010	Dodanie NAC do terapii blokującej układ RAA nie ma wpływu ciśnienie tętnicze i badane markery zagrożenia sercowo-naczyniowego u chorych z PChN i białkomoczem.
Praca G [47]	<i>Blood Purif.</i> 2008	NAC dodane do terapii blokującej układ RAA zmniejsza aktywność osoczną enzymu konwertującego angiotensynę u chorych z PChN i białkomoczem.
Praca H [32]	<i>Acta Biochim. Pol.</i> 2010	ATO dodane do terapii blokującej układ RAA nie ma wpływu na białkomocz, zmniejsza natomiast wydalanie z moczem biomarkerów uszkodzenia cewek nerkowych u chorych z PChN i białkomoczem.

Praca	Publikacja	Główne wnioski
Praca I [24]	<i>Med. Sci. Monit.</i> 2010	Dodanie ATO do terapii blokującej układ RAA zmniejsza wydalania z moczem 15-F _{2α} -izoprostanów (wskaźnika stresu oksydacyjnego) u chorych z PChN i białkomoczem.
Praca J [26]	<i>Przegl. Lek.</i> 2008	Praca poglądowa omawiająca rolę pentoksyfiliny w nefrologii
Praca K [29]	<i>Acta Biochim Pol.</i> 2010	PTF dodane do terapii blokującej układ RAA zmniejsza białkomocz o 26% (wynik nie znamiennej statystycznie), nie ma natomiast wpływu na wydalanie biomarkerów uszkodzenia cewek nerkowych i stresu oksydacyjnego u chorych z PChN i białkomoczem.

W przebiegu przeprowadzonej serii badań przedstawionych w powyższych rozważaniach udowodniono, że zasady optymalnego leczenia nefroprotekcijnego podlegają ciągłym modyfikacjom. Wynika to z poszerzającej się wiedzy dotyczącej patogenezy PChN oraz wprowadzania nowych leków lub poszukiwania nowych zastosowań dla preparatów znanych już od wielu lat, o których mechanizmach działania wiemy obecnie więcej niż przed laty. Pozwala to na poszukiwanie nowych form terapii łączonej, która mogłaby pełniej chronić upośledzoną funkcję nerek i skuteczniej hamować procesy prowadzące do rozwoju ich schyłkowej niewydolności. W tabeli 2 przedstawiono wnioski płynące z przeprowadzonych badań klinicznych. Na ich podstawie można sformułować pewne zalecenia, które mogłyby wpłynąć na modyfikacje istniejących standardów dotyczących postępowania nefroprotekcijnego. Wydaje się, że w określonych grupach chorych z PChN powinna znaleźć zastosowanie terapia potrójna (IKA, ARA i antagonisty aldosteronu), która stosowana świadomie może przynieść wymierne korzyści pacjentom i nie narażać ich na działania niepożądane stosowanych leków. Naszym zdaniem również ATO lub inna statyna powinny znaleźć stałe miejsce w postępowaniu nefroprotekcijnym.

6. WNIOSKI

- Terapia skojarzona ARA i IKA w dawkach ponad maksymalnych nie ma wpływu na białkomocz, badane biomarkery uszkodzenia cewek nerkowych i włóknienia u chorych z PChN nie będącą następstwem cukrzycy. Leczenie to zmniejsza wydalanie z moczem izoprostanów. Świadczy to o ograniczeniu stresu oksydacyjnego, ale również może mieć bezpośredni korzystny efekt na naczynia nerkowe.
- Terapia potrójna blokująca układ RAA (IKA, ARA i antagonistą aldosteronu) zmniejsza białkomocz i wydalanie z moczem badanych biomarkerów uszkodzenia cewek nerkowych, stresu oksydacyjnego oraz włóknienia u chorych z PChN nie będącą następstwem cukrzycy.
- NAC dodane do terapii blokującej układ RAA nie ma wpływu na białkomocz, wartości ciśnienia tętniczego, homocysteinę i biomarkery uszkodzenia cewek nerkowych u chorych z PChN nie będącą następstwem cukrzycy. Dołączenie NAC do terapii nefroprotektoryjnej zmniejsza aktywność osoczną enzymu konwertującego angiotensynę w w./w. grupie chorych.
- Dodanie ATO do terapii blokującej układ RAA zmniejsza wydalanie z moczem badanych biomarkerów uszkodzenia cewek nerkowych i izoprostanów u chorych z PChN nie będącą następstwem cukrzycy. Tego typu leczenie nie ma dodatkowego wpływu na białkomocz w w./w. grupie chorych.
- PTF dodana do terapii blokującej układ RAA zmniejsza białkomocz o 26% (wynik nieznamienny statystycznie), nie ma natomiast wpływu na wydalanie z moczem izoprostanów oraz biomarkerów uszkodzenia cewek nerkowych u chorych z PChN nie będącą następstwem cukrzycy.
- Leczenie nefroprotektoryjne podlega i nadal będzie podlegać indywidualizacji i optymalizacji w celu pełniejszej ochrony funkcji nerek.

7. PIŚMIENICTWO

1. Aranda P., Segura J., Ruilope L.M., Aranda F.J., Frutos M.A. Lopez V.: Long-term renoprotective effects of standard versus high doses of telmisartan in hypertensive nondiabetic nephropathies. *Am. J. Kidney Dis.* 2005, 46, 1074-1079.
2. Aruoma O.I., Halliwell B., Hoey B.M., Butler J.: The antioxidant action of N-acetylcysteine: its reaction with hydrogen peroxide, hydroxyl radical, superoxide, and hypochlorous acid. *Free Radic. Biol. Med.* 1989; 6: 593-597.
3. Bazzi C., Petrini C., Rizza V., Arrigo G., Napodano P., Paparella M., D'Amico G.: Urinary N-acetyl-beta-glucosaminidase excretion is a marker of tubular cell dysfunction and a predictor of outcome in primary glomerulonephritis. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2002, 17, 1890-1896.
4. Berl T.: Renal protection by inhibition of the rennin-angiotensin-aldosterone system. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2009, 10, 1-8.
5. Bianchi S., Bigazzi R., Caiazza A., Campese V.M.: A controlled, prospective study of the effects of atorvastatin on proteinuria and progression of kidney disease. *Am. J. Kidney Dis.* 2003, 41, 565-570.
6. Bianchi S., Bigazii R., Campese V.M.: Long-term effects of spironolactone on proteinuria and kidney function in patients with chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2006, 70, 2116-2123.
7. Brenner B.M., Meyer T.W., Hostetter T.H.: Dietary protein intake and the progressive nature of kidney disease: the role of hemodynamically mediated glomerular injury in the pathogenesis of progressive glomerular sclerosis in aging, renal ablation and intrinsic renal disease. *N. Engl. J. Med.* 1982, 307, 652-659.
8. Chatzikyrkou Ch., Menne J., Hallet H.: How to achieve renal protection In the light of ONTARGET? *J. Hypertens.* 2009, 27, 15-17.
9. Deslypere J.P., Delanghe J., Vermeulen A.: Proteinuria as complication of simvastatin treatment. *Lancet.* 1990, 336:1453.
10. Guijarro C., Keane W.F.: Lipid abnormalities and changes in plasma proteins in glomerular diseases and chronic renal failure. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 1993, 2, 372-379.
11. Haas M., Leko-Mohr Z., Erler C., Mayer G.: Antiproteinuric versus antihypertensive effects of high-dose ACE inhibitor therapy. *Am. J. Kidney Dis.* 2002, 40, 458-463.

12. Holdt-Lehmann B., Lehmann A., Korten G., Nagel H., Nizze H., Schuff-Werner P.: Diagnostic value of urinary alanine aminopeptidase and N-acetyl-beta-D-glucosaminidase in comparison to alfa-1 microglobulin as a marker in evaluating tubular dysfunction in glomerulonephritis patients. *Clin. Chim. Acta* 2000, 297, 93-102.
13. K/DOQI clinical practice guidelines for management of dyslipidemias in patients with kidney disease. *Am. J. Kidney Dis.* 2003, 41, 1-91.
14. Król E., Rutkowski B., Czekalski S., Sułowicz W., Więcek A., Lizakowski S., Czarniak P., Szubert R., Karczewska-Maksymienko L., Orlikowska M., Kraszewska E., Magdon R.: Early diagnosis of renal disease – preliminary results from the pilot study PolNef.: *Przegl. Lek.* 2005, 62, 690-693.
15. Levey A.S., Eckardt K.U., Tsukamoto Y., Levin A., Coresh J., Rossert J., De Zeeuw D., Hostetter T.H., Lameire N., Eknoyan G. Definition and classification of chronic kidney disease: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int.* 2005, 67, 2089-2100.
16. Mann J.F., Schmieder R.E., McQueen M., Dyal L., Schumacher H., Pogue J., Wang X., Maggioni A., Budaj A., Chaithiraphan S., Dickstein K., Keltai M., Metsarinne K., Oto A., Parkhomenko A., Piegas L.S., Svendsen T.L., Teo K.K., Yusuf S.: ONTARGET investigators. Renal outcomes with telmisartan, ramipril or both, in people with high vascular risk (the ONTARGET study): a multicenter, randomized, double blind, controlled trial. *Lancet.* 2008, 372, 547-553.
17. Mann J.F., Tobe S., Teo K.K., Yusuf S.: Is therapy of people with chronic kidney disease ONTARGET? *Nephrol. Dial. Transplant.* 2010, 25, 42-44.
18. Marre M., Lievre M., Chatellier G., Mann J.F., Passa P., Menard J.: Effects of low dose ramipril on cardiovascular and renal outcomes in patients with type 2 diabetes and raised excretion of urinary albumin: randomised, double blind, placebo controlled trial (the DIABHYCAR study). *BMJ.* 2004, 328, 495.
19. McKenney J.M., Davidson M.H., Jacobson T.A., Guyton J.R.: Final conclusions and recommendations of the National Lipid Association Statin Safety Assessment Task Force. *Am. J. Cardiol.* 2006, 97, 89-94.
20. Navarro J.F., Mora C., Muros M., Garcia J.: Additive antiproteinuric effect of pentoxifylline in patients with type 2 diabetes under angiotensin II receptor blockade: a short-term, randomized, controlled trial *J. Am. Soc. Nephrol.* 2005, 16, 2119-2126.
21. Navarro J.F., Mora C., Muros M., Maca M., Garca J.: Effects of pentoxifylline on urinary N-acetyl-beta-glucosaminidase excretion in type 2 diabetic patients: a short-term,

- prospective, randomized study. *Am. J. Kidney Dis.* 2003, 42, 264-270.
22. Navarro J.F., Mora C., Rivero A., Gallego E., Chahin J., Macia M., Mendez M.L., Garcia J.: Urinary protein excretion and serum tumor necrosis factor in diabetic patients with advanced renal failure: effects of pentoxifylline administration. *Am. J. Kidney Dis.* 1999, 33, 453-463.
 23. Rauchova H., Pechanova O., Kunes J., Vokurkova M., Dobesova Z., Zicha J.: Chronic N-acetylcysteine administration prevents development of hypertension in N(omega)-nitro-L-arginine methyl ester-treated rats: the role of reactive oxygen species. *Hypertens. Res.* 2005, 28, 475-482.
 24. Renke M., Knap N., Tylicki L., Rutkowski P. Neuwelt A., Larczyński W., Woźniak M., Rutkowski B.: Atorvastatin attenuates oxidative stress in patients with chronic kidney disease. *Med. Sci. Monit.* 2010, 16, 3.
 25. Renke M., Rutkowski P., Tylicki L., Rutkowski B.: Combination treatment and renal function in patients with chronic kidney disease. *J. Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2010, 11, 146-147.
 26. Renke M., Rutkowski P., Tylicki L., Ziętkiewicz M., Larczyński W., Rutkowski B. Pentoksyfilina stary lek czy nowa nadzieja nefrologii? *Przegl. Lek.* 2008; 65, 358-361.
 27. Renke M., Tylicki L., Knap N., Rutkowski P. Neuwelt A., Larczyński W., Woźniak M., Rutkowski B.: Spironolactone attenuates oxidative stress in patients with chronic kidney disease. *Hypertension.* 2008, 52, 132-133.
 28. Renke M., Tylicki L., Knap N., Rutkowski P. Neuwelt A., Petranyuk A. Larczyński W., Woźniak M., Rutkowski B.: High-dose angiotensin-converting enzyme inhibitor attenuates oxidative stress in patients with chronic kidney disease. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2009, 24, 689-690.
 29. Renke M., Tylicki L., Rutkowski P., Knap N., Ziętkiewicz M., Neuwelt A., Aleksandrowicz E., Łysiak-Szydłowska W., Woźniak M., Rutkowski B. Effect of pentoxifylline on proteinuria, markers of tubular injury and oxidative stress in non-diabetic patients with chronic kidney disease : placebo controlled, randomized, cross-over study. *Acta Biochim. Pol.* 2010, 57, 119-123.
 30. Renke M., Tylicki L., Rutkowski P., Larczyński W., Aleksandrowicz E., Łysiak-Szydłowska W., Rutkowski B. The effect of N-acetylcysteine on proteinuria and markers of tubular injury in non-diabetic patients with chronic kidney disease : a placebo-controlled, randomized, open, cross-over study. *Kidney Blood Press. Res.* 2008, 31, 404-410.

31. Renke M., Tylicki L., Rutkowski P., Larczyński W., Neuwelt A., Aleksandrowicz E., Łysiak-Szydłowska W., Rutkowski B. The effect of N-acetylcysteine on blood pressure and markers of cardiovascular risk in non-diabetic patients with chronic kidney disease: a placebo-controlled, randomized, cross-over study. *Med. Sci. Monit.* 2010, 16, 13-18.
32. Renke M., Tylicki L., Rutkowski P., Neuwelt A., Larczyński W., Ziętkiewicz M., Aleksandrowicz E., Łysiak-Szydłowska W., Rutkowski B. Atorvastatin improves tubular status in non-diabetic patients with chronic kidney disease – placebo controlled, randomized, cross-over study. *Acta Biochim. Pol.* 2010, 57, 547-552.
33. Renke M., Tylicki L., Rutkowski P., Rutkowski B.: Low-dose angiotensin II receptor antagonists and angiotensin II converting enzyme inhibitors alone or in combination for treatment of primary glomerulonephritis. *Scan. J. Urol. Nephrol.* 2004, 38, 427-433.
34. Renke M., Tylicki L., Rutkowski P., Wojnarowski K., Łysiak-Szydłowska W., Rutkowski B.: Low-dose dual blockade of the renin-angiotensin system improves tubular status in non-diabetic proteinuric patients. *Scan. J. Urol. Nephrol.* 2005, 39, 511-517.
35. Rossing K., Christensen P., Jensen B., Parving H.: Dual blockade of the renin-angiotensin system in diabetic nephropathy. *Diabetes Care.* 2002, 25,95-100.
36. Rossing K., Schjoedt K.J., Jensen B.R., Boomsma F., Parving H.H.: Enhanced renoprotective effects of ultrahigh doses of irbesartan in patients with type 2 diabetes and microalbuminuria. *Kidney Int.* 2005, 68, 1190-1198.
37. Russo D., Minutolo R., Pisani A., Esposito R., Signoriello G., Andreucci M., Balletta M.: Coadministration of losartan and enalapril exerts additive antiproteinuric effect in IgA nephropathy. *Am. J. Kidney Dis.* 2001, 38, 18-25.
38. Rutkowski B., Lichodziejewska-Niemierko M., Grenda R., Czekalski S., Durlik M., Bautembach S.: Raport o stanie leczenia nerko zastępczego w Polsce-2007. Gdańsk: Drukonsul. 2009.
39. Rutkowski P., Tylicki L., Renke M., Korejwo G., Zdrojewski Z., Rutkowski B.: Low-dose dual blockade of the renin-angiotensin system in patients with primary glomerulonephritis. *Am. J. Kidney Dis.* 2004, 42, 260-268.
40. Samuelsson O., Mulec H., Knight-Gibson C., Attman P.O., Kron B., Larsson R., Weiss L., Wedel H., Alaupovic P.: Lipoprotein abnormalities are associated with increased rate of progression of human chronic renal insufficiency. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1997, 12, 1908-1915.

41. Soylemezoglu O., Wild G., Dalley A.J., MacNeil S., Milford-Ward A., Brown C.B.: Urinary and serum type III collagen: markers of renal fibrosis. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1997, 12, 1883-1889.
42. Takahashi K., Nammour T.M., Fukunaga M., Ebert J., Morrow J.D., Roberts L.J., Hoover R.L., Badr K.F.: Glomerular actions of a free radical-generated novel prostaglandin, 8-epi-prostaglandin F2 alpha, in the rat. Evidence for interaction with thromboxane A2 receptors. *J. Clin. Invest.* 1992, 90, 136-141.
43. Tonelli M.: The effect of statins on preservation of kidney function in patients with coronary artery disease. *Curr. Opin. Cardiol.* 2006, 21, 608-612.
44. Tsujihata M., Momohara C., Yoshioka I., Tsujimura A., Nonomura N., Okuyama A.: Atorvastatin inhibits renal crystal retention in a rat stone forming model. *J. Urol.* 2008, 180, 2212-2217.
45. Tylicki L., Larczyński W., Rutkowski B.: Renal protective effects of the renin-angiotensin-aldosterone system blockade: from evidence-based approach to perspectives. *Kidney Blood Press. Res.* 2005, 28, 230-242.
46. Tylicki L., Renke M., Rutkowski P., Larczyński W., Aleksandrowicz E., Łysiak-Szydłowska W., Rutkowski B.: Dual blockade of the renin-angiotensin-aldosterone system with high-dose angiotensin-converting enzyme inhibitor for nephroprotection: an open, controlled, randomized study. *Scand. J. Urol. Nephrol.* 2008, 42, 381-388.
47. Tylicki L., Renke M., Rutkowski P., Larczyński W., Aleksandrowicz E., Łysiak-Szydłowska W., Rutkowski B.: Effects of N-acetylcysteine on angiotensin converting enzyme plasma activity in patients with chronic kidney diseases. *Blood Purif.* 2008, 26, 354.
48. Tylicki L., Rutkowski P., Renke M., Larczyński W., Aleksandrowicz E., Łysiak-Szydłowska W., Rutkowski B.: Triple pharmacological blockade of the renin-angiotensin-aldosterone system in nondiabetic CKD: an open-label crossover randomized controlled trial. *Am. J. Kidney Dis.* 2008, 52, 486-493.
49. Tylicki L., Rutkowski P., Renke M., Rutkowski B.: Renoprotective effect of small doses of losartan and enalapril in patients with primary glomerulonephritis. Short-term observation. *Am. J. Nephrol.* 2002, 22, 356-362.
50. Weinberg A.J., Zappe D.H., Ashton M., Weinberg M.S.: Safety and tolerability of high-dose angiotensin receptor blocker therapy in patients with chronic kidney disease: a pilot study. *Am. J. Nephrol.* 2004, 24, 340-345.

51. Zicha J., Dobesova Z., Kunes J.: Antihypertensive mechanisms of chronic captopril or N-acetylcysteine treatment in L-NAME hypertensive rats. *Hypertens. Res.* 2006, 29, 1021-1027.