МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ
КАТЕДРА ПО ПАТОФИЗИОЛОГИЯ

д-р Анелия Първанова Илиева, дм

ИНХИБИРАНЕ НА АНГИОТЕНЗИН И ЕНДОТЕЛИН КОНВЕРТИРАЩИТЕ ЕНЗИМИ И РОЛЯТА ИМ В ПРОФИЛАКТИКАТА И ЛЕЧЕНИЕТО НА МИКРОАЛБУМИНУРИЯТА ПРИ ЗАХАРЕН ДИАБЕТ ТИП 2

АВТОРЕФЕРАТ

на дисертационен труд за придобиване на научна степен

“Доктор на науките”

Област на висше образование 7. Здравеопазване и спорт,

Професионално направление 7.1. Медицина,

Докторска програма по Патофизиология

Научна специалност ш. 03.01.05. – Патофизиология

СОФИЯ, 2016 г.

Дисертационният труд съдържа 256 страници, 19 таблици, 28 фигури. Книгописът включва 497 литературни източници, от които 6 на кирилица и 488 на латиница.

Докторантката е научен изследовател в Института за Фармакологични изледвания Марио Негри, Катедра по бъбречна медицина, Милано, Италия.

Дисертационният труд е обсъден и насочен за защита от Катедрен съвет на Катедра по Патофизиология към МФ, Медицински университет, София, състоял се на 30.10.2015 г.

Публичната защита ще се проведе на 13.05.2016 г. от 14 часа в Аудитория ..., ул. ”Здраве” № 2 - гр. София, съгласно чл. 76 и чл. 77 от Правилника за условията и реда на придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в МУ-София, и заповед № РК36-3462/16.12.2015г. на ректора на МУ-София, на открито заседание на **научно жури** в състав:

Председател:

Проф. д-р Александър Георгиев Стойнев, дмн - вътрешен член

Членове:

Проф. д-р Радослав Александров Гърчев, дмн - вътрешен член, рецензент
Чл. кор. Проф. д-р Стефан Стоилов Костянев, дмн - външен член, рецензент
Проф. д-р Мария Миткова Орбецова, дм - външен член, рецензент
Доц. д-р Мария Колева Тодорова, дм - вътрешен член
Доц. д-р Ганка Йорданова Бекярова, дмн - външен член
Доц. д-р Анелия Александрова Димитрова, дм - външен член

Материалите по защитата са на разположение в Катедра по Патофизиология към МФ, Медицински университет, гр. София, ул. ”Здраве” № 2 и са публикувани на интернет страницата на МУ – София.

Забележка: В автореферата номерата на таблиците и фигурите не съответстват на номерата в дисертационния труд.

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

АН – артериално налягане

АХ – артериална хипертензия

ГБМ – гломерулна базална мембрана

ДКН – диастолно кръвно налягане

ДН – диабетна нефропатия

ЕТ-1 – ендотелин-1

ET_AP – ендотелин А рецептор

ET_BP – ендотелин В рецептор

ЗД – захарен диабет

ЗД-1 – захарен диабет тип 1

ЗД-2 – захарен диабет тип 2

НЛР – нежелани лекарствени ракции

РФ – рисков(и) фактор(и)

САН – средно артериално налягане

СГФ – скорост на гломерулна филтрация

СКН – систолно кръвно налягане

ССЗ – сърдечно-съдови заболявания

ТБН – терминална бъбречна недостатъчност

ХЛК – хипертрофия на лявата камера

ХСН – хронична сърдечна недостатъчност

ACE – angiotensin-converting enzyme (ангиотензин конвертиращ ензим)

AER – albumin excretion rate (скорост на екскреция на албумина)

Ang II – angiotensin II (ангиотензин II)

ANP – atrial natriuretic peptide (предсърден натриуретичен пептид)

ARBs – angiotensin II receptor blockers (антагонисти на рецепторите на ангиотензин II)

AUC – area under the curve (площ под кривата)

AV – atrioventricular (атриовентрикуларен)

CCBs – calcium channel blockers (калциеви антагонисти)

dCCBs – dihydropyridine CCBs (дихидропиридинови калциеви антагонисти)

ECE – endothelin converting enzyme (ендотелин конвертиращ ензим)

FF – filtration fraction (филтрационна фракция)

HbA_{1c} – glycated hemoglobin (гликолизиран хемоглобин)

HDL – high-density lipoprotein (високо-плътностни липопротеини)

HPLC – high performance liquid chromatography (високо-афинитетна течна хроматография)

HR – hazard ratio (кумулативен коефициент на риска)

LDL – low-density lipoprotein (ниско-плътностни липопротеини)

ndCCBs – nondihydropyridine CCBs (недихидропиридинови калциеви антагонисти)

NEP – neutral endopeptidase neutral endopeptidase (неутрална ендопептидаза)

NO – nitric oxide (азотен оксид)

RAS – renin angiotensin system (система ренин-ангиотензин)

RPF – renal plasma flow (бъбречен плазмоток)

RVR – renal vascular resistance (бъбречно съдово съпротивление)

АКРОНИМИ НА КЛИНИЧНИ ПРОУЧВАНИЯ

HOPE – Heart Outcomes Prevention Evaluation

HOPE-TOO – HOPE - The Ongoing Outcomes study

IRMA – IRbesartan in patients with type 2 diabetes and MicroAlbuminuria

LIFE – Losartan Intervention For Endpoint reduction in Hypertension

PREVEND – Prevention of Renal and Vascular End Stage Disease

СЪДЪРЖАНИЕ

I. ВЪВЕДЕНИЕ 7

II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ 9

III. КОНТИНГЕНТИ И МЕТОДИКИ 10

IV. РЕЗУЛТАТИ 21

4.1. Изследване ефекта на ACE-инхибира трандолаприл, приложен самостоятелно или в комбинация с ndCCB верапамил, върху честотата на поява на микроалбуминурия при хипертензивни пациенти със ЗД-2 и нормоалбуминрия 21

4.2. Изследване наличието на асоциация между нормоалбуминурия и дългосрочния сърдечно-съдов риск и ролята на рано започнатата терапия с ACE-инхибитор в дългосрочната кардиопротекция при пациенти със ЗД-2, нормоалбуминурия и АХ, рандомизирани в BENEDICT-A 27

4.3. Изследване дали добавянето на ndCCB верапамил към ACE-инхибитора трандолаприл може допълнително да забави прогресията на микроалбуминурията до макроалбуминурия (основна цел), да потенцира регресията на микроалбуминурията до нормоалбуминурия и да ограничи ССЗ (вторични цели) при хипертензивни пациенти със ЗД-2, микроалбуминурия и нормална бъбречна функция 31

4.4. Изследване ефектите на даглутрил, инхибитор на ECE и NEP, върху албуминурията, артериалното налягане, бъбречната функция и профила на безопасност на фона на лосартан, при пациенти със ЗД-2, АХ и диабетна нефропатия (микро- и макроалбуминурия) 37

V. ОБСЪЖДАНЕ НА ПОЛУЧЕНИТЕ РЕЗУЛТАТИ 42

5.1. Изследване ефекта на ACE-инхибира трандолаприл, приложен самостоятелно или в комбинация с ndCCB верапамил, върху честотата на поява на микроалбуминурия при хипертензивни пациенти със ЗД-2 и нормоалбуминрия42

5.2. Изследване наличието на асоциация между нормоалбуминурия и дългосрочния сърдечно-съдов риск и ролята на рано започнатата терапия с ACE-инхибитор в дългосрочната кардиопротекция при пациенти със ЗД-2, нормоалбуминурия и АХ, рандомизирани в BENEDICT-A 47

5.3. Изследване дали добавянето на ndCCB верапамил към ACE-инхибитора трандолаприл може допълнително да забави прогресията на микроалбуминурията до макроалбуминурия (основна цел), да потенцира регресията на микроалбуминурията до нормоалбуминурия и да ограничи ССЗ

(вторични цели) при хипертензивни пациенти със ЗД-2, микроалбуминурия и нормална бъбречна функция 49
5.4. Изследване ефектите на даглутрил, инхибитор на ECE и NEP, върху албуминурията, артериалното налягане, бъбречната функция и профила на безопасност на фона на лосартан, при пациенти със ЗД-2, АХ и диабетна нефропатия (микро- и макроалбуминурия) 53
VI. ИЗВОДИ 57
VII. ПРИНОСИ 59
7.1. Научно-теоретични приноси 59
7.2 Научно-приложни приноси 61
VIII. ПУБЛИКАЦИИ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД И СПРАВКА ЗА ЧАСТ ОТ ЗАБЕЛЯЗАНИТЕ ЦИТИРАНИЯ 62
IX. НАУЧНИ СЪОБЩЕНИЯ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД 83
IX. SUMMARY 85

I. ВЪВЕДЕНИЕ

Захарният диабет (ЗД) се явява най-масовата неинфекциозна епидемия в човешката история. Неговата разпространеност в световен мащаб е средно от 1 до 3%, а при прибавяне и на недиагностицираните случаи се достига до 6%. През 2011 година са регистрирани 346 милиона болни от ЗД, като 90% от тях са със ЗД тип 2 (ЗД-2). Предполага се, че към 2030 г. болните ще бъдат над 429 милиона, което е свързано с повишаване честотата на затлъстяването, заседналия начин на живот и подобряване диагностицирането на заболяването.

Съвременната терапия на ЗД удължава средната продължителност на живота, като създава предпоставка за увеличаване на неговите хронични микро- и макроваскуларни усложнения. От микроваскуларните усложнения диабетната нефропатия (ДН) засяга около една трета от пациентите и е основна причина за терминалната бъбречна недостатъчност (ТБН) в световен мащаб. Първият клиничен признак на ДН е появата на микроалбуминурия, която се наблюдава в 2–5% от пациентите годишно. При ЗД-2, за разлика от ЗД-1, микроалбуминурията по-рядко е обратима и прогресира до изявена протеинурия при 20-40% от пациентите. Десет до 50% от пациентите с протеинурия достигат до ТБН, която в крайна сметка изисква диализа или трансплантация. Микроалбуминурията отразява не само бъбречно увреждане, но често рефлектира и генерализирана ендотелна дисфункция, асоциирана с повишен кардиоваскуларен риск. Диабетно болните с микроалбуминурия имат три пъти по-висока честота на смъртност от сърдечно-съдови заболявания (ССЗ), в сравнение с тези без микроалбуминурия, като 40-50% от пациентите със ЗД-2 и микроалбуминурия умират от ССЗ преди да достигнат до ТБН. Затова превенцията на микроалбуминурията се явява основен таргет при пациентите със ЗД-2.

Освен ДН, друга водеща причина за ТБН е и артериалната хипертензия (АХ). Ангиотензин II (Ang II), основният ефекторен пептид на системата ренин-ангиотензин (RAS) има централна роля в патогенезата и прогресията на ДН, АХ и асоциираните сърдечно-съдови усложнения. Показано е, че лекарствата, които потискат активността на RAS, а именно инхибиторите на ангиотензин конвертиращия ензим (ACE) и антагонистите на рецепторите на Ang II (ARBs) намаляват бъбречните и ССЗ при пациентите със ЗД по-ефективно в сравнение с другите антихипертензивни лекарства, дори и при подобен контрол на артериалното налягане (АН). Въпреки

това, протективният ефект на инхибиторите на RAS е недостатъчен при пациентите с напреднал стадий на ДН, свързано с нейната комплицирана и многофакторна патогенеза. Това налага търсенето на нови методи за потенциране на нефропротективния им ефект или чрез тяхното комбиниране, с което се осъществява по-пълна блокада на RAS, или чрез комбинирането им с други антихипертензивни препарати, като например антагонистите на бавните L-тип потенциал-зависими калциеви канали (CCBs), за които също има данни, че намаляват албуминурията и забавят прогресията на ДН. През последното десетилетие активно се изследват и други лекарства, които потискат RAS, като инхибитори на ренина, антагонисти на рецепторите на алдостерона, агонисти на рецепторите на витамин Д. Изследват се и нови лекарствени молекули, повлияващи не-RAS зависими патогенетични фактори в ДН.

След откриването на ендотелин-1 (ET-1), мощен вазоконстриктор стимулиращ процесите на пролиферация и възпаление, антагонизмът на рецепторите на този пептид или на неговото образуване от прекурсора му Big-ET чрез инхибиране на ендотелин-конвертиращия ензим (ECE) е предложен като нов подход в лечението на АХ и бъбречните заболявания.

Семейството на натриуретичните пептиди (NP), освен натриуретична, притежават също диуретична, вазодилатираща, антиинфламаторна, антифибротична, антимитогенна и антихипертрофична активност. Повишаването на NP чрез инхибиране на неутралната ендопептидаза (NEP), ензимът, който ги разгражда е таргет в клиничните изследвания през последните двадесет години поради благоприятните им ефекти върху сърдечната и отделителната системи.

Интересна е и стратегията, чрез която се търси максимална терапевтична полза от инхибирането на два или повече ензими с т.нар. вазопептидазни инхибитори. Пример за това е комбинираното инхибиране на ECE и NEP, при което се потиска синтеза на вазоконстриктора ET-1 и се потенцират ефектите на NP. Предполага се, че този подход може да има приложение при лечението на ДН тъй като ET-1 и NP участват активно в регулацията на основните бъбречни функции.

Подобряването на съществуващите терапевтични програми и откриването на лекарствени молекули с нов механизъм на действие ще доведе до по-успешна профилактика и лечение на ДН, което ще намали колосалните разходи свързани с нейното лечение и ще подобри качеството на живот на пациентите със ЗД-2 и бъбречни усложнения.

II. ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ

ЦЕЛИ

I. Диабетна нефропатия, профилактика и лечение

При хипертензивни пациенти със ЗД-2, с или без ДН, да се изследва:

1. Участието на RAS в патогенезата на микроалбуминурията и ролята на инхибирането на ACE, самостоятелно или в комбинация с блокирането на бавните L-тип потенциал-зависими калциеви канали в профилактиката и лечението на микроалбуминурията и асоциираните сърдечно-съдови заболявания.
2. Участието на ET-1 и NP в патогенезата на микро- и макроалбуминурията и ролята на комбинираното инхибиране на ECE и NEP на фона на антагонизма на рецепторите на ангиотензин II в лечението на микро- и макроалбуминурията.

II. Нормоалбуминурия, кардиоваскуларен риск, инхибиране на ACE

При хипертензивни пациенти със ЗД-2 и нормоалбуминурия да се изследва:

1. Дали нормоалбуминурията прогнозира дългосрочен сърдечно-съдов риск.
2. Дали инхибирането на ACE при тези пациенти води до дългосрочна кардиопротекция.

ЗАДАЧИ

I. Диабетна нефропатия, профилактика и лечение

При хипертензивни пациенти със ЗД-2 да се изследва:

1. Ефекта на инхибитора на ACE трандолаприл, приложен самостоятелно или в комбинация с недихидропиридиновия калциев антагонист (ndCCB) верапамил, върху честотата на поява на микроалбуминурия.
2. Дали добавянето на ndCCB верапамил към ACE-инхибитора трандолаприл може:
    а) допълнително да забави прогресията на микроалбуминурията до макроалбуминурия
    б) да потенцира регресията на микроалбуминурията до нормоалбуминурия
    в) допълнително да ограничи сърдечно-съдовите заболявания
3. Ефектите на комбинирания ECE/NEP инхибитор, даглутрил, на фона на лосартан, върху микро- и макроалбуминурията, артериалното налягане, бъбречната функция и профила на безопасност.

II. Нормоалбуминурия, кардиоваскуларен риск, ACE-инхибитори

При хипертензивни пациенти със ЗД-2 и нормоалбуминурия да се изследва:

1. Има ли асоциация между нормоалбуминурията и дългосрочния сърдечно-съдов риск.
2. Ролята на рано започнатата терапия с ACE-инхибитора трандолаприл в дългосрочната кардиопротекция.

III. КОНТИНГЕНТИ И МЕТОДИКИ

Дисертационната разработка представя резултати от две лонгитудинални, рандомизирани, контролирани проучвания, от които едното (BENEDICT) е съставено от две фази (A и B) и от Удължено проучване на фаза A (Extension study).

3.1. BErgamo NEphrologic DIabetes Complications Trial (BENEDICT)

3.1.1. Контингенти

Изследвани са амбулаторни пациенти със ЗД-2 (n=1407), посещаващи Катедрата по Бъбречна медицина при Института за фармакологични изследвания Марио Негри, Вила Камоци, Раника и седем Отделения по Диабетология в Италия.

Критерии за подбор

- мъже и жени на възраст ≥40 години
- захрен диабет тип 2 с давност <25 години, критерии на СЗО
- артериална хипертензия, систолно и диастолно кръвно налягане (СКН/ДКН) ≥130/85 mmHg без антихипертензивна терапия или наличие на съпътстваща антихипертензивна терапия
- скорост на екскреция на албумина (AER):

  Фаза A <20 μg/min; Фаза B ≥20 ≤200 μg/min
- серумен креатинин <1.5 mg/dl (<133 □mol/L)
- гликолизиран хемоглобин (HbA_{1c}) <11%

Критерии за изключване

- недиабетни и съдови бъбречни заболявания; обструктивни уропатии
- остри ССЗ през последните 6 месеца
- хронична сърдечна недостатъчност (ХСН), III-IV клас по NYHA
- системни автоимунни заболявания
- малигнени заболявания
- алергия към ACE-инхибитори и ndCCBs
- противопоказания за спиране на ACE-инхибитор, ndCCB или ARB

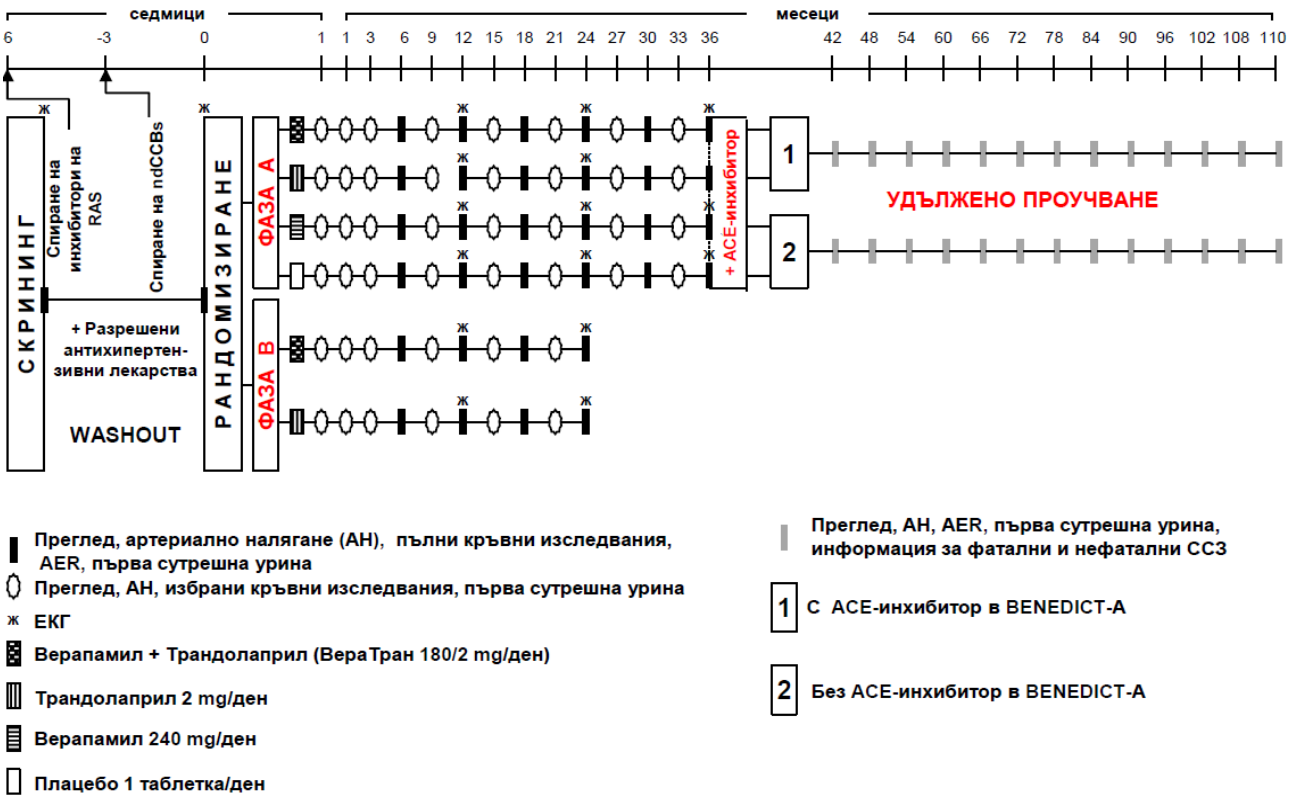
3.1.2. Дизайн на проучването

BENEDICT е многоцентрово, лонгитудинално, рандомизирано, двойно-сляпо с паралелни групи и две фази (A и B) клинично проучване, програмирано, координирано и мониторирано от Института за фармакологични изследвания Марио Негри (NCT00235014, държавен регистър на Италия за клинични проучвания).

Във фаза A (първична превенция) се изследва дали ACE-инхибиторът, трандолаприл, комбиниран с ndCCB верапамил или трандолаприл и верапамил, приложени самостоятелно, могат да намалят честотата на поява на микроалбуминурия (крайна точка, study end point) при хипертензивни пациенти със ЗД-2, нормоалбуминурия и нормална бъбречна функция, в сравнение с плацебо.

Във фаза B (вторична превенция) се изследва дали добавянето на ndCCB верапамил към ACE-инхибитора трандолаприл може допълнително да забави прогресията на микроалбуминурията до макроалбуминурия (основна цел), да потенцира регресията на микроалбуминурията до нормоалбуминурия и да ограничи ССЗ (вторични цели), при със ЗД-2, АХ, микроалбуминурия и нормална бъбречна функция.

Първоначално всяка терапия с RAS-инхибитори и ndCCBs се преустановява, съответно за 6 и 3 седмици, период на отмиване **(Фигура 1)**.



Фигура 1. Дизайн на проучването BENEDICT (фаза A, фаза B, Удължено проучване).

Пациентите, които отговарят на критериите за участие във фаза А се рандомизират да получават една от четирите терапии, най-малко за три години:

- ВераТран 180/2 mg/ден, фиксирана комбинация от верапамил 180 mg (лекарствена форма с удължено освобождаване) и трандолаприл 2 mg
- трандолаприл 2 mg/ден
- верапамил 240 mg/ден (лекарствена форма с удължено освобождаване)
- плацебо

Във фаза В участват пациенти с доказана микроалбуминурия в края на периода на отмиване и пациенти, които са развили микроалбуминурия по време на фаза А. Тук са предвидени две терапии най-малко за две години:

- ВераТран 180/2 mg/ден, фиксирана комбинация от верапамил 180 mg (лекарствена форма с удължено освобождаване) и трандолаприл 2 mg
- трандолаприл 2 mg/ден

Трандолаприл е избран като представител на дългодействащите липофилни АСЕ-инхибитори. Той осигурява трайно 24-часово понижение на АН и добро тъканно проникване. Верапамил е избран като представител на ndCCBs, за които има данни, че сигнификантно понижават албуминурията при пациенти със ЗД-2 и ДН, в сравнение с дихидропиридиновите калциеви антагонисти (dCCBs).

За постигане на таргетната стойност на АН 120/80 mmHg са разрешени:

- хидрохлоротиазид 25 mg/ден, фуроземид 50 mg/ден
- доксазозин 16 mg/ден, празозин 16 mg/ден, клонидин 0.6 mg/ден
- бета-блокери (разрешени по специфични показания, като исхемична болест на сърцето, но само при отсъствие на брадикардия или забавено атриовентрикуларно (AV) провеждане, потвърдено с електрокардиограма (ЕКГ))
- миноксидил 20 mg/ден или дългодействащи dCCBs

Не са разрешени калий-съхраняващи диуретици, RAS-инхибитори и ndCCBs.

Планът на прегледите и изследванията са означени на **Фигура 1**. Краят на проучването е дефиниран като моментът, в който последният рандомизиран пациент завършва тригодишния период на лечение (фаза А), двегодишния период на лечение (фаза В) и всеки път, когато някой пациент развива микроалбуминурия (фаза А) или макроалбуминурия (фаза В). Нежеланите реакции са кодирани с Терминологичната система за класификация на нежеланите реакции на Hoechst. Многократните съобщения за една и съща нежелана реакция се преброяват само веднъж като се взема предвид най-тежко протеклия случай.

Изследването е проведено в съгласие с Директивите на Европейското общество за “Добра Клинична Практика за Клинични Проучвания с Лекарствени Продукти в Европейския Съюз” (EEC) 91/507 и последващите им ревизии, Декларацията от Хелзинки и Законите и Разпоредбите за изследвания с лекарствени препарати в Италия. Всички пациенти дават писмено информирано съгласие за участие в проучването. Клиничният проект е одобрен от Комисията по Етика при Института за фармакологични изследвания Марио Негри, Италия и от Комисиите по Етика към всеки участващ клиничен център.

3.1.3. The BENEDICT-A Extension Study

3.1.3.1. Контингенти

Всички пациенти с нормоалбуминурия от фаза А, подписали информирано съгласие за участие в Удълженото проучване на проекта.

3.1.3.2. Дизайн на проучването

Изследва се наличието на асоциация между нормалните стойности на албуминурия и дългосрочния сърдечно-съдов риск, и ролята на рано започнатата терапия с АСЕ-инхибитор в дългосрочната кардиопротекция. На всички пациенти, завършили BENEDICT-A, се назначава АСЕ-инхибитор. Прегледите се извършват на всеки шест месеца. Основният резултат е появата на един от компонентите на комбинираната крайна точка (composite end point):

1. Фатален (включително внезапна смърт)

2. Нефатални основни ССЗ:

а) коронарни - остър инфаркт на миокарда, нестабилна ангина пекторис, коронарна реваскуларизация

б) мозъчносъдови – инсулт, преходна церебрална исхемична атака, каротидна реваскуларизация или ангиопластика

в) периферносъдови - артериална реваскуларизация или байпас, ампутация

г) хоспитализация поради ХСН

Проектът е одобрен от Комисията по Етика при Института за фармакологични изследвания Марио Негри, Италия и от Комисиите по Етика към всеки клиничен център, участващ в изследването.

3.2. Изследване ефикасността и профила на безопасност на даглутрил при пациенти със ЗД-2, диабетна нефропатия и артериална хипертензия

Рандомизирано, лонгитудинално, двойно-сляпо, плацебо-контролирано, cross-over (кръстосан експеримент), едноцентрово проучване, което изследва ефектите на

инхибитора на ECE и NEP даглутрил 300 mg/ден, върху AER, АН, бъбречната функция и профила на безопасност, в сравнение с плацебо на фона на лосартан 100 mg/ден, при пациенти със ЗД-2 и ДН (NCT00160225, държавен регистър на Италия за клинични проучвания).

3.2.1. Контингенти

Изследвани са амбулаторни пациенти със ЗД-2 (n=45), посещаващи Катедрата по Бъбречна медицина при Института за фармакологични изследвания Марио Негри, Вила Камоци, Раника.

Критерии за подбор

• мъже и жени на възраст ≥18 години

• захарен диабет тип 2

• СКН/ДКН <140/90 mmHg със съпътстваща антихипертензивна терапия

• 24-ч. AER ≥20 ≤1000 μg/min

• серумен креатинин <200 μmol/L

Критерии за изключване

• недиабетни бъбречни заболявания; съдови заболявания на бъбреците; обструктивни уропатии

• чернодробни заболявания

• остри ССЗ през последните 6 месеца

• ХСН III-IV клас по NYHA

• стеноза на митралната или аортната клапа

• хипертрофична кардиомиопатия

• системни автоимунни заболявания

• малигнени заболявания

• алергия към ARB

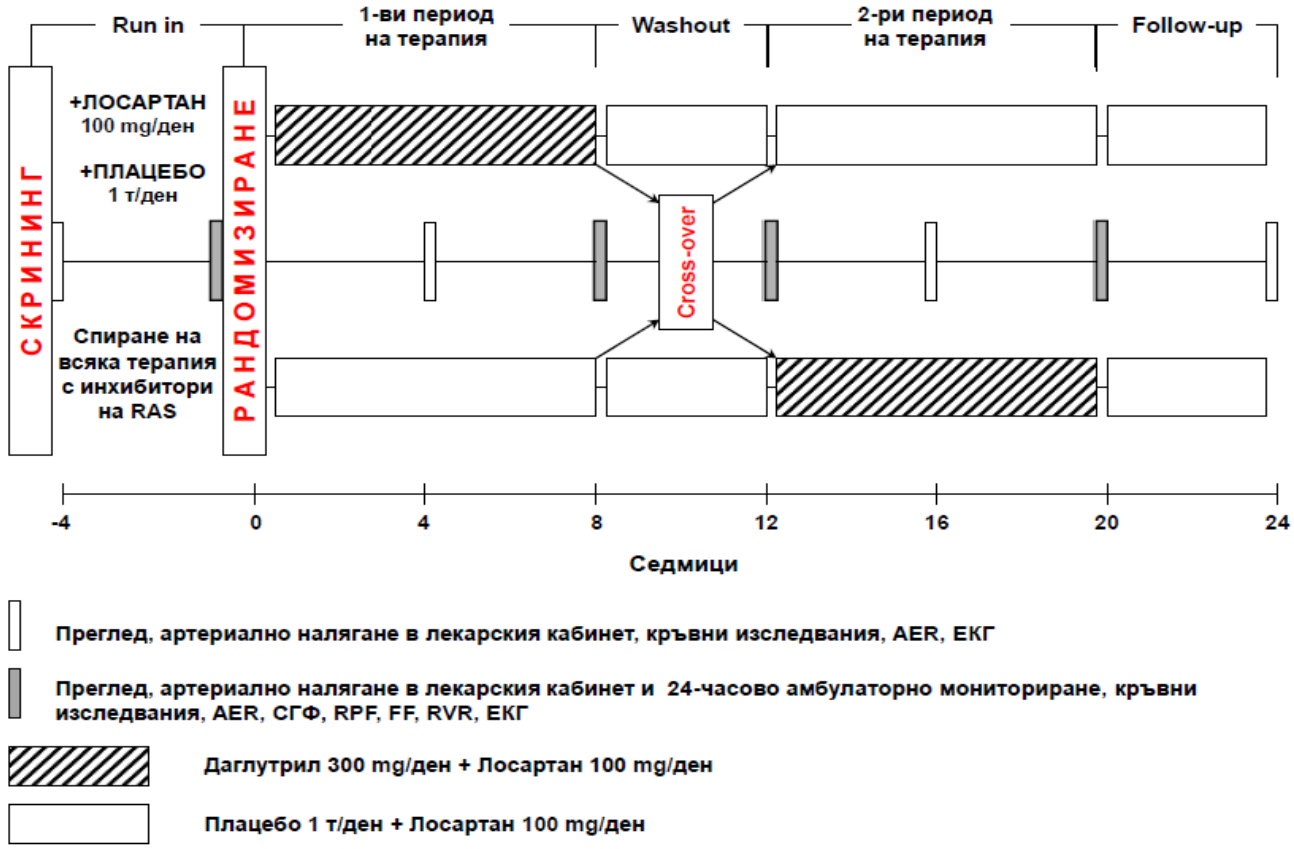
• прием на хормонална контрацептивна терапия

• клинични противопоказания за прекъсване на терапия с ACE-инхибитор

3.2.2. Дизайн на проучването, изпитван лекарствен продукт

Изследва се ефекта на даглутрил върху 24-ч. AER (първична крайна точка), АН и бъбречната функция при пациенти със ЗД-2, АХ и ДН **(Фигура 2)**. Първоначално терапията с RAS-инхибитори се спира и се назначават лосартан 100 mg/ден и плацебо. Следва 4-седмичен единично-сляп Run-in период (пациентите не са информирани за лекрството (плацебо), което получават). Пациентите, които отговарят на критериите за участие се рандомизират централно чрез компютърна

програма, изготвена от Clinical Supplies Department of Solvay Pharmaceuticals, Weesp, Netherlands, която ги разделя на две групи на случаен принцип (1:1) и проучването става двойно-сляпо. Едната група приема даглутрил 300 mg/ден, а другата плацебо за 8 седмици. Следва 4-седмичен период на отмиване на ефекта от терапията, който е съобразен с плазмения полуживот на даглутрил $t_{1/2}$ = 2-4 часа.



Фигура 2. Дизайн на проучването, изследващо ефектите на даглутрил.

Това отхвърля възможното наслагване на ефектите на изследваните лекарства (carry-over). През вторият 8-седмичен период лекарствата на двете групи пациенти се разменят (cross-over). След това приемът на експерименталното лекарство се спира и пациентите продължават терапия само с лосартан 100 mg/ден за още 4 седмици (follow-up). Извършените изследвания са обозначени на **Фигура 2**.

Проучването е проведено в съгласие с Директивите за клинични изследвания на Европейския съюз (2001/20/EC), Нормите за Добра Клинична Практика и Декларацията от Хелзинки. Пациентите дават писмено информирано съгласие за участие в проучването. Проектът е одобрен от Комисията по Етика при Института за фармакологични изследвания Марио Негри, Италия и от Комисията по Етика към Специализираната Агенция по Здравеопазването, Бергамо.

Използваната таблетна форма даглутрил-6 съдържа 300 mg SLV306. Дозата е препоръчана от производителя въз основа на факта, че след прием на еднократна

доза даглутрил 300 mg от здрави доброволци, максималната плазмена концентрация на активния метаболит KC12615 и площта под кривата са сравними с тези, получени при прилагането на даглутрил-5, съдържащ 400 mg SLV306, който демонстрира най-голям антихипертензивен ефект при пациенти с АХ и ХСН.

3.3. Клинични и лабораторни методи

3.3.1. Измерване на гломерулна филтрационна скорост и други основни показатели на бъбречната функция.

Скоростта на гломерулна филтрация (СГФ) се измерва чрез определяне плазмения клирънс на рентгеноконтрастното вещество йохексол (Omnipaque 300; Nycomed Amershan Sorin, Milano, Italy). Пет ml разтвор на йохексол (647 mg/ml) се инжектират венозно за 2 минути (болус). На 120-та, 150-та, 180-та, 210-та и 240-тата минута се вземат по 5 ml кръв. Пробите се центрофугират (3000 min^{-1}/10 min), плазмата се отделя и се съхранява при -20°. Плазмената концентрация на йохексола се определя чрез HPLC метод (Beckman System Gold Chromatograph, Italy), а неговият клирънс се изчислява, в съответствие с еднокомпартментен модел на разпределение, с формулата:

CL_1 = D / AUC, където CL_1 – клирънс, D – доза на йохексола (3.235 g), AUC – площ под кривата на плазмената концентрация на йохексола.

Плазменият клирънс на йохексола (СГФ) се изчислява с формулата:

СГФ (ml/min) = 0.990778 x CL_1 – 0.001218 x CL_1^2

Получената стойност за СГФ се нормализира според телесната повърхност:

BSA = 0.024265 x $kg^{0,5378}$ x $h^{0.3964}$, където BSA - телесна повърхност (m^2),

h - височина (m) и СГФ (ml/min/1.73m^2)

Реналният плазмен ток (RPF) се измерва чрез определяне плазмения клирънс на парааминохипуровата киселина (Iacopo Monico, Mestre, Italy). Филтрационната фракция (FF) и бъбречното съдово съпротивление (RVR) се изчисляват съответно с формулите:

FF = СГФ / RPF

RVR = САН / RPF, където САН - средно артериално налягане

САН = ДКН + (СКН - ДКН)/3

Фракционираните клирънси на албумина и IgG се изчисляват чрез коригиране на техните клирънси, получени при измерването на СГФ.

3.3.2. Измерване на скорост на екскреция на албумина

Скоростта на екскреция на албумина се определя в три последователни нощни или 24-часови колекции на урина. Концентрацията на албумина в урината се определя чрез специфичен чувствителен нефелометричен метод (Array 360 System, Beckman, Milano, Italy). AER се изчислява по формулата:

AER = [CU_{alb}xV]:Duration, където CU_{alb} - концентрацията на албумина в урината (μg/min), V – обем на събраната урина (ml), Duration – времетраене на колекцията (min)

AER трябва да бъде еднаква в две от трите колекции на урина, за да може да бъде класифицирана като: нормоалбуминурия <20.00 μg/min; микроалбуминурия ≥20.00 μg/min <200.00 μg/min; макроалбуминурия ≥200.00 μg/min.

3.3.3. Измерване на артериално налягане

3.3.3.1. В лекарския кабинет

Артериалното налягане се измерва сутрин на гладно, между 7.00-10.00 ч., преди приемането на следващата доза антихипертензивно лекарство, след 10 минутен покой, в седнало положение, със сфигмоманометър, 3 пъти през интервал от 2 минути. В проучването, изследващо ефектите на даглутрил се използва полуавтоматичен електронен апарат Omron HEM-705CP (Tokyo, Japan). След първото измерване се изчакват 10 минути и се извършват още 3 измервания през 2 минути. Апаратът е свързан с принтер. Четирите измерени стойности и съответният час на регистрация се принтират и се прилагат в клиничното досие на пациента. В анализите участват средните аритметични стойности на СКН, ДКН, САН, пулсовото налягане (СКН - ДКН) и сърдечната честота на последните 3 измервания.

3.3.3.2. Амбулаторно 24-часово мониториране на артериално налягане

В проучването с даглутрил, амбулаторното 24-часово АН е мониторирано в началото и края на всеки период на терапия със Spacelabs equipment (Redmont, Washington, USA), програмиран да извършва измервания през 15 минути в дневния период (06.00-22.00) и през 30 минути в нощния период (22.00-06.00). Критерии за валидност на записа: 52 регистрирани стойности през деня, 2 - за всеки час от деня; 12 стойности през нощта, 1 - за всеки час от нощта. При непокриване на критериите записът се счита за невалиден и пациентът трябва да повтори изследването.

3.3.4. Други биохимични измервания:

С автоматичен анализатор Beckman Synchron CX5 (Milano, Italy) се извършва измерването на серумните концентрации на креатинин, тотален холестерол, високо-

плътностни (HDL) и ниско-плътностни (LDL) липопротеини, триглицериди (mg/dl; mmol/l). С HPLC метод (Beckman System Gold Chromatograph, Milano, Italy) се определя HbA_{1c} (%), референтни лабораторни граници: 3.53- 5.21%.

3.3.5. Определяне размера на извадките

3.3.5.1. BENEDICT-A

Мярка за ефективността на приложената терапия е времето за поява на трайна микроалбуминурия. Приемайки, че за три години честота на поява на микроалбуминурия в групата плацебо е 9.5%, а в групата ВераТран е 3.1%, е изчислено, че във всяка от четирите групи трябва да се включат по 225 пациенти, при което проучването ще има 80% мощност за да установи очакваната разлика, при използването на двустранен тест с 5% грешка от първи тип. Предвиждайки евентуално оттегляне на пациентите, е планирано във всяка от четирите групи да бъдат включени по 300 пациенти.

3.3.5.2. Удължено проучване на BENEDICT (BENEDICT Extension study)

Това е обсервационно проучване, обхващащо всички пациенти, които подписват информирано съгласие след завършване на BENEDICT-A.

3.3.5.3. BENEDICT-B

Първоначално е планирано в BENEDICT-B да бъдат включени освен пациентите, които развиват микроалбуминурия по време на BENEDICT-A, също и всички пациенти с доказана микроалбуминурия при скринирането, като това да продължи до завършването на BENEDICT-A. Публикуването на резултатите от проучването IRbesartan in Patients with Type 2 Diabetes and MicroAlbuminuria (IRMA-2), дава възможност размерът на извадката за BENEDICT-B да бъде изчислен въз основа на честотата на поява на макроалбуминурия в двете групи, получаващи ирбесартан 150 и 300 mg/ден (средно 14.5% за период >2 години). Приемайки подобна честота е прогнозирано, че 29% от пациентите, които получават само трандолаприл ще прогресират до макроалбуминурия за follow-up период >4 години. Въз основа на данните, че тази честота може да бъде намалена с 50% при добавянето на верапамил към трандолаприл е изчислено, че включването по 131 пациенти в двете групи ще осигури 80% мощност за откриване намаляване на честотата на поява на макроалбуминурия от 29% до 14.5% за период на проследяване >4 години (α=0.05, двустранен тест, log-rank тест). Предвиждайки вероятността за евентуално оттегляне е планирано включването по 140 пациенти във всяка група.

3.3.5.4. Изследване ефикасността и профила на безопасност на даглутрил при пациенти със ЗД-2, ДН и АХ

Размерът на извадката е определен въз основа на разликата между log AER на групите, получаващи плацебо и даглутрил (сдвоен t-тест), изчислена като 5-20 μg/min (SD 1-12), на базата на данни от пациенти, посещаващи центъра за клинични изследвания. За установяване на 40% разлика между ефектите на даглутрил и плацебо (α=0.05, 80% мощност) е необходимо да се включат по 40 пациенти в група.

Въз основа на данни от амбулаторно мониторирано 24-часово АН на пациенти в клиничния център, се очаква средното 24-часово СКН преди започване на терапията да бъде 135 mmHg (SD 10). Изчислено е, че 40 пациенти ще са достатъчни за откриване на разлика от 5 mmHg (130 *vs* 135 mmHg) в 24-часовото СКН между групите с даглутрил и плацебо, с ниво на значимост α=0.05 и 86% мощност.

3.4.9. Методи за статистически анализ

Проведени са следните статистически анализи:

Дескриптивен анализ

Вариационен анализ

Алтернативен анализ

Корелационен анализ

Регресионни анализи

Дисперсионен анализ ANOVA

Repeated measures ANOVA

Цензурирани данни за времето на събитието (interval-censored data)

Accelerated failure-time model

Криви на Kaplan-Meier

Регресия на Кокс (Cox Regression, Cox proportional hazard model)

Авторегресионен модел

Imputation missing values

Модифициран intention-to-treat анализ

Неравенство на Бонферони

Графичен анализ

За установяване на статистическа зависимост, представена в табличен вид, са използвани следните критерии:

Т-тест на Student

Непараметричен тест на Wilcoxon

Точен критерий на Фишер (Fisher's exact test) и тест $\chi 2$

Kruscal-Wallis test

Тест на Kolmogorov-Smirnov

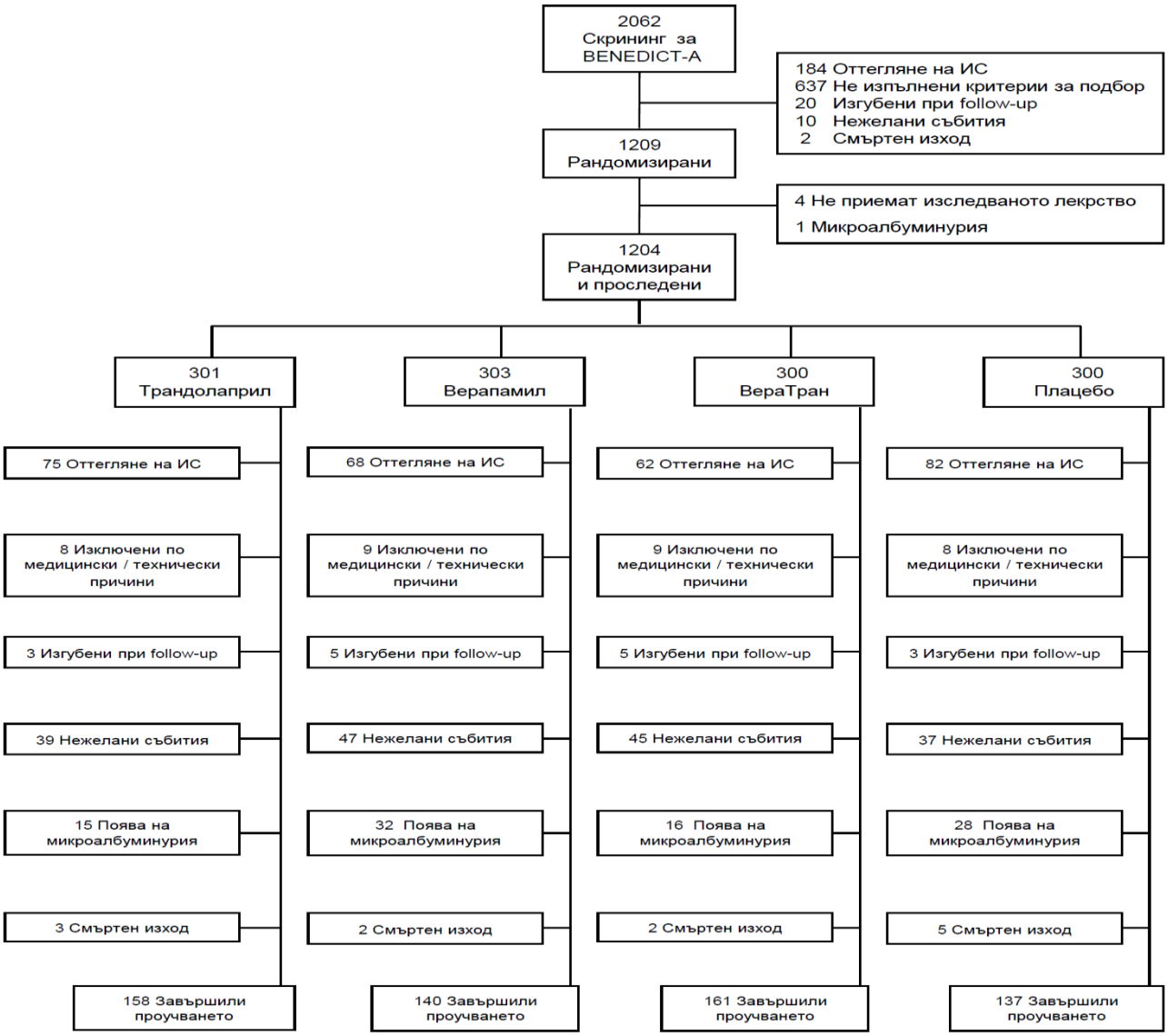
Тест на Shapiro-Wilk

Нивото на значимост на нулевата хипотеза е възприето като $p<0.05$. Всички изчисления и анализи са извършени с помощта на стандартен статистически и графичен софтуер SAS (версия 8.0, версия 9.1), SPSS (Inc., Chicago, IL, версия 17.0.1), STATA (версия 11.0, версия 12), MS Excel.

Изследователският екип изказва благодарност на Мария Ганева, Никола Мотерлини (посмъртно), д-р Естебан Порини PhD, D.Sc., Аннализа Перна, завеждащ катедра Биостатистика към Института за фармакологични изследвания Марио Негри, Раника, Италия, за статистическата обработка на данните от тези проучвания.

IV. РЕЗУЛТАТИ

4.1. Изследване ефекта на ACE-инхибира трандолаприл, приложен самостоятелно или в комбинация с ndCCB верапамил, върху честотата на поява на микроалбуминурия при хипертензивни пациенти със ЗД-2 и нормоалбуминрия



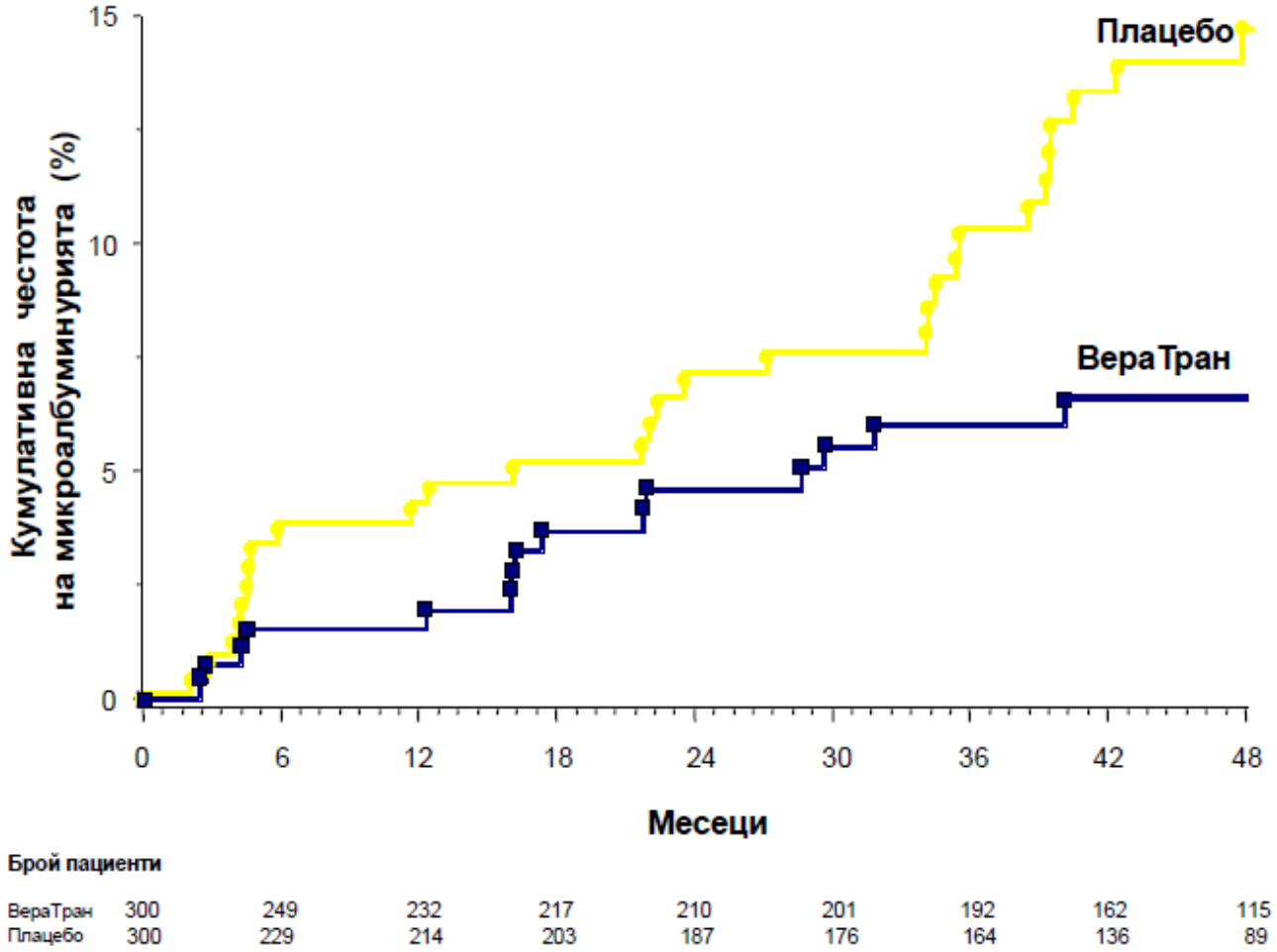
Фигура 3. Профил на проучването BENEDICT-A.

Общо 1209 хипертензивни пациенти със ЗД-2 и нормоалбуминурия бяха рандомизирани да получават една от четирите терапии: ВераТран 180/2 mg/ден, трандолаприл 2 mg/ден, верапамил 240 mg/ден и плацебо 1 таблетка/ден. От тях 1204 пациенти бяха проследени средно за 3.6 години (IQR, минимум–максимум интервал 1.3-4.3) **(Фигура 3).**

Изходните демографски, клинични, лабораторни характеристики, приложените терапии и периодът на проследяване на пациентите от четирите групи бяха подобни.

Комбинацията ВераТран сравненена с плацебо

Трайна микроалбуминурия се появи при 17 от 300 пациенти (5.7%), получаващи ВераТран и при 30 от 300 пациенти (10.0%), получаващи плацебо. Кривите на Kaplan-Meier за двете групи видимо се разделиха 3 месеца след започване на терапията **(Фигура 4)**. При контролиране на променливите в изходното ниво, ускоряващият фактор бе 0.39 (95% CI, 0.19-0.80; P=0.01) в групата ВераТран, сравнена с плацебо. Комбинираната терапия ВераТран забави появата на микроалбуминурия с фактор 2.6. След коригиране за влиянието на СКН и ДКН върху

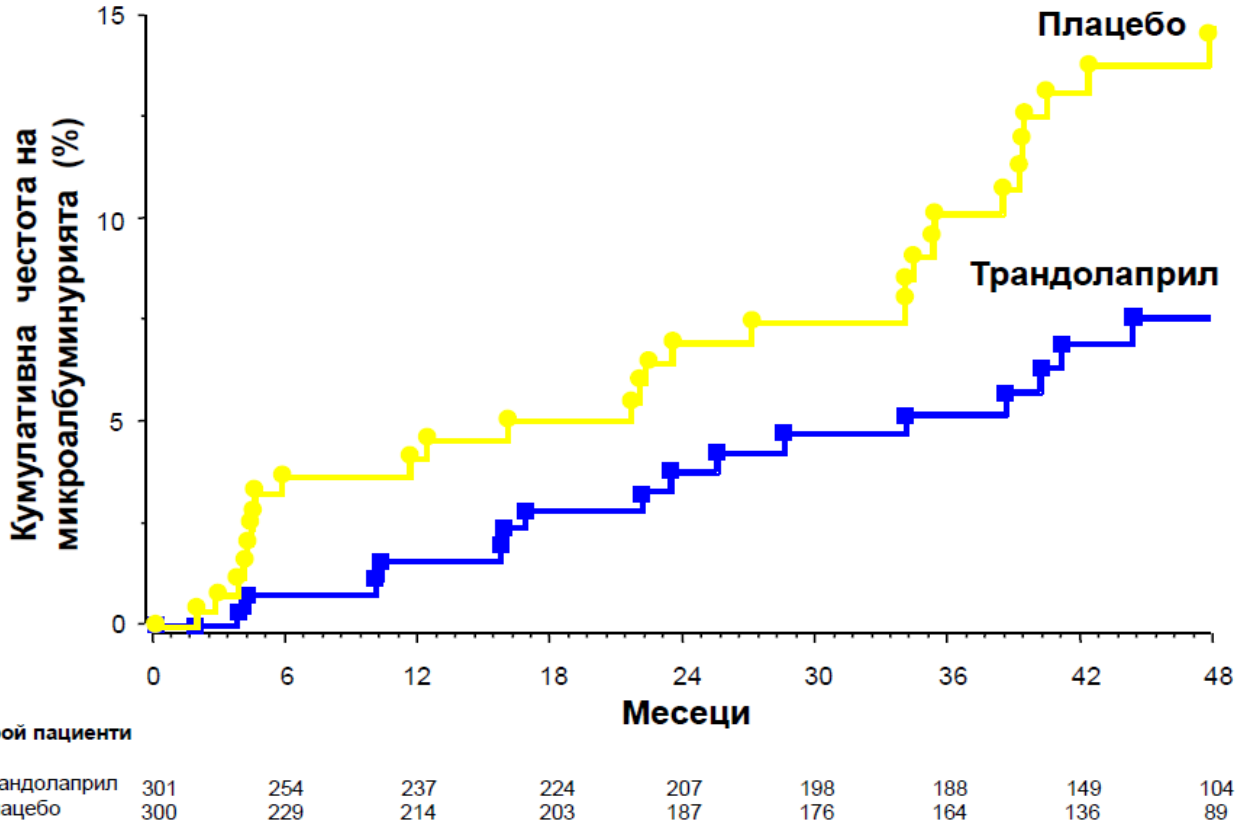


Фигура 4. Криви на Kaplan-Meier за процента на пациентите, развили микроалбуминурия в групите с ВераТран и плацебо. Разликата между групите, коригирана за определени променливи на изходното ниво, беше значима (P=0.01) съгласно accelerated failure-time model.

появата на микроалбуминурия, при проследяването на пациентите, получихме ускоряващ фактор, съответно за СКН от 0.46 (95% CI, 0.22-0.93; P=0.03) и 0.46 за ДКН (95% CI, 0.22-0.95; P=0.04).

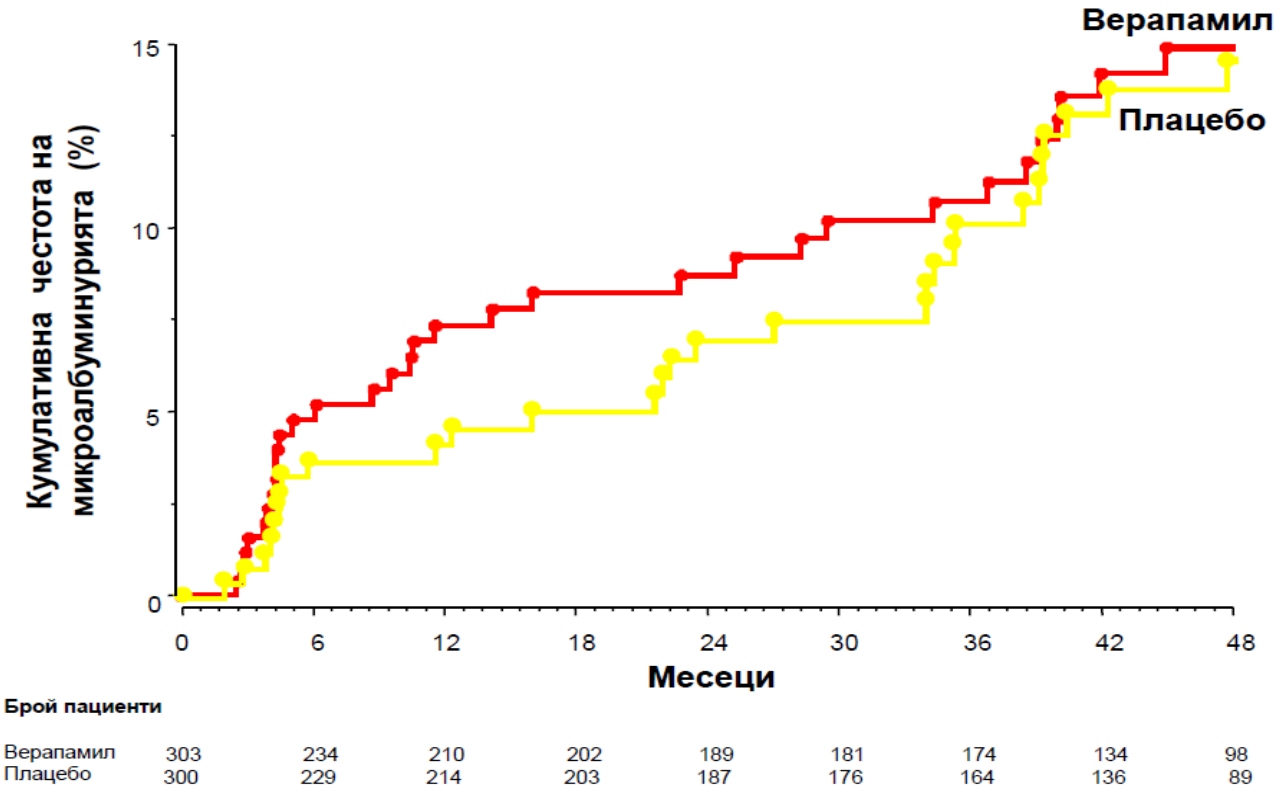
Трандолаприл и верапамил, приложени самостоятелно и сравнени с плацебо

Трайна микроалбуминурия се появи при 18 от 301 пациенти, получаващи трандолаприл (6.0%) и при 36 от общо 303 пациенти, получаващи верапамил (11.9%). Кривите на Kaplan-Meier за групите с трандолаприл и верапамил, сравнени с плацебо, видимо се разделиха три месеца след започване на терапията, но докато в групата с трандолаприл разделянето продължи и при проследяването на пациентите, то в групата с верапамил разделянето изчезна след 3-та година **(Фигура 5, Фигура 6)**. При контролиране на променливите в изходното ниво, полученият ускоряващ фактор за трандолаприл, сравнен с плацебо, беше 0.47 (95% CI, 0.26-0.83; P=0.01). Терапията с трандолаприл забави статистически значимо появата на микроалбуминурия с фактор 2.1. След коригиране за влиянието на СКН и



Фигура 5. Криви на Kaplan-Meier за процента на пациентите, развили микроалбуминурия в групите с трандолаприл и плацебо. Разликата между групите, коригирана за определени променливи на изходното ниво, беше значима (P=0.01) съгласно accelerated failure-time model.

ДКН върху появата на микроалбуминурия, измерени при проследяването на пациентите, получихме ускоряващ фактор 0.50 за СКН (95% CI, 0.28-0.90; P=0.02) и 0.52 за ДКН (95% CI, 0.30-0.92; P=0.03). При контролиране на променливите в изходното ниво, полученият ускоряващ фактор, в групата верапамил сравнена с плацебо, бе 0.83 (95% CI, 0.45-1.51; P=0.54).



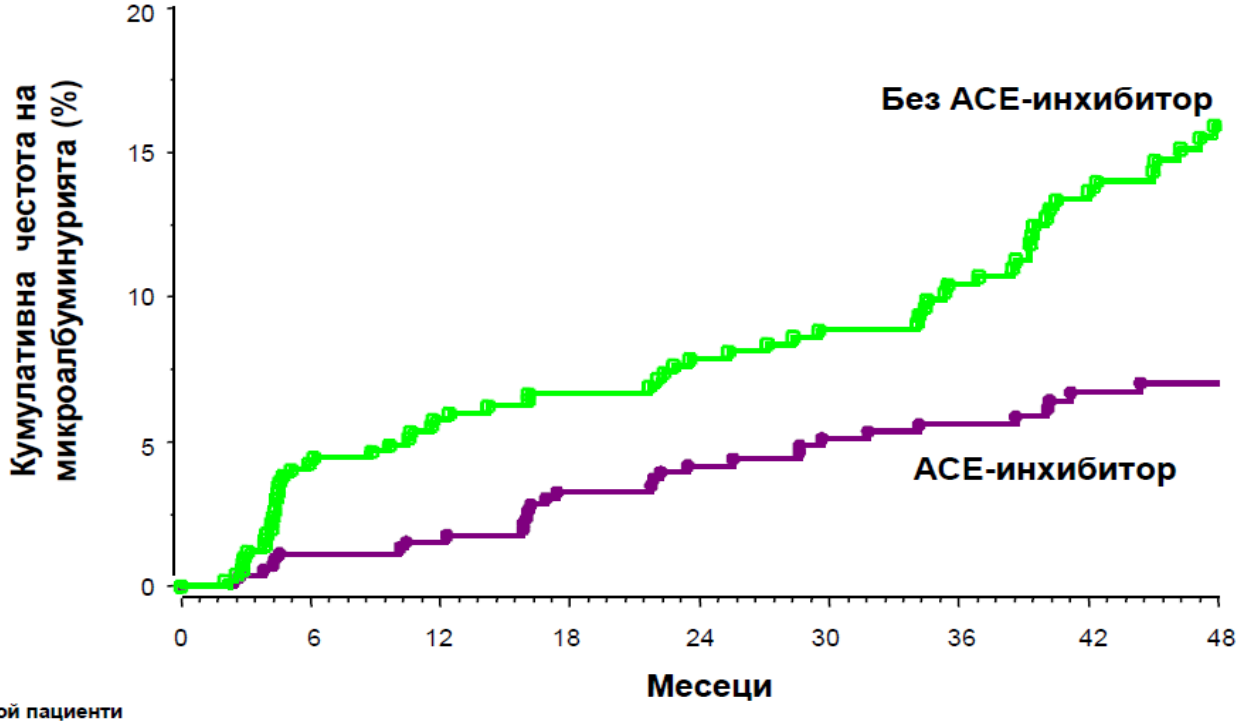
Фигура 6. Криви на Kaplan-Meier за процента на пациентите, развили микроалбуминурия в групите с верапамил и плацебо. Разликата между двете групи не беше значима (P=0.54).

Без корекция за изходните променливи, ускоряващият фактор бе 1.34 (95% CI, 0.67-2.68; P=0.41). Верапамил не забави появата на микроалбуминурия дори и при контролиране за ролята на СКН и ДКН, при проследяването на пациентите. Комбинираната терапия ВераТран или трандолаприл, приложен самостоятелно, забавиха появата на микроалбуминурия в сравнение с верапамил. При контролиране на променливите в изходното ниво, полученият ускоряващ фактор бе съответно 0.40 (95% CI, 0.19-0.85; P=0.02) и 0.53 (95% CI, 0.29-0.96; P=0.04).

Инхибиране на ACE или блокиране на бавните L-тип потенциал-зависими калциеви канали с ndCCB

Общо 601 пациенти приемаха трандолаприл, самостоятелно или комбиниран с верапамил (603 бяха без ACE-инхибитор); 603 пациенти приемаха верапамил, самостоятелно или комбиниран с трандолаприл (601 бяха без ndCCB). Трайна микроалбуминурия се появи при 35 от 601 пациенти с ACE-инхибитор (5.8%) и при 66 от 603 пациенти без ACE-инхибитор (10.9%). Кривите на Kaplan-Meier, за групите с или без ACE-инхибитор, се разделиха 3 месеца след започване на терапията, като разделянето се задържа при проследяването на пациентите **(Фигура 7)**. При контролиране на променливите в изходното ниво, ускоряващият фактор бе 0.44

(95% CI, 0.27-0.70; P<0.001) при пациентите с ACE-инхибитор в сравнение с тези без ACE-инхибитор.



Брой пациенти

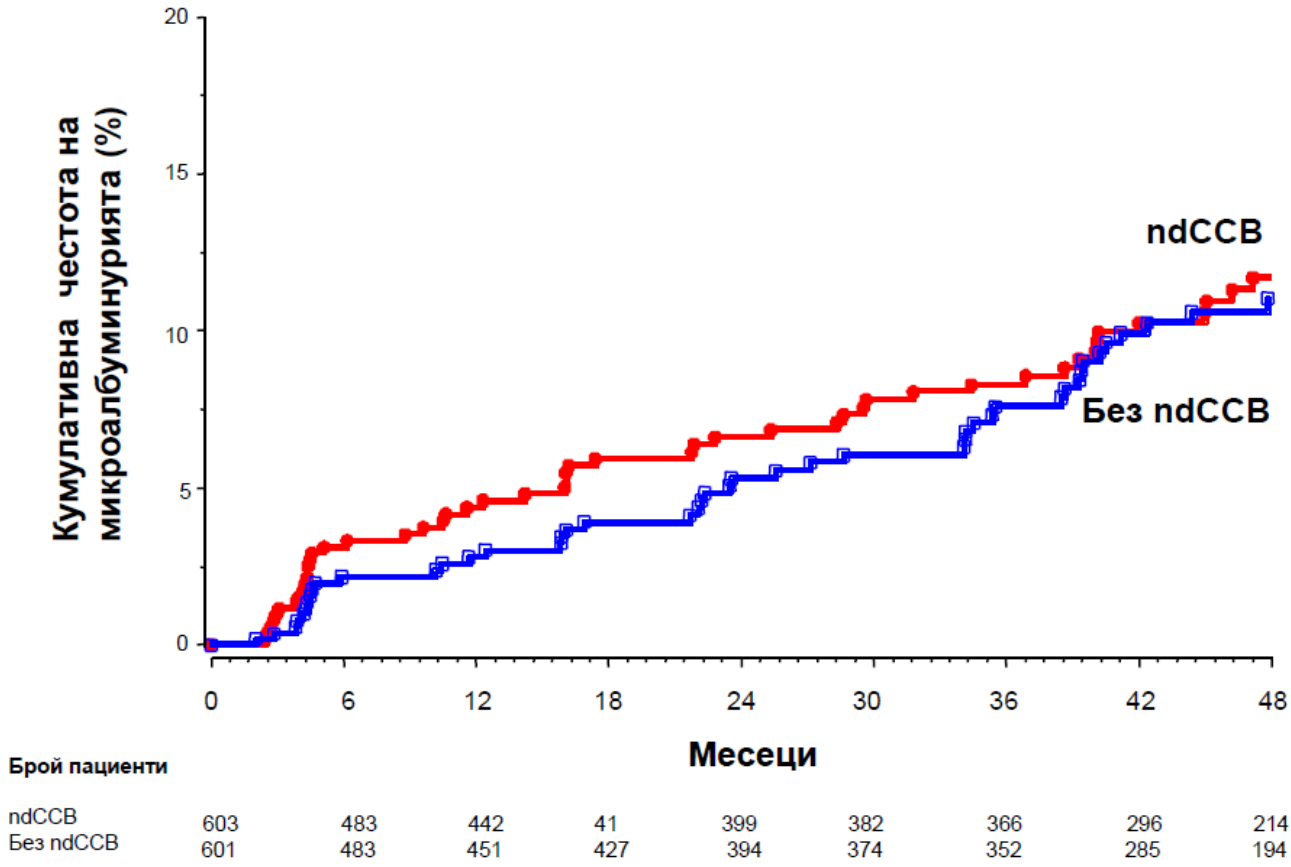
ACE-инхибитор	601	503	469	441	417	399	380	311	220
Без ACE-инхибитор	603	463	424	405	376	357	338	270	188

Фигура 7. Криви на Kaplan-Meier за процента на пациентите, развили микроалбуминурия в групите с или без ACE-инхибитор. Разликата между групите, коригирана за определени променливи на изходното ниво беше значима (P=0.001) съгласно accelerated failure-time model.

ACE-инхибиторът забави значимо появата на микроалбуминурия с фактор 2.3. След коригиране за влиянието на СКН и ДКН върху появата на микроалбуминурия при проследяването на пациентите, получихме ускоряващ фактор 0.51 за СКН (95% CI, 0.32-0.81; P=0.005) и 0.50 за ДКН (95% CI, 0.32-0.79; P=0.003). Трайна микроалбуминурия се появи при 53 от 603 пациенти (8.8%), с ndCCB и при 48 от 601 пациенти (8.0%) без ndCCB. Терапията с верапамил не забави появата на микроалбуминурия, дори след контролиране за изходните променливи и за СКН и ДКН при проследяването на пациентите **(Фигура 8)**.

Други резултати

Сравняването на СКН, ДКН и САН по време на проучването, показа статистически значима разлика (P≤0.002) между групите ВераТран и плацебо, и трандолаприл и плацебо, докато разликите между групите верапамил и плацебо не бяха значими. Във всички групи нивото на кръвната захар, липидния профил и СГФ бяха подобни при проследяването (данните не са показани).

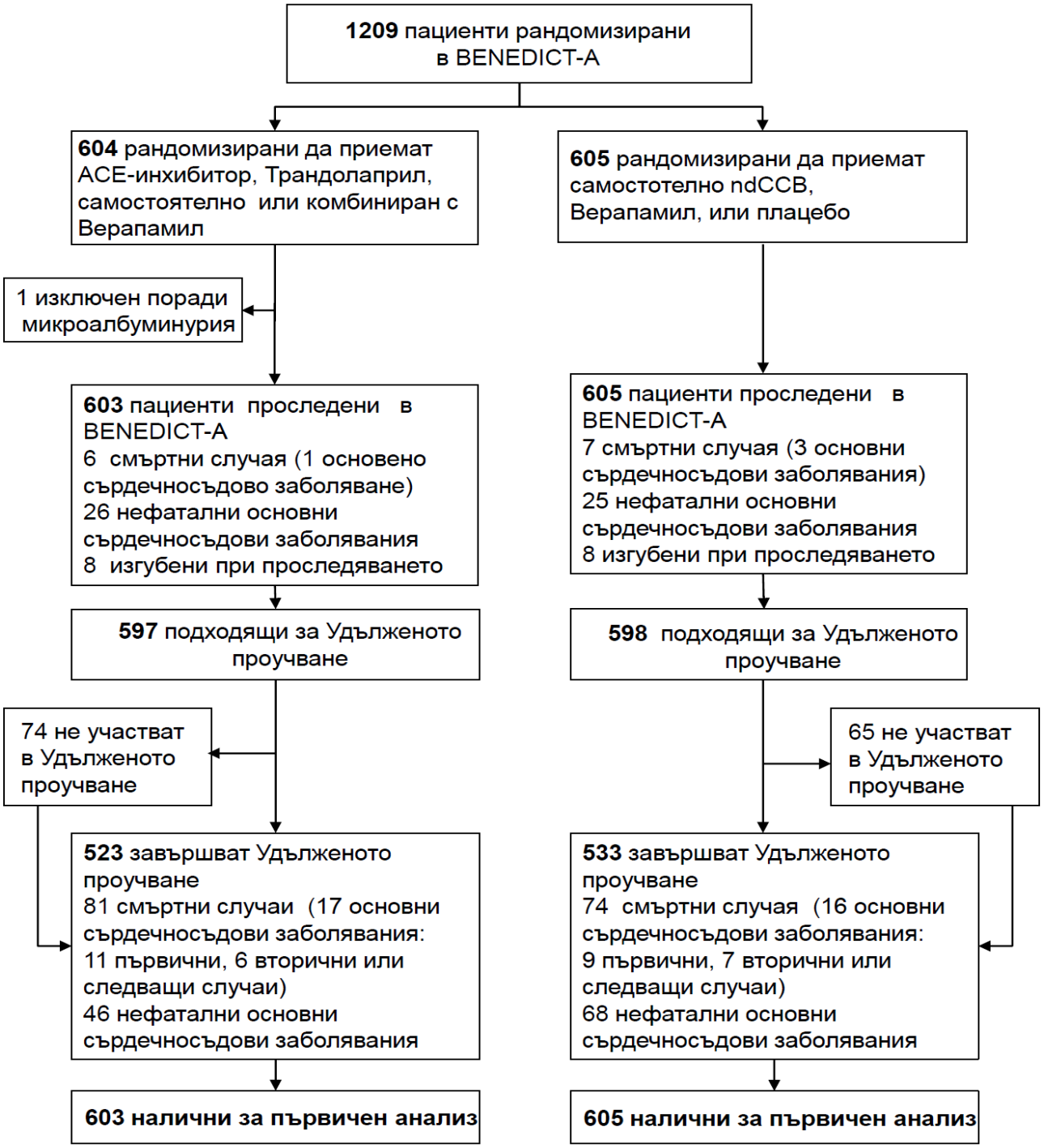


Фигура 8. Криви на Kaplan-Meier за процента на пациентите, развили микроалбуминурия в групите с или без ndCCB. Разликата между групите, коригирана за определени променливи на изходното ниво, не беше значима (P=0.92) съгласно accelerated failure-time model.

Нежелани усложнения

Общо 297 пациенти имаха поне едно сериозно нежелано усложнение в периода между приемането на първата доза от изследваното лекарство и две седмици след прекратяване на терапията. По време на проучването починаха 12 пациенти, а 1 пациент от групата трандолаприл почина от колоректален аденокарцином на 14 ден след завършване на проучването. От ССЗ починаха един пациент получаващ трандолаприл, един - верапамил и 3 - плацебо. Честотата на нефаталните сериозни усложнения беше подобна, съответно 22.3%, 26.6%, 22.1%, 23.3% в групите ВераТран, трандолаприл, верапамил и плацебо. Не се различаваха и нефаталните ССЗ, съответно 3.7%, 4.0%, 4.3%, 4.0% в групите ВераТран, трандолаприл, верапамил и плацебо. При един пациент получаващ ВераТран се появи I степен атриовентрикуларен (AV) блок, при един пациент получаващ верапамил се появи II степен AV блок. Появата на суха кашлица доведе до прекратяване на терапията при 5 пациенти в групата ВераТран, 4 в групата трандолаприл и 2 в групата плацебо.

4.2. Изследване наличието на асоциация между нормоалбуминурия и дългосрочния сърдечно-съдов риск и ролята на рано започнатата терапия с АСЕ-инхибитор в дългосрочната кардиопротекция при пациенти със ЗД-2, нормоалбуминурия и АХ, рандомизирани в BENEDICT-A



Фигура 9. Профил на Удълженото проучване на BENEDICT-A.

От общо 1208 пациенти, рандомизирани в BENEDICT-A, 1069 (87.4%) пациенти бяха проследени в Удълженото проучване за средно 9.12 години (IQR, минимум–максимум интервал 6.16-9.86) **(Фигура 9)**. На изходното ниво медианата на AER беше 5.24 μg/min (обхват 0.44-19.85 μg/min).

Първична комбинирана крайна точка (Primary composite end point)

От 1208 пациенти, при 189 (15.6%) настъпиха усложнения от primary composite end point. От тях фатални бяха 24 (12.7%), 3 се дължаха на внезапна сърдечна смърт (1.6%). Нефаталните ССЗ бяха съответно: коронарни 105 (55.6%), цереброваскуларни 39 (20.6%), периферно-съдови 31 (16.4%) и хоспитализация поради ХСН 11 (5.8%) **(Таблица 1)**.

Таблица 1. Пациенти с новопоявили се фатални и нефатални основни сърдечно-съдови заболявания (първична комбинирана крайна точка).

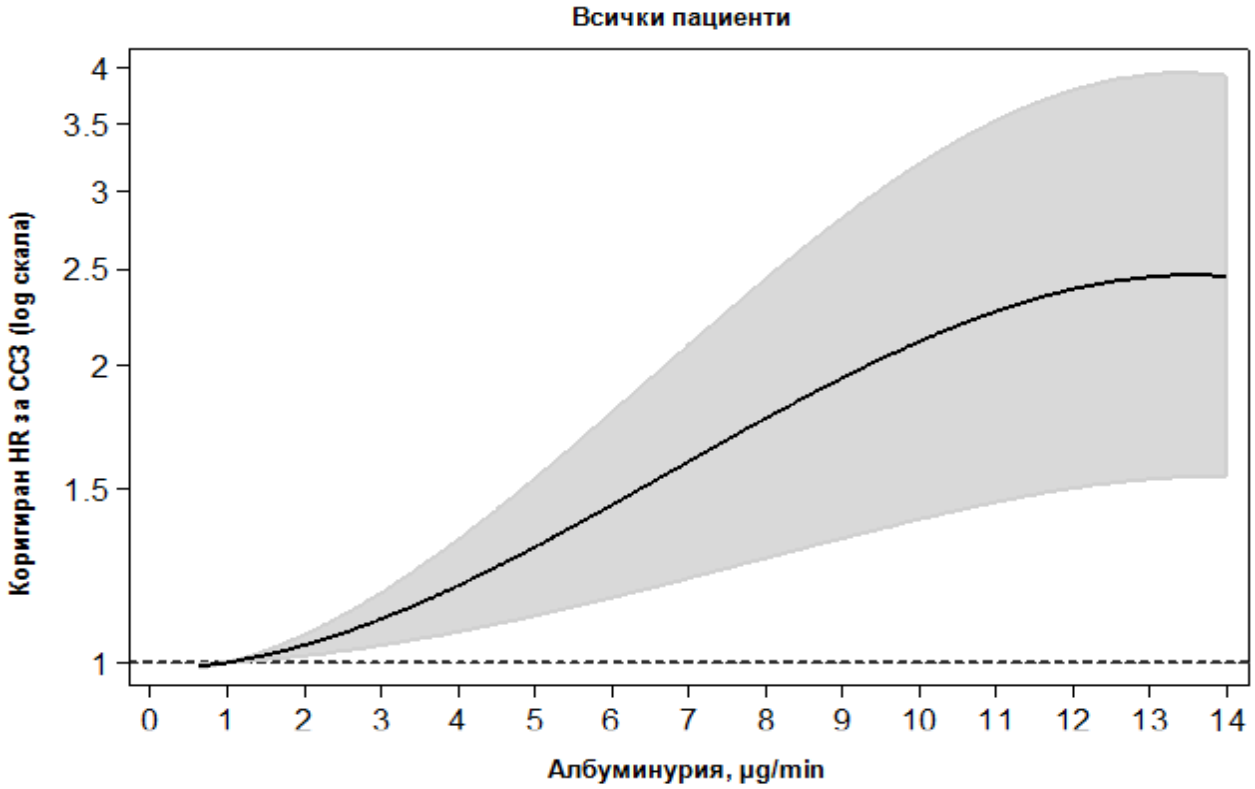
Сърдечно-съдови заболявания	Пациенти (n)
Коронарно сърдечно заболяване (n=105)	
Нестабилна ангина пекторис	14
Нестабилна ангина пекторис + стентиране/реваскуларизация	40
Остър инфаркт на миокарда	46
Остър инфаркт на миокарда + стентиране/реваскуларизация	5
Хронична сърдечна недостатъчност	11
Инсулт или преходна церебрална исхемична атака (n=39)	
Инсулт	24
Преходна церебрална исхемична атака	15
Внезапна смърт	3
Периферно съдово заболяване (n=31)	
Тежка каротидна обструкция	5
Тежка каротидна обструкция + стентиране или ангиопластика	8
Тежка периферна обструкция	8
Тежка периферна обструкция + стентиране или байпас	10
Общо	189

Петдесет и пет ССЗ (4 фатални), настъпиха по време на BENEDICT-A и 133 (20 фатални) по време на Удълженото проследяване. Пациентите, които достигнаха до крайната точка бяха по-възрастни, по-често от мъжки пол, имаха по-висока честота на ССЗ на изходното ниво, по-високи стойности на AER, серумен креатинин, HbA_{1c}, LDL/HDL, в сравнение с пациентите без ССЗ.

Характеристики на изходното ниво и сърдечно-съдов риск

Еднофакторният регресионен анализ на рисковете на Cox показа, че напредналата възраст, мъжкият пол, по-голямата давност на диабета, предишни ССЗ, по-високите нива на креатинин, AER и съотношението LDL/HDL са значими и са асоциирани с новопоявилите се ССЗ. Многофакторният анализ потвърди, че AER е значима и е асоциирана с риска от ССЗ, HR (hazard ratio, кумулативен коефициент на риска) 1.06; 95% CI, 1.02-1.08. Всяко повишаване на AER на изходното ниво с 1 µg/min повишава с 6% риска от поява на ССЗ. Други предиктори на кардиоваскуларния риск бяха напредналата възраст, мъжкият пол, предишни ССЗ, по-високите нива на HbA_{1c} и LDL/HDL. Многофакторният анализ с втора степен на

полиноминална трансформация на AER описа асоциацията между AER и ССЗ с по-ниско отклонение, в сравнение с анализа с логаритмична трансформация на AER (931.32 *vs* 934.27, съответно) и демонстрира нейния непрекъснат нелинеен характер **(Фигура 10)**.



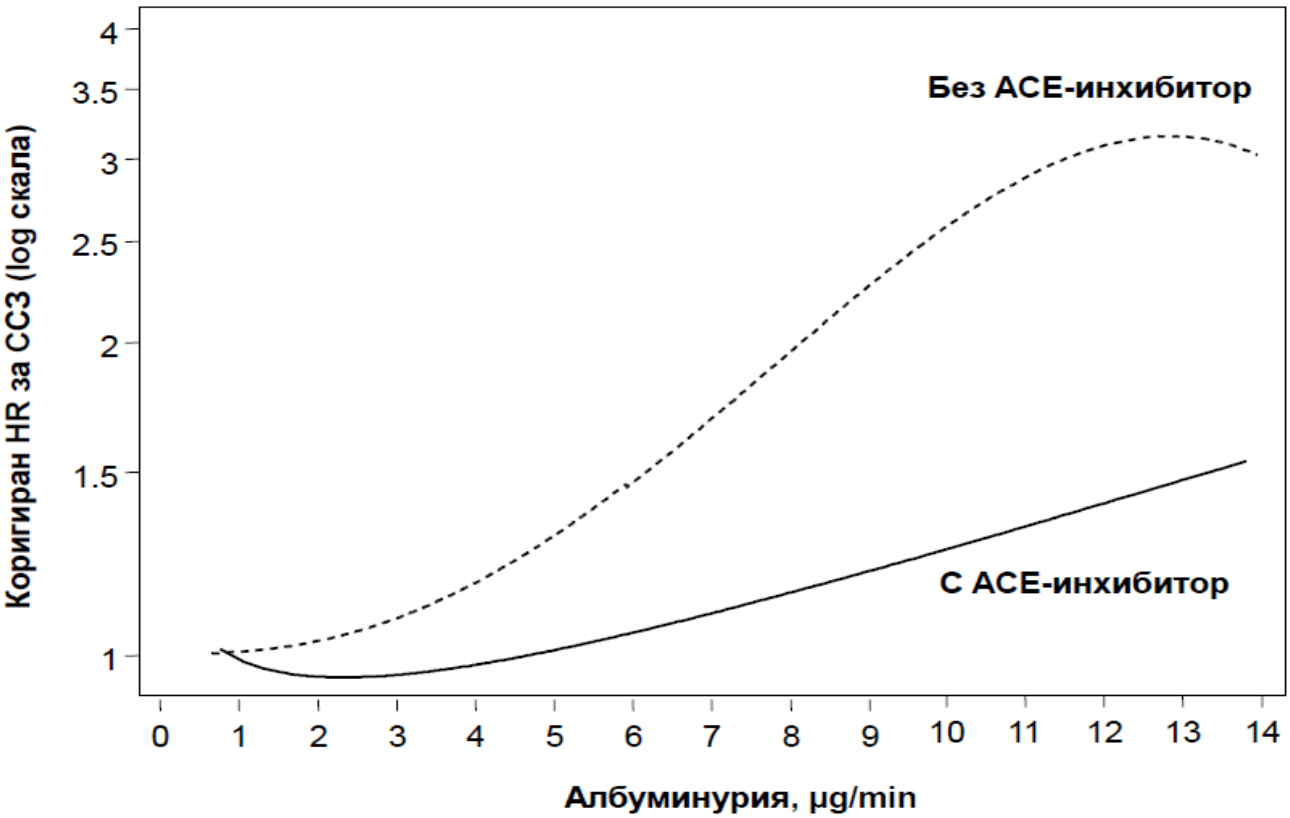
Фигура 10. Коригиран коефициент на риска (HR) от основни ССЗ в зависимост от изходната AER. Непрекъсната линия показва оценената асоциация, когато логаритмувания риск се моделира като линейна функция на логаритмуваната AER. Референтната стойност (HR=1) е определена при AER <1 µg/min. Засенчената зона включва 95% CI за по-обща функционална асоциация, оценена от P-splines. HRs са коригирани за възраст, пол, давност на диабета, анамнеза за ССЗ, тютюнопушене, индекс на телесна маса, САН, логаритмуваните стойности на HbA_{1c}, LDL/HDL, триглицериди и серумен креатинин, както и това дали пациентът е получавал АСЕ-инхибитор.

Дори AER 1-2 µg/min беше значима и беше асоциирана с повишен сърдечно-съдов риск в сравнение с референтната стойност AER <1 µg/min (HR, 1.04; 95% CI, 1.2-1.7). При стойности на AER между 13-14 µg/min, наблюдавахме платообразна тенденция за кардиоваскуларния риск, сравнен с AER <1 µg/min **(Фигура 10)**. Получихме подобни резултати при моделиране на изходната AER с функция spline. При нива на AER >14 µg/min кардиоваскуларният риск не беше анализиран поради малкия брой пациенти.

Сърдечно-съдов риск според терапията с АСЕ-инхибитор

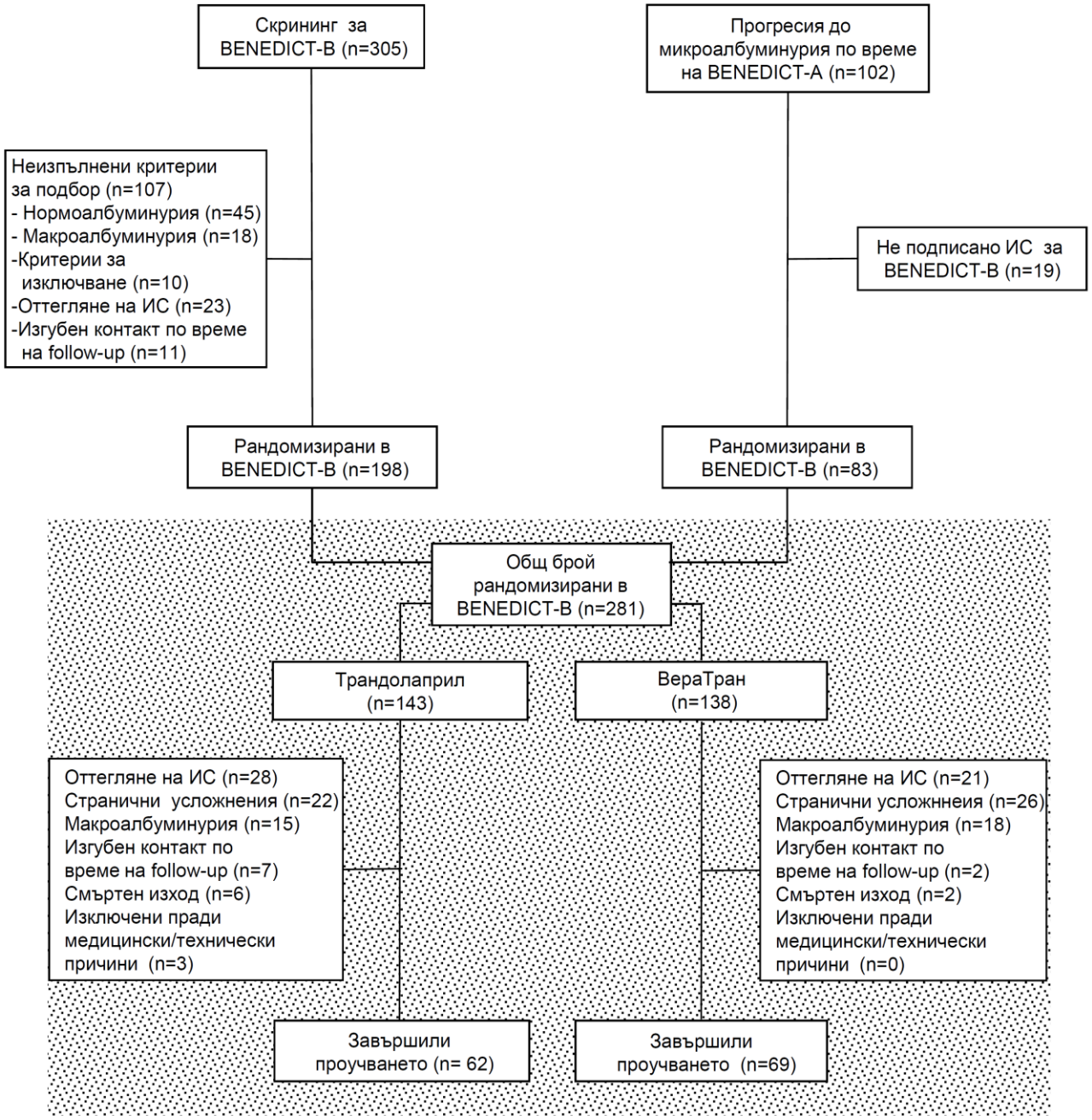
От 603 пациенти, получаващи трандолаприл, 84 (13.9%) имаха поне едно основно ССЗ, в сравнение с 105 от 605 пациенти (17.4%), неприемащи трандолаприл (P=0.08). По време на BENEDICT-A 4.5% и 4.6% пациенти, съответно

приемащи или не ACE-инхибитор, прогресираха до крайната точка (P=0.49). По време на Удълженото проучване честотата на ССЗ беше значимо по-ниска при пациентите с ACE-инхибитор, сравнени с тези без ACE-инхибитор (9.5% *vs* 12.7%; P=0.043). В групата без ACE-инхибитор, наблюдавахме същата непрекъсната, значима асоциация между AER и риска от ССЗ, която започваше при AER 1-2 µg/min, при референтна стойност на AER <1 µg/min (HR 1.02; 95% CI 1.0-1.074) **(Фигура 11)**. Всяко повишаване на AER на изходното ниво дори с 1 µg/min, увеличаваше този риск по време на Удълженото проучване. Отново наблюдавахме платообразна тенденция за кардиоваскуларния риск при AER 13-14 µg/min, сравнен с AER <1 µg/min (HR 3.15; 95% CI 1.76-5.63). Обаче при пациентите, които в BENEDICT-A приемаха ACE-инхибитор рискът от ССЗ беше еднакво нисък за всяка стойност на изходната AER и липсваше асоциация между повишаването на AER и риска от ССЗ по време на целия период на наблюдение **(Фигура 11)**.



Фигура 11. Коригирани коефициенти на риска (HRs) от основни ССЗ в зависимост от изходната AER, при пациентите, които са били с трандолаприл (самостоятелно или комбиниран с верапамил), означени с непрекъсната линия, или са били без ACE-инхибитор (верапамил или плацебо), означени с пунктирана линия. Линиите показват оценената асоциация, когато логаритмувания риск се моделира като линейна функция на логаритмуваната AER. Референтната стойност (HR=1) е определена при AER <1 µg/min. HRs са коригирани за възраст, пол, давност на диабета, анамнеза за ССЗ, тютюнопушене, индекс на телесна маса, САН, логаритмуваните стойности на logHbA_{1c}, LDL/HDL, триглицериди, креатинин, както и това дали пациентът е получавал ACE-инхибитор.

4.3. Изследване дали добавянето на ndCCB верапамил към ACE-инхибитора трандолаприл може допълнително да забави прогресията на микроалбуминурията до макроалбуминурия (основна цел), да потенцира регресията на микроалбуминурията до нормоалбуминурия и да ограничи ССЗ (вторични цели) при хипертензивни пациенти със ЗД-2, микроалбуминурия и нормална бъбречна функция



Фигура 12. Профил на проучването BENEDICT-B.

Общо 281 пациенти с микроалбуминурия (198 с микроалбуминурия, открита в скрининг периода (*de novo*) и 83 пациенти, развили микроалбуминурия по време на BENEDICT-A), бяха рандомизирани да получават трандолаприл 2 mg/ден или ВераТран 180/2 mg/ден **(Фигура 12)** и бяха проследени за среден период от време

4.5 години (IQR, минимум–максимум интервал 2.2–5.9). Между двете групи нямаше статистически значими разлики в основните демографски, клинични и лабораторни характеристики, а също и в съпътстващите терапии в началото на проучването и по време на проследяването.

Контрол на артериалното налягане

При всички пациенти взети заедно, средните стойности на СКН и ДКН се понижиха от 149.5±16.4 mmHg и 86.3±9.3 mmHg в началото до 141.4±11.8 mmHg и 81.9±6.5 mmHg в края на проучването (P<0.0001). В двете групи разгледани поотделно, се установи подобно понижаване на СКН (7.8±13.7 mmHg *vs* 7.9±14.1 mmHg, P=0.98) и на ДКН (4.7±8.1mmHg *vs* 4.0±8.3 mmHg, P=0.473), като в края на проучването нямаше разлики между СКН (141.0±11.5 mmHg *vs* 141.8±12.2 mmHg, P=0.58) и ДКН (81.6±6.4 mmHg *vs* 82.3±6.7 mmHg, P=0.37).

Албуминурия

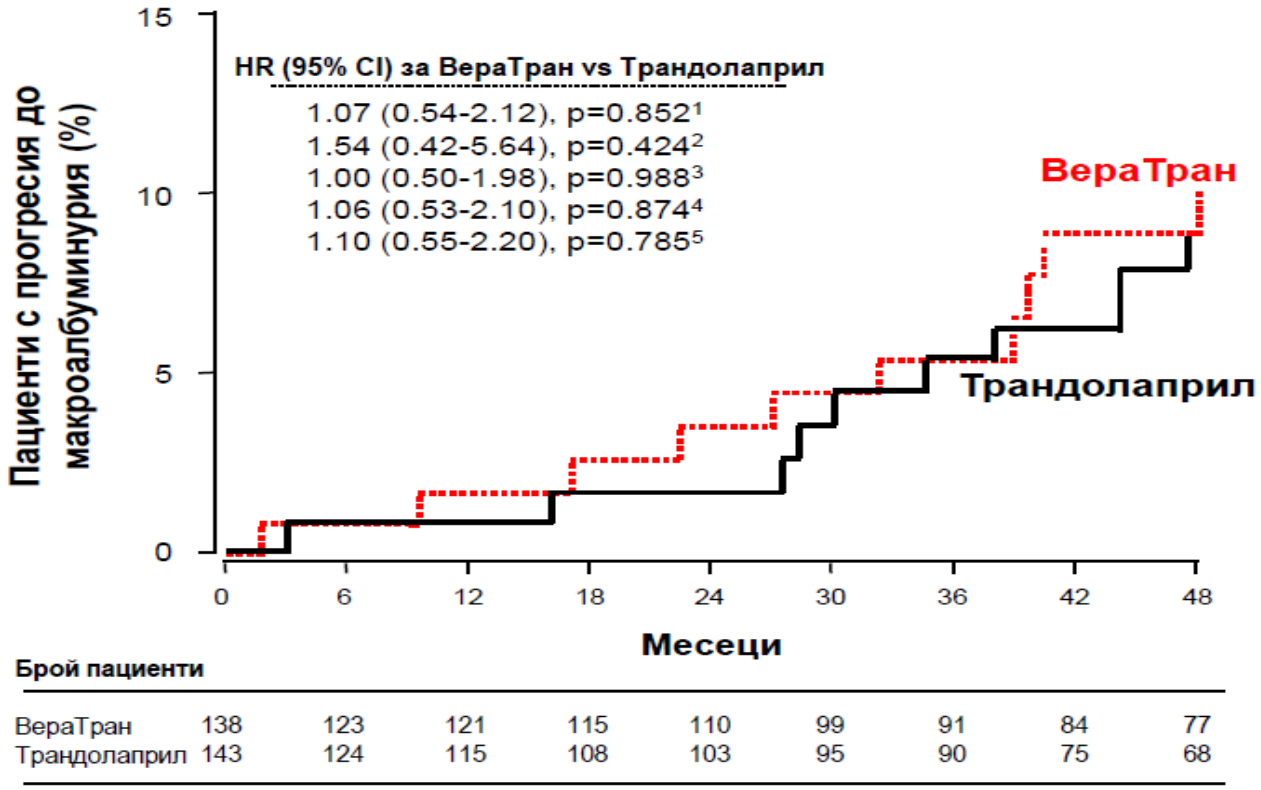
При пациентите взети заедно, AER (медиана, интерквартилен обхват), се понижи от 38.7 µg/min (27.6-72.1 µg/min) в началото до 26.8 µg/min (12.6-54.6 µg/min) в края на проучването (P=0.0001). Средното намаление на AER в групата ВераТран (34.6%) и в групата трандолаприл (46.1%) беше подобно (P=0.96, ANCOVA).

Прогресия до макроалбуминурия

От всички пациенти взети заедно, 33 пациенти (11.7%) развиха трайна макроалбуминурия, като 18 (13.0%) пациенти приемаха ВераТран и 15 (10.5%) - трандолаприл. Честотата на поява на макроалбуминурия беше подобна между двете групи, некоригиран HR 95% CI 1.07 (0.54-2.12), P=0.852 и се запази такава и след коригиране за влиянието върху появата на макроалбуминурия на изходните променливи и на СКН, ДКН и HbA_{1c}, измерени при проследяването на пациентите **(Фигура 13)**.

Регресия до нормоалбуминурия

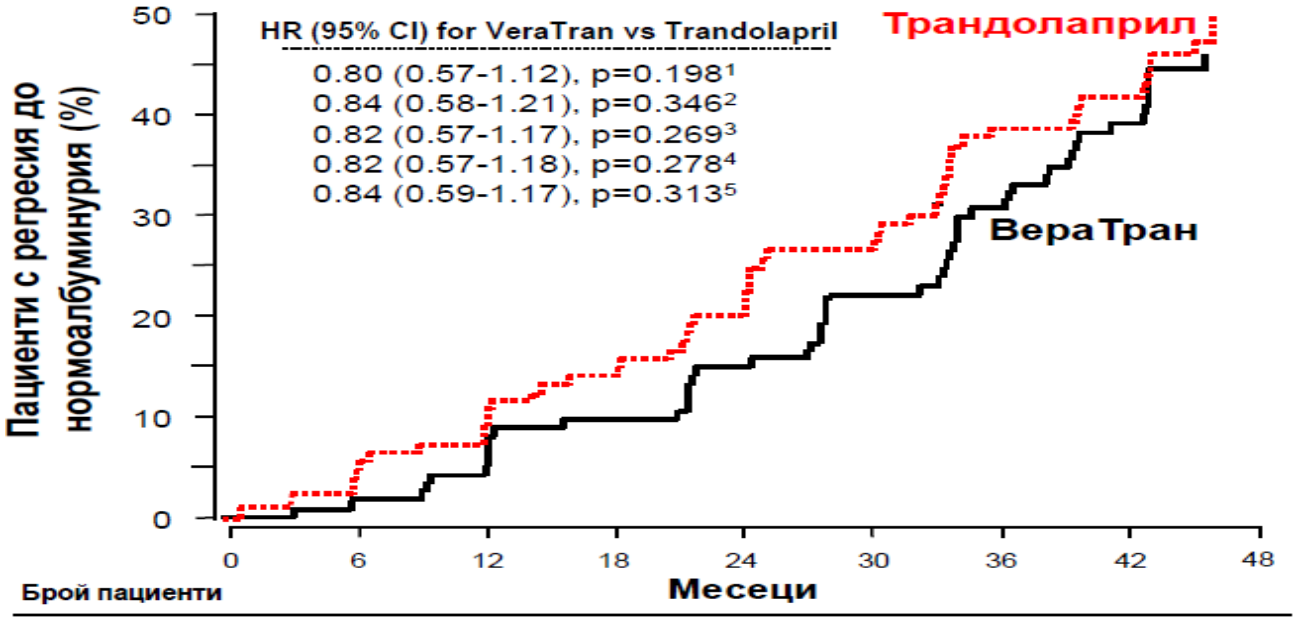
От всички пациенти взети заедно, AER се понижи значимо до стойности от нормалния диапазон при 133 (47.3%), като 62 (44.9%) пациенти бяха в групата ВераТран и 71 (49.7%) - в групата трандолаприл. Честотата на регресията до нормоалбуминурия беше подобна между двете групи, некоригиран HR 95% CI 0.80 (0.57-1.12), P=0.198], остана такава и след коригиране за влиянието върху регресията до нормоалбуминурия на изходните променливи и на СКН, ДКН и HbA_{1c}, измерени при проследяването на пациентите **(Фигура 14)**.



Брой пациенти

ВераТран	138	123	121	115	110	99	91	84	77
Трандолаприл	143	124	115	108	103	95	90	75	68

Фигура 13. Криви на Kaplan-Meier, показващи процента от пациентите с прогресия до макроалбуминурия в групите, разделени в зависимост от терапията. Разликата в честотата на прогресия на албуминурията между двете групи не беше статистически значима както при некоригираните анализи (1), така и след коригирането за изходните променливи (2) и follow-up стойностите на СКН (3), ДКН (3) и HbA1c (5).



Брой пациенти

ВераТран	138	122	117	106	97	84	69	56	48
Трандолаприл	143	129	109	99	89	77	64	55	39

Фигура 14. Криви на Kaplan-Meier, показващи процента от пациентите с регресия до нормоалбуминурия в групите, разделени в зависимост от терапията. Разликата в честотата на регресия на албуминурията между двете групи не беше статистически значима както при некоригираните анализи (1), така и след коригирането за изходните променливи (2) и follow-up стойностите на СКН (3), ДКН (4) и HbA1c (5).

Основни сърдечно-съдови усложнения

Общо 41 пациенти имаха фатални (1.8%) или нефатални (12.8%) ССЗ по време на проучването, от тях 20 (14.5%) приемаха ВераТран и 21 (14.7%) пациенти приемаха трандолаприл **(Таблица 2)**. Честотата на случаите беше подобна между двете групи, некоригиран HR 95% CI 0.93 (0.50-1.72), P=0.816 и се запази такава след коригиране за влиянието на изходните променливи и на СКН, ДКН и HbA_{1c}, измерени при проследяването на пациентите (данните не са показани).

Таблица 2. Брой (%) пациенти с поне едно нежелано сериозно усложнение в двете основни групи според рандомизацията.

Сериозни инциденти	ВераТран (n = 138)	Трандолаприл (n = 143)
Фатални	2 (1.4)	7 (4.9)
Основни сърдечно-съдови заболявания	1 (0.7)	4 (2.8)
Внезапна сърдечна смърт	0	4 (2.8)
Инсулт	1 (0.7)	0
Раково заболяване	1 (0.7)	3 (2.1)
Нефатални	56 (40.6)	48 (33.6)
Основни сърдечно-съдови заболявания	19 (13.8)	17 (11.9)
Остър миокарден инфаркт	2 (1.4)	1 (0.7)
Инсулт / Преходна исхемична атака	4 (2.9)	4 (2.8)
Коронарна реваскуларизация	4 (2.9)	4 (2.8)
Каротидна реваскуларизация	2 (1.4)	3 (2.1)
Периферна реваскуларизация / ампутация	4 (2.9)	5 (3.5)
Хоспитализация поради сърдечна недостатъчност	3 (2.2)	0 (0.0)
Други сърдечно-съдови заболявания	6 (4.3)	2 (1.4)*
Раково заболяване	11 (8.0)	9 (6.3)
Други нежелани сериозни усложнения	30 (21.7)	25 (17.5)

*P<0.05 *vs* ВераТран

Резултати според регресирането или не до нормоалбуминурия

Пациентите, на които албуминурията се понижи до нормални стойности, сравнени с тези, които останаха с трайна микроалбуминурия или прогресираха до макроалбуминурия, по-често бяха от мъжки пол, демонстрираха тенденция за по-високи тегло и АН, по-кратка продължителност на диабет и по-ниски стойности на HbA_{1c} и AER, при започването на проучването.

Контрол на артериалното налягане и метаболитния профил

Средните стойности на СКН и ДКН се понижиха повече при пациентите, които регресираха до нормоалбуминурия, в сравнение с тези, които прогресираха до макроалбуминурия или останаха с трайна микроалбуминурия (-12.5±13.1 mmHg *vs* -3.6±13.2 mmHg, P<0.001, и - 6.8±8.2 mmHg *vs* – 2.1±7.7 mmHg, P<0.001, съответно), но в края на проучването пациентите с или без регресия на микроалбуминурията имаха подобно АН. Нямаше разлика между двете групи и в средните стойности на HbA_{1c} (6.5±1.33% *vs* 6.1±1.43%, P=0.889).

Сърдечно-съдови усложнения

Фатални или нефатални ССЗ се наблюдаваха в 13 (9.8%) от 133 пациенти, които регресираха до нормоалбуминурия, в сравнение с 28 (18.9%) от 148 пациенти, които останаха с трайна микроалбуминурия или прогресираха до макроалбуминурия **(Таблица 3)**.

Таблица 3. Брой (%) пациенти с поне едно нежелано сериозно усложнение при пациентите с наличие или не на регресия до нормоалбуминурия по време на тяхното проследяване.

Сериозни инциденти	Регресия (n = 133)	Липса на регресия (n = 148)
Фатални	3 (2.3)	6 (4.1)
Основни сърдечно-съдови заболявания	2 (1.5)	3 (2.0)
Внезапна сърдечна смърт	2 (1.5)	2 (1.4)
Инсулт	0	1 (0.7)
Раково заболяване	1 (0.8)	3 (2.0)
Нефатални	47 (35.3)	57 (38.5)
Основни сърдечно-съдови заболявания	11 (8.3)	25 (16.9)*
Остър миокарден инфаркт	1 (0.8)	2 (1.4)
Инсулт / Преходна исхемична атака	3 (2.3)	5 (3.4)
Коронарна реваскуларизация	3 (2.3)	5 (3.4)
Каротидна реваскуларизация	1 (0.8)	4 (2.7)
Периферна реваскуларизация / ампутация	2 (1.5)	7 (4.7)
Хоспитализация поради сърдечна недостатъчност	1 (0.8)	2 (1.4)
Други сърдечно-съдови инциденти	6 (4.5)	2 (1.4)
Раково заболяване	14 (10.5)	6 (4.1)*
Други нежелани сериозни усложнения	23 (17.3)	32 (21.6)

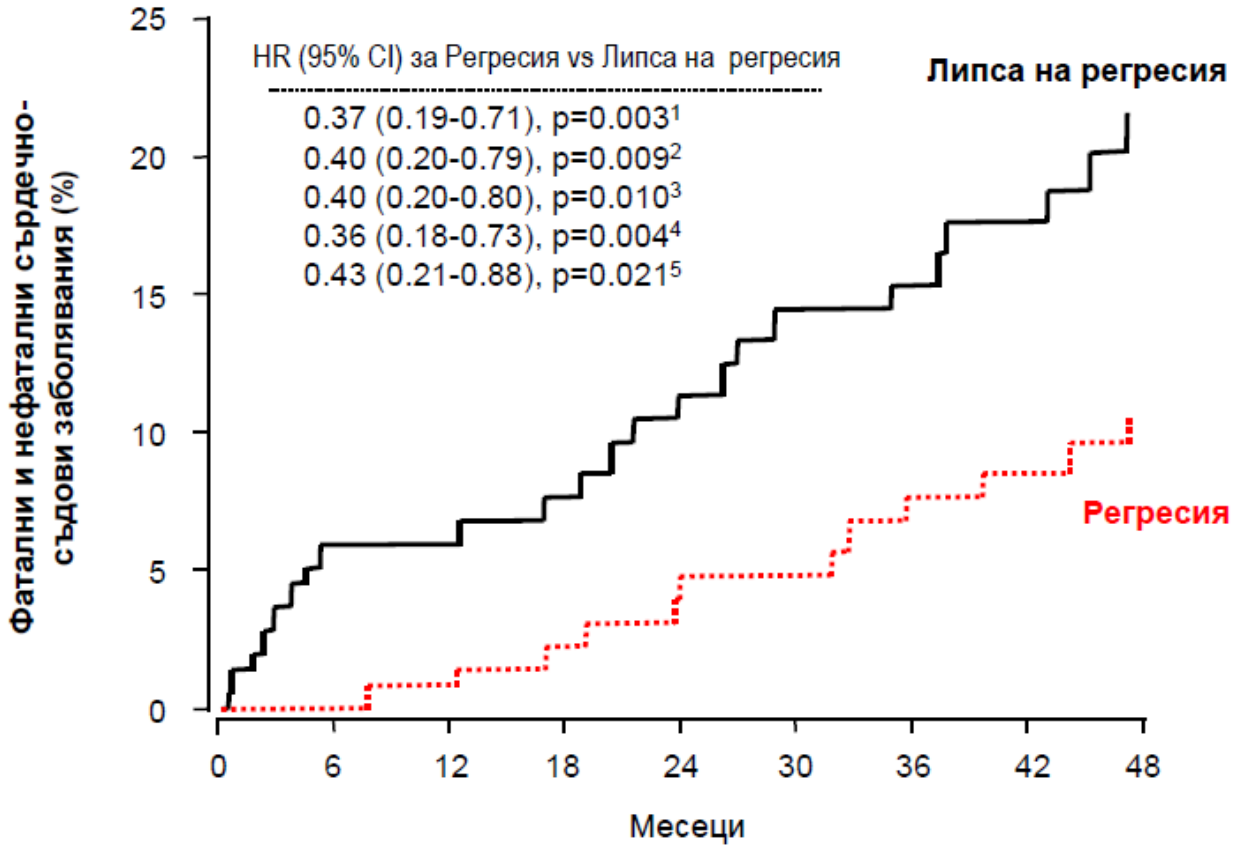
*P<0.05 *vs* Регресия.

Разликата между честотите на сърдечно-съдовите усложнения в тези групи беше статистически значима, некоригиран HR 95% CI 0.37 (0.19-0.71), P=0.0037 и се запази такава и след коригиране за влиянието на изходните променливи и на СКН, ДКН и HbA_{1c}, измерени при проследяването на пациентите **(Фигура 15)**.

Безопасност

Общо 113 пациенти (40.2%) имаха поне поне едно сериозно нежелано усложнение в периода между приемането на първата доза от изследваното лекарство и две седмици след прекратяване на проучването като 58 (42.0%) от тях бяха в групата ВераТран и 55 (38.5%) пациенти бяха в групата трандолаприл **(Таблица 2)**. В групата на пациентите с трайна микроалбуминурия или прогресия до макроалбуминурия 63 (42.6%) пациенти имаха поне поне едно сериозно нежелано усложнение, в сравнение с 50 (37.6%) пациенти в групата с регресия до нормоалбуминурия **(Таблица 3)**. Разликата се дължеше на големия брой сърдечно-съдови усложнения в групата на пациентите без регресия на микроалбуминурията.

При 33 пациенти, 20 (14.5%) от групата ВераТран и 13 (9.1%) от групата трандолаприл, се появи кашлица, която доведе до преустановяване на терапията. Нямаше случаи на спиране на терапията поради хиперкалиемия или повишаване на серумния креатинин.



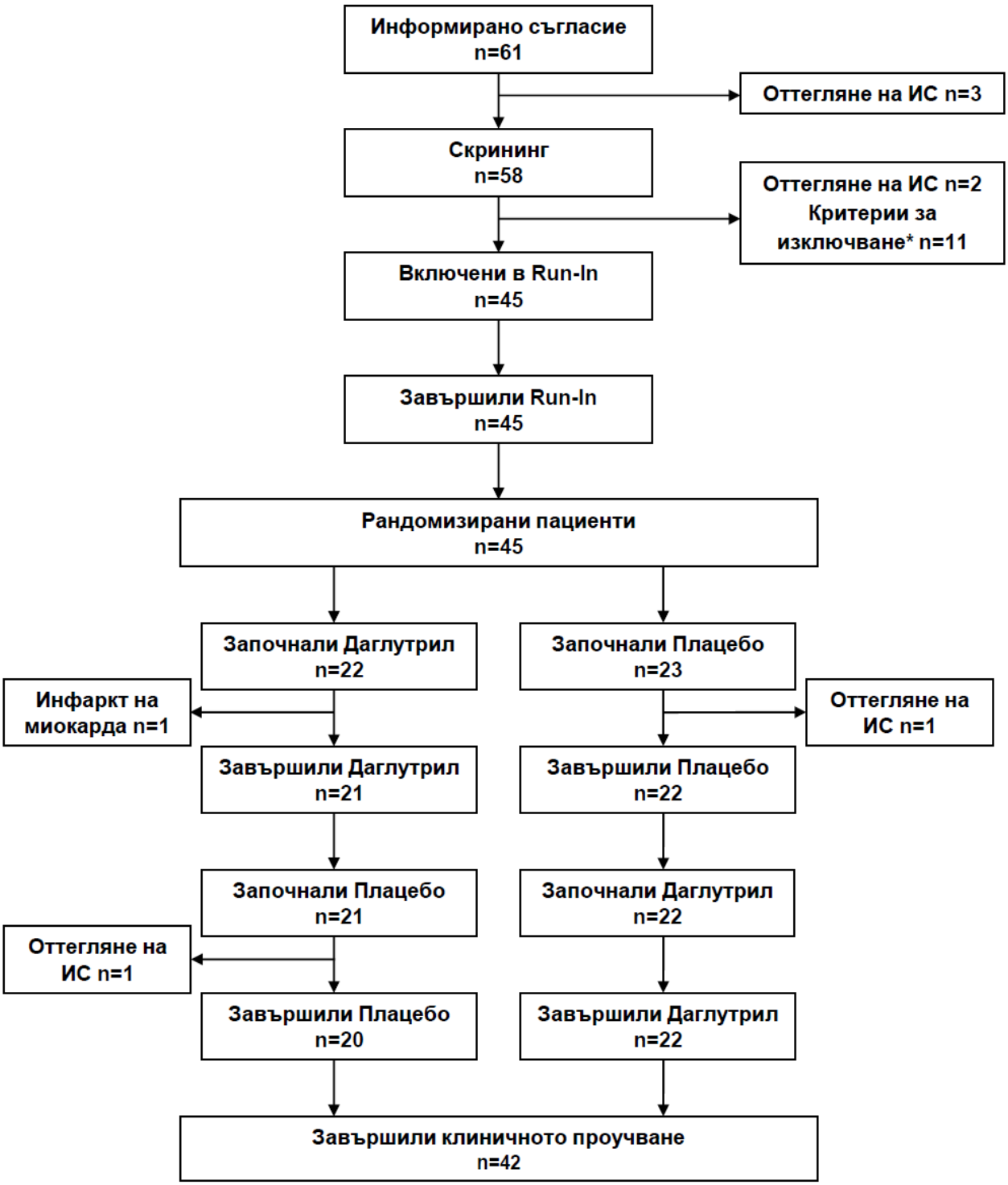
Брой пациенти

Регресия	133	132	129	124	119	111	105	98	90
Липса на регресия	148	122	115	107	98	91	81	73	63

Фигура 15. Криви на Kaplan-Meier, показващи процента на фаталните и нефаталните ССЗ при проследяването на пациентите с и без регресия до нормоалбуминурия. Разликата в честотата на инцидентите между подгрупите беше статистически значима както при некоригираните анализи (1), така и след коригирането за изходните променливи (2) и follow-up стойностите на СКН (3), ДКН (4) и HbA_{1c} (5). P<0.05 между двете подгрупи в един и същи момент от проследяването.

4.4. Изследване ефектите на даглутрил, инхибитор на ECE и NEP, върху албуминурията, артериалното налягане, бъбречната функция и профила на безопасност на фона на лосартан, при пациенти със ЗД-2 и диабетна нефропатия (микро- и макроалбуминурия)

В статистическите анализи бяха включени резултатите на 42 пациенти, които завършиха проучването **Фигура 16**. На всички пациенти беше извършено 24-часово



Фигура 16. Профил на проучването. ИС – информирано съгласие; *2 AER <20 µg/min, 4 ≥1000 µg/min, 3 хематурия, 1 високо ниво на чернодробните трансаминази, 1 рак на пикочния мехур.

амбулаторно мониториране на АН, но бяха анализирани само записите на 34 пациенти, които отговаряха на критериите за валидност на пълен 24-часов запис. На 36 пациенти бяха извършени изследвания на бъбречната функция. Двете групи пациенти (даглутрил-плацебо, плацебо-даглутрил) не се различаваха по основните демографски, клинични и лабораторни характеристики. При повечето пациенти за постигането на таргетната стойност на АН 130/80 mmHg освен лосартан, бяха включени едно или две антихипертензивни лекарства. Приложението на даглутрил и плацебо не доведе до сигнификантни разлики в 24-часовата AER както при всички пациентите взети заедно (n=42), така и в подгрупите на пациентите с микроалбуминурия или макроалбуминурия **(Таблица 4)**.

Таблица 4. Скорост на екскреция на албумина (AER) при всички пациенти взети заедно (n=42) и разгледани поотделно според степента на AER в момента на рандомизирането: микроалбуминурия (≥20 <200 µg/min) и макроалбуминурия (≥200 <1000 µg/min).

	Даглутрил			Плацебо			Даглутрил vs Плацебо	
	Преди	След	P*	Преди	След	P*	Абсолютна разлика	P°
Всички пациенти (n=42)	116.0 (51.3 to 211.6)	116.3 (48.3 to 203.3)	0.808	87.8 (45.1 to 190.5)	102.7 (52.7 to 231.0)	0.467	7.6 (-78.7 to 19.0)	0.559
Микроалбуминурия (n=30)	80.9 (43.3 to 134.9)	91.0 (38.3 to 129.3)	0.443	62.6 (40.3 to 105.1)	73.3 (45.7 to 118.8)	0.217	7.4 (-53.4 to 18.8)	0.762
Макроалбуминурия (n=12)	274.5 (232.7 to 382.5)	249.5 (186.1 to 378.2)	0.135	258.3 (178.1 to 396.7)	253.7 (190.1 to 352.7)	0.423	73.9 (-119.5 to 47.6)	0.482

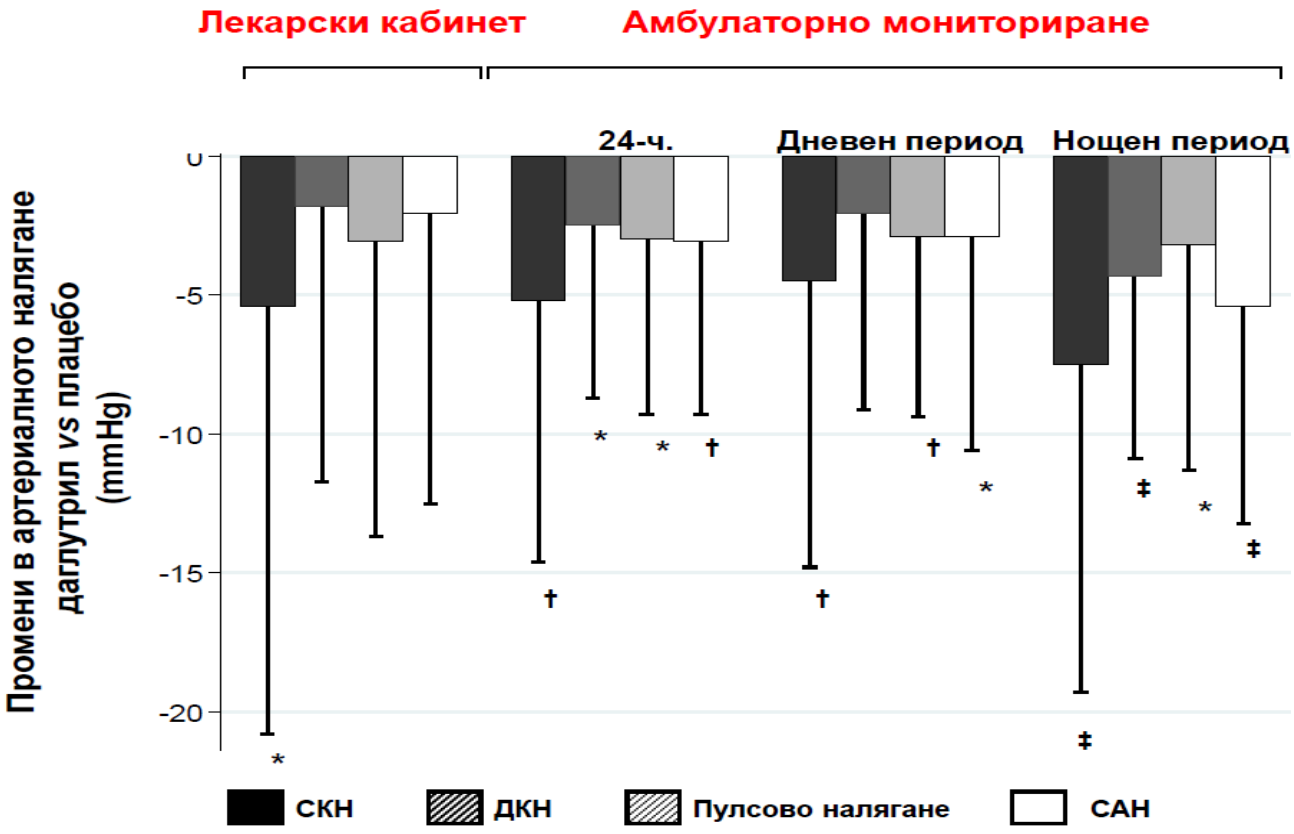
Данните са AER (µg/min), медиана (IQR, минимум-максимум); Intention-to-treat анализ при всички пациенти; Анализи по протокол за пациентите с микроалбуминуруя и макроалбуминурия при рандомизирането; *Paired t-test: преди и след приложената терапия; °Paired t-test: даглутрил *vs* плацебо.

Кръвното налягане (систолно и диастолно), измерено в лекарския кабинет не се промени сигнификантно при терапията с даглутрил, но се увеличи по време на приложението на плацебо **(Таблица 5)**. Разликата между промените в СКН между двете групи пациенти (даглутрил и плацебо) беше статистически значима, докато разликите между промените в диастолното, пулсовото и САН останаха подобни **(Таблица 5, Фигура 17)**. Двадесет и четири часовият запис на АН демонстрира значимо понижение на систолното и пулсовото налягане и липса на промяна в средното и диастолното артериално налягане по време на терапията с даглутрил **(Таблица 5)**. В групата на пациентите приемащи плацебо се наблюдава статистически значимо повишаване на ДКН. Даглутрил, сравнен с плацебо, предизвика статистически значимо понижаване на всички 24-часови показатели на АН, с най-силно изразен ефект върху СКН **(Таблица 5, Фигура 17, Фигура 18)**.

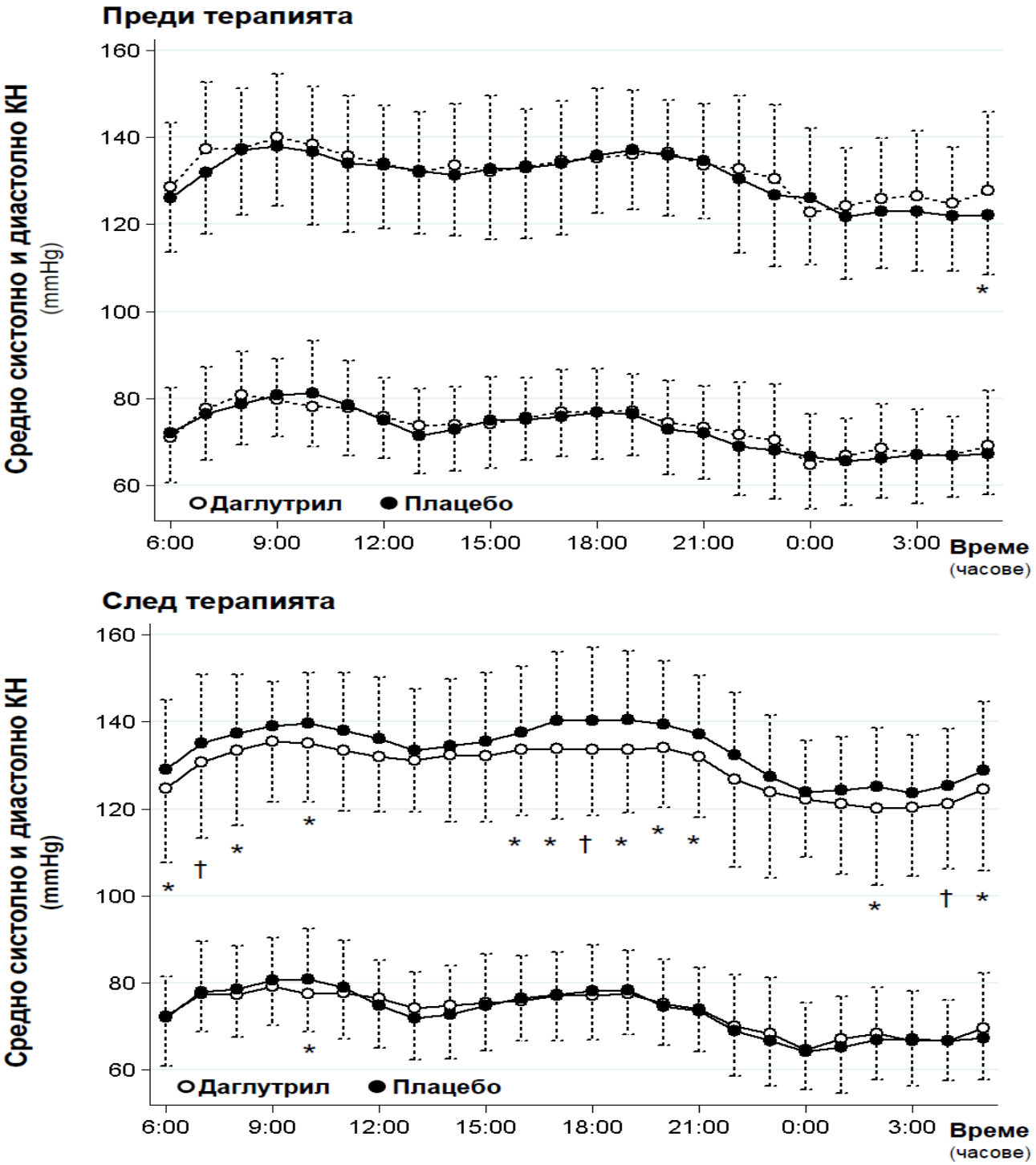
Таблица 5. Сравняване на стойностите на артериалното налягане преди и след приложението на даглутрил и плацебо, и на разликите между двете терапии.

	Даглутрил			Placebo			Даглутрил vs Placebo	
Кръвно налягане [mmHg]	**Преди**	**След**	**P***	**Преди**	**След**	**P***	**Абсолютна разлика**	**P°**
В лекарския кабинет	n=42	n=42		n=42	n=42			
СКН	140.6 ± 14.0	140.8 ± 14.7	0.975	139.5 ± 13.0	144.7 ± 16.7	0.006	-5.4 ± 15.4	0.028
ДКН	79.0 ± 7.9	78.9 ± 8.5	0.886	77.6 ± 7.9	79.9 ± 7.5	0.032	-1.8 ± 9.9	0.245
Пулсово налягане	59.5 ± 11.5	61.9 ± 14.5	0.267	63.6 ± 14.1	64.9 ± 15.8	0.296	-3.1 ± 10.6	0.210
САН	100.6 ± 8.7	99.5 ± 8.5	0.355	100.2± 8.5	101.5 ± 8.6	0.326	-2.1 ± 10.4	0.205
Амбулаторно КН	n=34	n=34		n=34	n=34			
СКН	132.9 ± 10.7	129.9 ± 12.0	0.016	132.4 ± 11.3	134.4 ± 11.5	0.118	-5.2± 9.4	0.0013
ДКН	74.6 ± 7.6	73.9 ± 8.0	0.247	74.0 ± 7.4	76.0 ± 7.3	0.041	-2.5± 6.2	0.015
Пулсово налягане	59.1 ± 9.9	56.9 ± 11.1	0.0034	59.0 ± 10.7	59.4 ± 10.9	0.372	-3.0± 6.3	0.019
САН	93.3 ± 7.3	91.7 ± 8.2	0.058	92.9 ± 7.3	94.4 ± 7.4	0.106	-3.1± 6.2	0.0030
Дневен период	n=34	n=34		n=34	n=34			
СКН	134.7 ± 11.0	132.2 ± 12.0	0.052	134.6 ± 11.8	136.6 ± 12.1	0.142	-4.5± 10.3	0.0080
ДКН	76.3 ± 7.8	75.8 ± 8.2	0.568	75.9 ± 7.6	77.8 ± 7.6	0.061	-2.1± 7.0	0.071
Пулсово налягане	59.3 ± 10.2	57.1 ± 11.1	0.0034	59.3 ± 11.0	59.7 ± 11.2	0.46	-2.9± 6.5	0.0067
САН	95.7 ± 7.5	94.6 ± 8.0	0.214	95.5 ± 7.7	97.4 ± 7.7	0.076	-2.9 ± 7.7	0.022
Нощен период	n=34	n=34		n=34	n=34			
СКН	126.6 ± 12.4	122.2 ± 15.0	0.0055	124.4 ± 11.4	126.9 ± 11.7	0.086	-7.5± 11.8	0.0003
ДКН	68.3 ± 8.5	65.7 ± 9.0	0.0026	66.7 ± 7.8	68.6 ± 8.0	0.087	-4.3± 6.6	0.0002
Пулсово налягане	58.3 ± 10.0	56.5 ± 11.9	0.062	57.6 ± 10.6	58.3 ± 10.8	0.372	-3.2± 8.1	0.019
САН	87.8 ± 8.8	84.6 ± 9.9	0.0026	85.9 ± 7.7	88.1 ± 7.9	0.065	-5.4± 7.8	<0.0001

Данните са представени като средна стойност (mmHg) ± стандартно отклонение (SD); *Многократни измервания ANOVA (Repeated Measures ANOVA): Преди vs След; °Repeated measures ANOVA: Даглутрил vs Плацебо.



Фигура 17. Промени в артериалното налягане: даглутрил *vs* плацебо. Стандартната грешка е представена като SD. *P<0.05; †P<0.01; ‡P<0.001.



Фигура 18. Двадесет и четири часово СКН и ДКН: преди (горен панел) и след (долен панел) терапията с даглутрил и плацебо. Стандартните грешки са представени като SDs. Според авторегресионния модел разликите в СКН и ДКН след терапията с плацебо vs даглутрил са статистически значими (P<0.0001 и P=0.01). *P<0.05; †P<0.01.

Според приложеният авторегресионен модел разликите в СКН и ДКН в края на терапията с плацебо *vs* даглутрил бяха статистически значими **(Фигура 18)**. Чувствителните анализи, извършени с помощта на параметрични и непараметрични методи на импутиране, заместващи липсващите стойности, потвърдиха достоверността на получените резултати.

Дневните записи на амбулаторното АН показаха сигнификантно понижение на пулсовото налягане при лечението с даглутрил и липса на промяна при приложението на плацебо. Даглутрил предизвика статистически значимо понижение на систолното, пулсовото и средното артериално налягане, в сравнение с плацебо **(Таблица 5, Фигура 17, Фигура 18)**. Резултатите от нощните записи на АН демонстрираха, че даглутрил понижава сигнигфикантно СКН, ДКН и САН, докато приложението на плацебо не предизвиква статистически значими разлики в изучаваните параметри. Промените, предизвикани от даглутрил във всички показатели на АН, регистрирани през нощта, бяха статистически значими в сравнение с тези, предизвикани от плацебо **(Таблица 5, Фигура 17, Фигура 18)**.

Нямаше разлика в бъбречните функционални показатели преди и след всеки период на лечение, като ефектът на даглутрил върху тези показатели не се различаваше от този на плацебо **(Таблица 6).**

Таблица 6. Бъбречни функционални показатели и пептиди (обяснителни променливи).

	Даглутрил			Плацебо			Даглутрил vs Плацебо	
	Преди	След	P*	Преди	След	P*	Абсолютна разлика	P°
Бъбречни функционални параметри								
GFR [ml/min/1.73 m^2]	84.7 ± 23.7	82.9 ± 24.4	0.417	81.8 ± 29.6	85.5 ± 26.7	0.343	-4.8 ± 23.2	0.185
RPF [ml/min/1.73 m^2]	370.7 ± 103.6	361.1 ± 126.1	0.444	357.6 ± 134.3	410.1 ± 177.4	0.114	-36.9 ± 181.0	0.328
Филтрационна фракция [%]	24.5 ± 12.4	23.8 ± 7.3	0.563	22.3 ± 5.7	23.2 ± 5.6	0.555	-5.3 ± 17.0	0.138
RVR [mmHg/ml/min/1.73 m^2]	0.30 ± 0.11	0.31 ± 0.10	0.456	0.32 ± 0.12	0.32 ± 0.18	0.991	0.0 ± 0.2	0.917
Фракционен клирънс на албумина [x10^5]	6.15 ± 6.82	8.41 ± 9.44	0.054	6.16 ± 6.95	6.52 ± 6.37	0.804	2.0 ± 8.6	0.144
Фракционен клирънс на IgG [x10^5]	0.96 ± 1.06	1.35 ± 1.50	0.016	0.82 ± 0.77	0.87 ± 0.62	0.667	0.4 ± 1.7	0.178
Екскреция на Na [mEq/24-h]	231.0 ± 79.80	216.2 ± 62.5	0.344	234.2 ± 65.1	234.7 ± 99.1	0.360	0.0 ± 0.4	0.814
Пептиди (обяснителни параметри)								
Big-ендотелин [fmol/ml]	0.36 ± 0.09	0.42 ± 0.14	0.0055	0.36 ± 0.09	0.35 ± 0.05	0.747	0.06 ± 0.15	0.010
N-ANP [pmol/l]	1901.3± 1112.3	2089.8± 1337.2	0.109	1943.1 ± 1351.1	1937.1 ± 1297.0	0.950	194.5 ± 1112.7	0.264

GFR - скорост на гломерулна филтрация; RPF - бъбречен плазмоток; RVR - бъбречно съдово съпротивление; N-ANP - N-про-атриален натриуретичен пептид. *Повторни измервания ANOVA: Преди *vs* след; °Повторни измервания ANOVA: Даглутрил *vs* Плацебо. Данните са средна аритметична стойност ± стандартно отклонение.

При терапията с даглутрил серумната концентрация на Big-ET се увеличи статистически значимо, а на про-ANP не се промени. Тези показатели останаха непроменени при приложението на плацебо. Ефектът на даглутрил върху Big-ET, сравнен с плацебо, беше статистически значим, но не се различаваше по отношение на про-ANP **(Таблица 6)**. Не установихме carry-over ефект върху изучаваните променливи.

Лечението се понесе добре от всички пациенти. Нямаше сериозни нежелани лекарствени реакции (НЛР), свързани с проведената терапия. При осем пациенти бяха регистрирани леки НЛР, свързани с лечението. При 6 от пациентите те бяха по време на приемането на даглутрил: 3 пациенти бяха с периферен оток и един с оток на лицето. Единият периферен оток спадна след намаляване дозата на dCCB ласидипин от 8 mg/ден на 4 mg/ден и повишаване дозата на диуретика хидрохлоротиазид от 25 mg/ден на 50 mg/ден. Вторият оток не отмина след увеличаване дозата на хидрохлоротиазид от 12.5 mg/ден до 25 mg/ден и се задържа 2 седмици след прекратяване на терапията. Отокът на лицето беше свързан с признаци на задръжка на течности (наддаване на тегло, намалена концентрация на хематокрит и на хемоглобин) и отмина след приключване на лечението. Другите две НЛР, бяха I степен AV-блок и преходна хипотония. Приложението на плацебо също доведе до поява на I степен AV-блок при 2 пациента. Регистрираните осем НЛР не наложиха намаляване на дозата или прекратяване на терапията. Като цяло, даглутрил не предизвика значими промени в концентрациите на хемоглобина и хематокрита, чернодробните ензими, холестерола и триглицеридите, кръвната захар на гладно, HbA_{1c} и телесното тегло (непубликувани данни).

V. ОБСЪЖДАНЕ НА ПОЛУЧЕНИТЕ РЕЗУЛТАТИ

5.1 Изследване ефекта на АСЕ-инхибира трандолаприл, приложен самостоятелно или в комбинация с ndCCB верапамил, върху честотата на поява на микроалбуминурия при хипертензивни пациенти със ЗД-2 и нормоалбуминрия

BENEDCT-A е първото голямо, проспективно, рандомизирано клинично проучване, което изследва дали може да бъде предотвратена появата на трайна микроалбуминурия с комбинацията ВераТран или трандолаприл, приложен самостоятелно, при пациенти със ЗД-2 и АХ. АСЕ-инхибиторът трандолаприл, приложен самостоятелно или комбиниран с ndCCB верапамил намалява честотата на поява на микроалбуминурия, съответно с 53% и 61% в сравнение с плацебо, като ефектът е независим от промените в СКН и ДКН, и е особено силно изразен при пациентите с недобре контролирано АН. Верапамил не успява да намали честотата на поява на микроалбуминурия, неговият ефект е подобен на този на плацебо.

Превенцията на микроалбуминурията е ключов момент в ренопротекцията, но до 2004 г. няма публикувани резултати от голямо рандомизирано клинично проучване, което има за цел да изследва възможността за предотвратяване

появата ѝ при пациенти със ЗД-2. Все пак, post hoc анализите на проучванията HOPE и LIFE подсказват, че инхибирането на RAS може да бъде ефективно освен в лечението на ДН, също и в профилактиката на микроалбуминурията.

Представените резултати показват, че при пациентите със ЗД-2 появата на микроалбуминурия може да бъде ограничена и, че инхибирането на АСЕ има специфичен ренопротективен ефект, който е независим от понижаването на АН, защото се запазва и след коригирането за неговото влияние в началото и в края на изследването. В комплексния механизъм на ренопротективния ефект при инхибирането на АСЕ основна роля играе повлияването на бъбречната хемодинамика поради селективна дилатация на еферентните артериоли и намаляване на гломерулното налягането. Това противодейства на увеличаването на трафика на плазмените албумини през ГБМ, предизвикано от активираната RAS. Инхибирането на АСЕ антагонизира и директното увреждащо действие на Ang II върху ГБМ, което допринася за запазването на нейния пермеабилитет.

Артериалната хипертензия е един от основните независими рискови фактори (РФ) за поява и прогресия на микроалбуминурия. Изненадващо, направеният post hoc анализ на получените резултати не установява асоциация между развитието на микроалбуминурия и стойностите на АН на изходното ниво, но потвърждава, че появата на микроалбуминурия е асоциирана с по-високото АН при проследяването на пациентите, независимо от фармакологичната терапия. Анализите показват, че понижаването на АН също има специфичен и независим от другите РФ протективен ефект срещу развитието на микроалбуминурия. Установява се, че при пациентите с АН >140/82 mmHg терапията с АСЕ-инхибитора е по-ефективна, в сравнение с другите антихипертензивни лекарства, като намаляването на честотата на поява на микроалбуминурия е същото както при пациентите с АН <140/82 mmHg, при които индивидуалният риск от развитие на микроалбуминурия е еднакво нисък за всяка от приложените терапии. Това показва предимството на АСЕ-инхибиторите пред другите антихипертензивни лекарства, което е важно за пациентите със ЗД-2, тъй като при тях един от основните проблеми е трудното постигане на препоръчаната таргетна стойност за СКН 120-130 mmHg, дори и с назначаването на два-три антихипертензивни препарата. Въпреки, че при 62% от пациентите в BENEDICT-A са добавени едно или повече лекарства, само при 14% е постигнато СКН <130 mmHg, като по-голяма част от тези пациенти са получавали комбинацията ВераТран и при тях по-рядко се е налагало добавянето на други антихипертензивни медикаменти.

Следователно, комбинираната терапия ВераТран може да се използва за ефективно намаляване на АН, което би помогнало за ограничаване на бъбречните и сърдечно-съдовите усложнения при болните от ЗД-2 и на разходите от добавянето на допълнителни лекарства.

Повечето насоки за лечение на АХ при пациенти със ЗД-2 и без ДН не препоръчват конкретен клас антихипертензивни лекарвства за начало на терапията. Само при пациенти със ЗД и ДН се препоръчват инхибитори на RAS. Докладваният специфичен ренопротективен ефект на АСЕ-инхибиторите се подкрепя от мета-анализи, направени след публикуването на нашите резултати, които обхващат рандомизирани проучвания до 2005 и до 2012 година, изучаващи възможността за профилактика на микроалбуминурията с различни антихипертезивни лекарства. Те потвърждават, че до момента само инхибиторите на АСЕ са ефективни в превенцията на микроалбуминурията при ЗД-2. Това дава основание АСЕ-инхибиторите да бъдат посочени като лекарства на първи избор за превенция на микроалбуминурията при пациентите със ЗД-2 в стандартите за лечение на АХ на редица важни национални и международни организации като Южноафриканското Обществото по Хипертензия (Southern African Hypertension Society – SAHS), Европейското общество по кардиология (European Society of Cardiology - ESC), Европейската асоциация за изучаване на диабета (European Association for the Study of Diabetes - EASD), Европейското общество по хипертензия (European Society of Hypertension - ESH), Австрийското общество по диабет (Austrian Diabetes Society), Австрийското общество за нефрология (Austrian Society for Nephrology), Асоциацията на лекарите диабетолози и Италианското диабетологично общество (Associazione Medici Diabetologi (AMD) - Società Italiana di Diabetologia (SID)), Американската Национална бъбречна фондация (National Kidney Foundation – NKF), Американската асоциация на клиничните ендокринолози (American Association of Clinical Endocrinologists – AACE), Американската кардиологична асоциация (American Heart Association - AHA).

Очаква се, че успешното ограничаване на развитието на микроалбуминурия ще доведе до намаляване на асоциираните с нея бъбречни и сърдечно-съдови усложнения, което показва важното значение на получения резултат.

Броят на фаталните ССЗ по време на проучването е изключително малък: един пациент в групата с трандолаприл, един в групата с верапамил и трима в групата с плацебо. Това потвърждава факта, че при пациентите с

нормоалбуминурия и със сравнително добър метаболитен контрол кардиоваскуларната смъртност е по-ниска, в сравнение с пациентите, които са развили диабетно бъбречно увреждане.

Левокамерната хипертрофия (ХЛК) е независим РФ за внезапна сърдечна смърт, камерна аритмия, миокардна исхемия и ХСН. Тригодишното проследяване на пациентите в BENEDICT-A установява, че при тези, които получават терапия с ACE-инхибитор, самостоятелно или в комбинация с верапамил, честота на развитие на ХЛК е сигнификантно по-ниска в сравнение с пациентите, които не получават ACE-инхибитор. Инхибирането на ACE ограничава активноста на Ang II, основният етиологичен фактор за хипертрофията на миоцитите и развитието на интерстициална фиброза и обуславя специфичния протективен ефект на ACE-инхибиторите срещу развитието на ХЛК, който е независим от понижаването на АН. Това потвърждава кардиопротективното значение на тази група лекарства, за която е докладвано, че намалява риска от сърдечно-съдова и всяка друга причина за смъртност, при пациенти със ЗД-2 без ССЗ.

Проучването BENEDICT-A потвърждава и добрия профил полза/риск на приложените терапии. Няма случаи на остро влошаване на бъбречната функция или хиперкалиемия. Девет пациенти, 5 в групата ВераТран и 4 в групата трандолаприл, прекратяват терапията поради появата на кашлица, която изчезва след спирането на лекарството. Един пациент в групата ВераТран и един в групата верапамил, прекъсват лечението поради забавяне на AV проводимост.

При обсъждането на въпроса за превенция на микроалбуминурията при пациентите със ЗД не може да не се дискутира и втората голяма група лекарства, които потискат активността на RAS, а именно ARBs. Въпреки убедителните резултати за тяхната роля в забавянето на прогресията на ДН (лекарства на първи избор), значението им в профилактиката на микроалбуминурията все още е неуточнено. Най-голямото проучване целящо да изясни ролята на ARBs в превенцията на микроалбуминурията - ROADMAP, установява, че инхибирането на рецепторите на Ang II с олмесартан 40 mg/ден, намалява риска от поява на микроалбуминурия с 23%, в сравнение с плацебо, но в същото време докладва и по-висок процент на смъртност от ССЗ. Това предизвиква активни дискусии и анализи на съществуващите данни за значението на терапията с ARBs по отношение на кардиоваскуларния риск при пациентите със ЗД-2, които все още продължават и не могат да стигнат до сигурно заключение. Затова, в настоящия момент, не могат да

се направят препоръки за превенцията на микроалбуминурията с този клас лекарства.

В заключение, инхибирането на АСЕ е асоциирано със специфичен ренопротективен ефект, който води до успешна превенция на микроалбуминурията. Ренопротективният ефект е независим от понижаването на АН. Ограничаването на скоростта на екскреция на плазмените албумини с урината е резултат от селективната дилатация на еферентните артериоли, което намалява вътрегломерулното налягане, от антагонизирането на увреждащото действие на Ang II върху ГБМ и на неговите митогенни и метаболитни ефекти.

Блокирането на бавните L-тип потенциал-зависими калциеви канали с ndCCB не води до специфичен ренопротективен ефект, въпреки докладваната дилатация на еферентните артериоли и вероятното намаляване на вътрегломерулното налягане. Явно, този хемодинамичен механизъм не е достатъчен, защото не се повлияват митогенните и метаболитните ефекти на основния патогенетичен фактор, Ang II. Следователно, ndCCBs не могат да бъдат използвани за превенция на микроалбуминурията.

При комбинираното инхибиране на АСЕ и на бавните L-тип потенциал-зависими калциеви канали не се наблюдава потенциране на ренопротективния ефект, установен при самостоятелното инхибиране на АСЕ. От една страна инхибирането на АСЕ води до добър хемодинамичен ефект, който няма нужда да бъде потенциран допълнително. От друга страна блокирането на бавните L-тип потенциал-зависими калциеви канали с ndCCB не повлиява всички ефекти на Ang II и не потиска процесите на пролиферация и оксидативен стрес. Затова, един ndCCB не може да бъде добавен към АСЕ-инхибитор с цел потенциране на ренопротективния ефект на АСЕ-инхибитора.

Добрият антихипертензивен ефект на комбинацията АСЕ-инхибитор и ndCCB може да бъде използван за по-лесно постигане на препоръчваните таргетни стойности на артериалното налягане, което би ограничило добавянето на други лекарства.

Въз основа на резултатите от BENEDICT-A, потвърдени и от други рандомизирани проучвания, инхибиторите на АСЕ вече се посочват като лекарства на първи избор за превенция на микроалбуминурията при хипертензивни пациенти със ЗД-2 в препоръките на редица европейски и американски асоциации. Очаква се това да ограничи развитието на ДН, на сърдечно-съдови усложнения и смърт. И тъй

като пациентите със ЗД-2, АХ и нормоалбуминурия представляват почти 90% от цялата популация на болните от ЗД, това доказва, че получените резултати имат важно клинично значение и са широко приложими.

5.2. Изследване наличието на асоциация между нормоалбуминурия и дългосрочния сърдечно-съдов риск и ролята на рано започнатата терапия с АСЕ-инхибитор в дългосрочната кардиопротекция при пациенти със ЗД-2, нормоалбуминурия и АХ, рандомизирани във BENEDICT-A

В Удълженото проучване на BENEDICT-A, което обхваща повече от 1000 пациенти със ЗД-2 и нормоалбуминурия, се открива непрекъсната асоциация между албуминурията на изходното ниво и честота на ССЗ по време на почти 10-годишния период на проследяване. Увеличаването на сърдечно-съдовия риск, сравнено с референтния риск при AER <1 μg/min, започва още от стойности на AER 1-2 μg/min, като всяко повишаване на AER на изходното ниво с 1 μg/min допълнително повишава риска от ССЗ с 6%, което се наблюдава до стойности на AER 13-14 μg/min. Над това ниво асоциацията не може да бъде анализирана поради малкия брой пациенти и малкия брой ССЗ. Увеличаването на сърдечно-съдовия риск при повишаването на AER се наблюдава при всички пациенти взети заедно и при пациентите, които в началото на BENEDICT-A са рандомизирани да получават терапия с верапамил или плацебо. При пациентите, които в началото на BENEDICT-A са рандомизирани да получават терапия с АСЕ-инхибитор, приложен самостоятелно или в комбинация с ndCCB верапамил, не се наблюдава асоциация между повишаването на албуминурията и риска от основни ССЗ по време на целия период на наблюдение, като този риск остава еднакво нисък за всяка стойност на AER на изходното ниво.

Това е първото голямо, лонгитудинално проучване при хипертензивни пациенти със ЗД-2 и нормоалбуминурия, което открива наличие на непрекъсната асоциация между нормоалбуминурията и сърдечно-съдовия риск, независимо от другите РФ. Проучванията HOPE, LIFE, Framingham, PREVEND, намират подобна асоциация между AER и ССЗ, само че обхващат пациенти с нормо-, микро- и макроалбуминурия, като резултатите им до голяма степен са повлияни от добре познатата асоциация между микро- или макроалбуминурията и повишения сърдечно-съдов риск. Представеното изследване включва само пациенти със ЗД-2 и нормоалбуминурия. Това позволява да се напрви извода, че концепцията за праг, който разделя албуминурията на нормо- и микроалбуминурия и разграничава

пациентите с и без сърдечно-съдов риск, е несъстоятелна. Показваме, че всяко ниво на измерима AER, дори близо до границата на откриване (1-2 µg/min), е асоциирано с риск от ССЗ. Този резултат подкрепя предложението на някои автори, при разглеждането на AER като РФ да не се прави разграничаване между нормо- и микроалбуминурия, а да се използва терминът “албуминурия-асоциирани заболявания”. Тези резултати са важни, защото ни дават възможност да направим извода, че дори минималното намаляване с 1 µg/min на нормалните стойности на AER, чрез подобряване на инсулиновата чувствителност, метаболитния профил, АН, загубата на тегло, инхибирането на RAS, може да ограничи ССЗ в дългосрочен план.

Асоциацията между AER и ССЗ изчезва при пациентите, които получават ACE-инхибитор от началото на BENEDICT-A. В тази група AER на изходното ниво не предсказва ССЗ и в нея те са по-малко по време на целия период на наблюдение, в сравнение с групата пациенти, които започват терапия с ACE-инхибитор след завършването на BENEDICT-A. Това потвърждава хипотезата, че ранната терапия с ACE-инхибитор осигурява по-голяма кардиопротекция, в сравнение с по-късното му започване, предложена от авторите на проучването HOPE-TOO. Вероятно навременното потискане на активираната RAS води до запазване функцията и структурата на съдовите ендотелни клетки, което осигурява специфичен дългосрочен протективен ефект срещу макроваскуларните на ЗД-2.

Основно ограничение на проучването е, че то е продължение на клинично изпитване, което първоначално е програмирано с друга цел. Затова получените резултати трябва да бъдат потвърдени от *ad hoc* лонгитудинални проучвания. Въпреки това данните, събрани от почти 90% от пациентите, завършили BENEDICT-A, отговарят на изискванията на предварително планиран мониторинг и са потвърдени от изчерпателната информация за фаталните случаи, получена от Здравният регистър на Област Бергамо, Италия. Характеристиките на изходното ниво на пациентите, които участват и не участват в Удълженото проучване, както и на пациентите, рандомизирани да получават или да не получават ACE-инхибитор, са подобни. За разлика от цитираните по-горе проучвания, представеното изследване единствено до момента, успява да покаже, че албуминурията е независим предиктор на кардиоваскуларния риск в популация от пациенти само със ЗД-2 и нормоалбуминурия. Периодът на проследяване (~10 години), е най-дълъг в сравнение с дискутираните подобни проучвания. Важно предимство е централизираното изследване на лабораторните показатели и измерването на AER

в три последователни нощни колекции на урина, което се счита за метод златен стандарт. Съответствието на резултатите, получени с помощта на многофакторния анализ с полиноминална трансформация на AER, с тези получени при моделиране на изходната албуминурия с функция spline, допълнително доказва валидността на данните от изследването.

В заключение, това е първото голямо, лонгитудинално проучване при хипертензивни пациенти със ЗД-2 и нормоалбуминурия, което показва, че всяко ниво на AER, в границите на нормалните стойности, е асоциирано със значим сърдечно-съдов риск, независимо от другите РФ, като асоциацията е непрекъсната и няма гранична стойност на AER, която да разделя пациентите на такива с или без риск. Следователно, дори минималното намаляване на нормалните стойности на албуминурията може да ограничи ССЗ в дългосрочен план. Фактът, че ранното инхибиране на ACE премахва наблюдаваната асоциация между нормоалбуминурията и сърдечно-съдовия риск ще даде възможност за ограничаване на повишения кардиоваскуларен риск при пациентите със ЗД-2.

5.3. Изследване дали добавянето на ndCCB верапамил към ACE-инхибитора трандолаприл може допълнително да забави прогресията на микроалбуминурията до макроалбуминурия (основна цел), да потенцира регресията на микроалбуминурията до нормоалбуминурия и да ограничи ССЗ (вторични цели) при хипертензивни пациенти със ЗД-2, микроалбуминурия и нормална бъбречна функция

Проучването BENEDICT-B установява, че при сравним контрол на АН и на метаболитния профил, добавянето на ndCCB верапамил към ACE-инхибитора трандолаприл не забавя допълнително прогресията на микроалбуминурията до макроалбуминурия и не потенцира регресията на микроалбуминурията до нормоалбуминурия, в сравнение с трандолаприл, приложен самостоятелно при пациенти със ЗД-2, АХ и микроалбуминурия, проследени средно за 4.5 години. Честота на значимите ССЗ е сравнима между двете групи.

Получените резултати са в съответствие с резултатите от BENEDICT-A, които показват, че при пациенти със ЗД-2 и нормоалбуминурия верапамил не проявява специфичен превентивен ефект срещу повишаването на албуминурията и не потенцира ренопротективния ефект на ACE-инхибитора. Оспорват се и данните от двегодишно рандомизирано проучване, което докладва, че добавянето на ndCCB дилтиазем към ACE-инхибитора каптоприл забавя прогресията на

микроалбуминурия към макроалбуминурия по-успешно, в сравнение с контролната група, която приема само каптоприл при пациенти със ЗД-2. Валидността на тези резултати обаче намалява от факта, че проучването е с малък брой пациенти, които са разпределени небалансирано в терапевтичните групи. Още по-важно е, че комбинираната терапия води до по-голямо понижаване на АН в сравнение с каптоприл, приложен самостоятелно.

Представените резултати от BENEDICT-A и BENEDICT-B, и критичната оценка на наличните публикации позволяват да се направи извода, че ndCCBs нямат специфичен ренопротективен ефект при пациенти със ЗД-2, с или без ДН.

Важен резултат от BENEDICT-B е, че независимо от вида на приложената терапия само 11.7% от пациентите развиват макроалбуминурия, докато при 47.3% се наблюдава регресия до нормоалбуминурия. Ниският процент на прогресия и високият процент на регресия на микроалбуминурията не могат да бъдат обяснени само с добрия контрол на АН и на метаболитния профил. Ренопротективният механизъм при инхибирането на ACE е комплексен и включва намаляване на гломерулното капилярно налягане, поради дилатация на еферентната артериола, което ограничава трафика на албумините през ГБМ. Това намалява и навлизането на албумините в проксималните тубулни клетки като лимитира нефротоксичния им ефект в тях. За ренопротективното действие допринася и потенцирането на ефектите на брадикинина, NO, PGI2 и Ang 1-7, които предизвикват вазодилатация, натриуреза и стимулират разграждането на екстрацелуларния матрикс. Не без значение е и потискането на ефектите на Ang II върху сигналните пътища на инсулина в ендотелните клетки, увеличената перфузия в скелетните мускули и подобрената микроциркулация в панкреасните островни клетки, което води до намаляване на инсулиновата резистентност – патофизиологичната основа за развитието на ЗД-2 и микроалбуминурията. Описаните механизми са толкова по-ефективни, колкото по-рано се инхибира ACE. Следователно, за клиничната практика е важно ранното откриването на пациентите с микроалбуминурия, в момента, когато бъбречното увреждане е все още обратимо. Това би дало възможност за постигане на ремисия на микроалбуминурията, за ограничаване прогресията на ДН и намаляване на повишения риск от ТБН.

Докладваните резултати са добре сравними с данните от проучвания, изследващи антипротеинуричния ефект на ARBs при пациенти със ЗД-2 и ДН, което показва, че ACE-инхибиторите са не по-малко ефективни от ARBs в

стабилизирането или в регресията на микроалбуминурията. ACE-инхибиторите имат по-добър профил ефективност/разходи, защото са по-евтини и повечето от тях не са патентовани, в сравнение с ARBs, което е решаващо предимство за Здравноосигурителните системи.

Друг нов резултат в проучването е, че само при 13% от пациентите, които регресират до нормоалбуминурия се наблюдават сериозни ССЗ, в сравнение с 28% от пациентите, които са с трайна микроалбуминурия или прогресират до макроалбуминурия. Намаляването на ССЗ с 50% при пациентите с регресия до нормоалбуминурия не може да бъде обяснено с добрия контрол на АН и метаболитния профил, и с по-ефективното инхибиране на RAS, защото АН и HbA_{1c} са подобни между двете групи и всички пациенти приемат еднаква доза трандолаприл. Разликата в честотата на ССЗ между групите се запазва значима и след коригиране за влиянието на изходните РФ като давност на диабета, СКН, ДКН, HbA_{1c} и AER. Следователно, регресията на микроалбуминурията до нормоалбуминурия сама по себе си (*per se*) е предиктор на намаляването на ССЗ, независимо от цялостния сърдечно-съдов риск при започването на проучването.

По-малко от 15% от пациентите прекъсват приемането на ВераТран или трандолаприл поради появата на суха кашлица, която изчезва след спирането на лекарството. Не са наблюдавани случаи на тежка хиперкалиемия или остро влошаване на бъбречните показатели, налагащи преустановяване на лечението в двете групи. Нито един пациент не прекъсва преждевременно проучването поради НЛР, свързани с добавянето на верапамил към трандолаприл. Това потвърждава безопасния профил на приложената комбинация. Наблюдаваното първоначално по-високо ниво на злокачествени заболявания сред пациентите с ремисия до нормоалбуминурия най-вероятно е случаен ефект (effect of chance), защото изчезва когато фаталните и нефаталните злокачествени заболявания се разглеждат заедно.

Предимства и недостатъци

Честота на пациентите развили макроалбуминурия е по-ниска от очакваната, изчислена въз основа на резултатите от изследването IRMA-2. Колкото по-голям от очаквания е протективният ефект на трандолаприл, толкова повече намалява силата на анализите да демонстрират допълнителен протективен ефект на верапамил, което може да е грешка от втори род. Фактът, че в групата ВераТран има тенденция за по-висока честота на прогресия към макроалбуминурия показва, че

верапамил не потенцира допълнително ефекта на трандолаприл срещу развитието на макроалбуминурия.

В изследването липсва контролна група с антихипертензивни лекарства, които не влияят върху RAS, защото при започването на BENEDICT-B са налични доказателства, че RAS-инхибиторите имат специфичен протективен ефект срещу прогресията на микроалбуминурията към макроалбуминурия, което не позволява от етична гледна точка включване на пациенти, които да бъдат без инхибитор на RAS.

Предимства на изследването са неговият дизайн (проспективно, рандомизирано, двойно-сляпо, с паралелни групи проучване), използването на процедури златен стандарт за измерване на АН и AER, и централизираното измерване на всички лабораторни показатели. Валидността на получените резултати се засилва от почти идентичния контрол на АН и метаболитния профил между двете групи.

В заключение, при комбинираното инхибиране на ACE и на бавните L-тип потенциал-зависими калциеви канали, въпреки очаквания ефект на потенциране, поради подобното повлияване на бъбречната хемодинамика, не се наблюдава допълнително забавяне на прогресията или увеличаване на регресията на микроалбуминурията и не се установява допълнително намаляване на CC3 при пациенти със ЗД-2, АХ и микроалбуминурия. Явно, инхибирането на ACE води до добър хемодинамичен ефект на ниво бъбреци, който не се потенцира допълнително от блокирането на калциевите канали с ndCCBs. От друга страна, блокирането на тези канали не повлиява митогенните и метаболитните ефекти на Ang II и ET-1. Затова, в практиката не може да бъде добавен ndCCB към ACE-инхибитор с цел потенциране на нефро- и кардиопротективните ефекти на ACE-инхибитора. Комбинацията между ACE-инхибитор и ndCCB обаче проявава добър антихипертензивен ефект и може да бъде използвана за по-лесно постигане на препоръчваните таргетни стойности на АН, което би ограничило добавянето на други антихипертензивни лекарства.

Независимо от блокирането или не на калциевите канали, навременното инхибиране на ACE води до регресия на микроалбуминурията при приблизително половината от пациентите. За това допринасят, освен благоприятното повлияване на бъбречната хемодинамика, също и натрупването на брадикинин, азотен оксид (NO), PGI2 и Ang 1-7, които потенцират вазодилатацията и натриурезата, потискат оксидативния стрес, развитието на фиброза и стимулират разграждането на

екстрацелуларния матрикс. Не по-малко важно е и антагонизирането на увреждащото действие на Ang II върху ГБМ, което намалява нейния пермеабилитет и подобряването на инсулиновата резистентност, един от основните патогенетични фактори в развитието на ЗД-2 и неговите микро- и макроваскуларни усложнения.

Фактът, че регресията на микроалбуминурията до нормоалбуминурия е асоциирана със значима кардиоваскуларна протекция показва, че намаляването на албуминурията до нормалния диапазон би могло да бъде терапевтична цел в превенцията на сърдечно-съдовите заболявания при пациентите със ЗД-2.

За клиничната практика е важно ранното откриване на пациентите с микроалбуминурия и навременното започване на терапията с АСЕ-инхибитор, което би ограничило бъбречните и сърдечно-съдовите усложнения при ЗД-2.

5.4. Изследване ефектите на даглутрил, инхибитор на ECE и NEP, върху албуминурията, артериалното налягане, бъбречната функция и профила на безопасност на фона на лосартан, при пациенти със ЗД-2 и диабетна нефропатия (микро- и макроалбуминурия)

Това е първото рандомизирано клинично проучване, което изследва ефектите и профила полза/риск на комбинирания ECE/NEP инхибитор даглутрил, на фона на лосартан, при пациенти със ЗД-2, ДН и АХ. Намираме, че 8 седмичното лечение с даглутрил води до понижаване на амбулаторното 24-часово АН. Лечението е безопасно и се понася добре.

Лечението на систолната хипертония е сериозен проблем при повечето пациенти със ЗД-2 и ДН. Съчетаването ѝ с повишено пулсово налягане, резултат от уплътняване на съдовата стена, е един от основените сърдечно-съдови РФ и често я прави резистентна на използваните лекарства. Намираме, че даглутрил понижава измереното в лекарския кабинет и амбулаторното 24-часово СКН. Ефектът му върху ДКН е много по-слабо изразен. Намаляването на СКН често е свързано с понижаване на ДКН, което води до ограничаване на левокамерната перфузия и повишава риска от сърдечно-съдови усложнения. Откриването на лекарство, което намалава систолното и пулсовото налягане с минимален ефект върху ДКН, би имало важно клинично значение. Ефектът на даглутрил върху 24-часовото АН е по-изразен през нощния период. Това също е релевантно, тъй като нарушаването на физиологичното понижение на АН през нощта, наблюдавано често при пациентите с ДН, е ранен и силен предиктор на ССЗ. По време на лечението с плацебо се установява сигнификантно повишение на СКН и ДКН, измерени в лекарския кабинет

и на 24-часовото ДКН, което вероятно е резултат от прогресирането на бъбречното заболяване, влошаващо АХ. Даглутрил поддържа всички стойности на АН, измерени в лекарския кабинет и намалява систолното и пулсовото налягане в 24-часовия запис. Повишаването на серумната концентрация на Big-ET-1 при приложението на даглутрил показва, че понижаването на АН се дължи на инхибирането на ECE, което намалява синтеза на ET-1 и ограничава вазоконстрикторния му ефект. По време на проучването не са извършвани промени в съпътстващата антихипертензивна терапия и ежедневния прием на сол, които биха могли да повлияят на получените резултати. При преминаване на пациентите от терапия с даглутрил към терапия с плацебо ефектите на лекарствата не се припокриват, защото продължителността на периода на отмиване от ефекта на даглутрил е съобразен с плазмения му полуживот. Авторегресионният модел доказва, че даглутрил има антихипертензивен ефект, добре изразен върху СКН през целия 24-часов период. Чувствителните анализи потвърждават достоверността на резултатите. Следователно, намаляването на АН е реален ефект от терапията с даглутрил.

В литературата има данни, че антагонистите на ендотелин А (ET_AP) и на ендотелин В (ET_BP) рецепторте проявяват антихипертензивен и антипротеинуричен ефект, но в същото време се докладва и за висок процент на НЛР, свързани със задържане на течности и поява на отоци. Тези НЛР са свързани най-вече с компрометирането на диуретичния и натриуретичния ефект на ET-1, модулирани от ET_BP в тубулната система на нефрона. Фактът, че НЛР се появяват и при използването на селективни антагонисти на ET_AP от една страна потвърждава наличието на относителност в този антагонизъм, а от друга страна поставя въпроса за ролята и на ET_AP в регулацията на диурезата. На фона на тези разсъждения не бива да се забравя и експерименталното изследване на Lenoir и сътрудници, които допускат, че потискането на ET_BP също е необходимо за постигне на максимален нефропротективен ефект от блокирането на рецепторите на ET-1. Явно, необходимо е да се работи още много за да се изяснят сложните механизми на регулация на ET-та система и значението на тяхното повливане. В това отношение представеното проучване е стъпка напред, защото даглутрил инхибира ECE и потиска образуването на ET-1 без да засяга рецепторите му. Така те могат да окажат своето модулиращо действие върху натриурезата и диурезата. В действителност, само при 4 от пациентите, приемащи даглутрил се регистрира задържане на течности, което не налага прекратяване на терапията. Трима от пациентите са с периферен оток и един

с оток на лицето. При единия от пациентите периферният оток се оказва резултат от вазодилатиращия ефект на dCCB ласидипин и изчезва след намаляване на дозата му от 8 mg/ден на 4 mg/ден и повишаване дозата на диуретика хидрохлоротиазид от 25 mg/ден на 50 mg/ден. При втория пациент отокът не отминава след увеличаване дозата на хидрохлоротиазид от 12.5 mg/ден до 25 mg/ден и тъй като се задържа 2 седмици след прекратяване на терапията и участието в проучването се преценява, че отокът е резултат от съпровождащото бъбречно заболяване и не е ефект, свързан с лечението. Отокът на лицето е свързан с признаци за задръжане на течности (наддаване на тегло, намалена концентрация на хематокрит и хемоглобин) и отминава след приключване на лечението. Като цяло, обаче, даглутрил не предизвиква промяна в концентрацията на хемоглобина и хематокрита, което показва, че рискът от задържане на течности е много малък и че профилът му полза/риск е по-благоприятен в сравнение с антагонистите на рецепторите на ET-1. Важен факт е липсата на ангиоедем при участниците в проучването, тъй като при комбинирането на ACE-инхибитори с инхибитори на NEP е установена повишена честота на ангиоедема, свързано с потиснатото разграждане на брадикинина и повишената концентрация на NO. Вероятно, намаленият синтез на ET-1 от даглутрил ограничава до известна степен активирането на ET_BP в ендотелните клетки, което се оказва достатъчно за намаляване на производството на NO и съответно за риска от ангиоедем. По време на лечението с даглутрил се наблюдават още две НЛР, които не налагат прекратяване на терапията (AV-блок I степен и преходна хипотония). Това потвърждава безопасното приложение на новата молекула.

Даглутрил, сравнен с плацебо, не води до значими промени в 24-часовата AER, бъбречната хемодинамика или фракционните клирънси на албумина и IgG. При потискане синтеза на ET-1 е логично да се очаква понижение на AER, поради постгломерулярната вазодилатация и намалението на бъбречното перфузионно налягане. Какво би могло да противодейства на този механизъм? Увеличаването на NP, в резултат на инхибирането на NEP, би могло да повиши пропускливостта на ГБМ за плазмените албумини и да индуцира вазодилатация на аферентните и вазоконстрикция на еферентните артериоли на гломерулите, което поддържа гломерулната перфузия и филтрация, въпреки понижаването на АН. Тази хипотеза може да обясни защо даглутрил не намалява СГФ и реналния плазмен ток.

В проучването участват повече мъже, което се дължи на по-високата честота на ДН при мъжкия пол. Няма информация за разлики в ефекта на ЕТ върху АН при мъжете и жените. Докладвано е също за подобен антихипертензивен ефект на антагонистите на ЕТ-1 при двата пола. Следователно, големият брой мъже не оказва влияние върху приравняването на данните към двата пола.

Значимостта на резултатите се повишава от дизайна cross-over, който позволява да се избегне интерперсоналната вариабилност на данните. Амбулаторното АН, AER и бъбречните функционални показатели са изследвани с методи златни стандарти. Сигурността на данните се потвърждава и от резултатите от анализите на показателите за ефикасност, предвидени по протокол, които са подобни на резултатите, получени от модифицирания intention-to-treat анализ, включващ всички пациенти получили поне една доза от изследваното лекарство.

В заключение, това е първото рандомизирано клинично проучване, което установява, че при пациенти със ЗД-2, АХ и ДН, даглутрил, комбиниран орален инхибитор на ECE и NEP, приложен на фона на лосартан, намалява амбулаторното СКН. Понижаването на АН е резултат от инхибирането на ECE, при което се ограничава синтеза и ефекта на мощния вазоконстриктор ЕТ-1. Благоприятният профил полза/риск на даглутрил в сравнение с антагонистите на рецепторите на ЕТ-1 показва, че комбинираното инхибиране на ECE и NEP може да бъде ефективна антихипертензивна терапия в тази високорискова популация от пациенти.

VI. ИЗВОДИ

I. Диабетна нефропатия, профилактика и лечение

При хипертензивни пациенти със захарен диабет тип 2:

1. Инхибирането на ACE е асоциирано със специфичен ренопротективен ефект, който при пациентите с нормоалбуминурия води до превенция на микроалбуминурията, а при пациентите с микроалбуминурия, освен че забавя нейната прогресия до макроалбуминурия, предизвиква също и регресия до нормоалбуминурия. Ренопротективният ефект е независим от понижаването на артериалното налягане и не се наблюдава при другите антихипертензивни лекарства. Затова инхибиторите на ACE трябва да бъдат:

   а) посочвани като лекарства на първи избор за превенция на микроалбуминурията

   б) предписвани за лечение на микроалбуминурията във възможно най-ранната фаза от нейното появяване
2. Блокирането на бавните L-тип потенциал-зависими калциеви канали с ndCCBs не проявява специфичен ренопротективен ефект при пациентите с нормоалбуминурия. Затова ndCCBs не могат да бъдат използвани за превенция на микроалбуминурията.
3. Комбинираното инхибиране на ACE и на бавните L-тип потенциал-зависими калциеви канали не води до потенциране на ренопротективния ефект, установен при самостоятелното инхибиране на ACE, при пациентите с нормоалбуминурия и микроалбуминурия. Затова:

   а) един ndCCB не може да бъде добавен към ACE-инхибитор с цел потенциране на ренопротективния ефект на ACE-инхибитора

   б) комбинацията между ACE-инхибитор и ndCCB може да бъде използвана за по-лесно постигане на препоръчваните таргетни стойности на артериалното налягане, което ще ограничи добавянето на други антихипертензивни лекарства
4. Комбинираното инхибиране на ECE и NEP, на фона на антагонизма на рецепторите на ангиотензин II, не проявява специфичен нефропротективен ефект при пациентите с диабетна нефропатия (микро- и макроалбуминурия) и не може да бъде използвано за нейното лечение.
5. Комбинираното инхибиране на ECE и NEP, на фона на антагонизма на рецепторите на ангиотензин II, проявява добър антихипертензивен ефект, който

може да има клинично приложение като нов подход за ефективна и безопасна антихипертензивна терапия при пациентите със ЗД-2 и ДН.

II. Нормоалбуминурия, кардиоваскуларен риск, инхибиране на АСЕ

При хипертензивни пациенти със захарен диабет тип 2:

1. Нормоалбуминурията предсказва дългосрочен кардиоваскуларен риск, независимо от другите РФ и няма гранична стойност на албуминурията, която да разделя пациентите на такива с или без риск.
2. Инхибирането на АСЕ при пациентите с нормоалбуминурия премахва предиктивното значение на албуминурията по отношение на сърдечно-съдовите заболявания и осигурява дългосрочна кардиопротекция. За клиничната практика е важно навременното започване на терапия с АСЕ-инхибитор при тези пациенти.
3. Регресията на микроалбуминурията до нормоалбуминурия, установена при инхибирането на АСЕ, сама по себе си *(per se)* е асоциирана с намаляване на сърчено-съдовия риск и би могла да се превърне в терапевтична цел при превенцията на сърдечно-съдовите заболявания.

VII. ПРИНОСИ
7.1. НАУЧНО-ТЕОРЕТИЧНИ ПРИНОСИ

I. Диабетна нефропатия, профилактика и лечение

При хипертензивни пациенти със захарен диабет тип 2:

1. За първи път голямо клинично рандомизирано проучване показва, че инхибирането на ACE успешно намалява честотата на поява на микроалбуминурия. За сега не са установени други механизми за нейната превенция, което показва превъзходството на ACE-инхибиторите пред останалите антихипертензивни лекарства в профилактиката на ДН.
2. Доказва се, че ранното инхибиране на ACE води до ремисия на микроалбуминурията при почти 50% от пациентите, което ограничава прогресията на ДН.
3. Доказва се, че блокирането на бавните L-тип потенциал-зависими калциеви канали с ndCCBs, не ограничава честотата на поява на микроалбуминурия. Това помага за разрешаване противоречията в научната литература относно ролята на ndCCBs в профилактиката на ДН.
4. Доказва се, че комбинираното инхибиране на ACE и на бавните L-тип потенциал-зависими калциеви канали не води до потенциране на ренопротективния ефект, установен при самостоятелното инхибиране на ACE, при пациентите с нормоалбуминурия и микроалбуминурия. Това показва, че един ndCCB не може да бъде добавен към ACE-инхибитор с цел потенциране на ренопротективния ефект на ACE-инхибитора.
5. Потвърждава се, че комбинираното инхибиране на ACE и на бавните L-тип потенциал-зависими калциеви канали проявава добър антихипертензивен ефект.
6. За първи път се установява, че при пациентите с микро- и макроалбуминурия, комбинираното инхибиране на ECE и NEP, на фона на антагонизма на рецепторите на ангиотензин II, не намалява албуминурията и не проявява ренопротективен ефект. Показва се, че този подход не може да се използва за лечение на ДН.
7. За първи път се установява, че при пациентите с микро- и макроалбуминурия комбинираното инхибиране на ECE и NEP на фона на антагонизма на рецепторите на ангиотензин II проявява добър антихипертензивен ефект. Това може да бъде нов подход за ефективна и безопасна антихипертензивна терапия при пациентите със ЗД-2 и ДН.

II. Нормоалбуминурия, кардиоваскуларен риск, АСЕ-инхибитори

При хипертензивни пациенти със захарен диабет тип 2:

1. За първи път, само в популация от пациенти със ЗД-2 и нормоалбуминурия се установява, че и нормалните стойности на албуминурията предсказват повишен дългосрочен кардиоваскуларен риск, независимо от другите РФ и че няма гранична стойност на албуминурията, която да разделя пациентите на такива с или без риск.
2. Потвърждава се, че предиктивното значение на нормоалбуминурията по отношение на сърдечно-съдовите заболявания изчезва при навременно потискане активността на RAS чрез инхибиране на АСЕ.
3. Показва се, че регресията на микроалбуминурията до нормоалбуминурия сама по себе си (*per se*) е предиктор на намаляването на сърдечно-съдовите заболявания, независимо от цялостния сърдечно-съдов риск.

7.2. НАУЧНО-ПРИЛОЖНИ ПРИНОСИ

I. Диабетна нефропатия, профилактика и лечение

При хипертензивни пациенти със захарен диабет тип 2:

1. Специфичният ренопротективен ефект, наблюдаван при инхибирането на АСЕ, дава основание АСЕ-инхибиторите да бъдат посочени като лекарства на първи избор за превенция на микроалбуминурията в препоръките на редица европейски и американски асоциации. Очаква се това да ограничи заболеваемостта от ДН и асоцииираните сърдечно-съдови усложнения.
2. Ранното идентифициране на пациентите с микроалбуминурия и навременното започване на терапия с АСЕ-инхибитор ще даде възможност за ремисия на микроалбуминурията, ще ограничи прогресията на ДН и ще намали сърдечно-съдовата заболеваемост.
3. Комбинираното приложение на АСЕ-инхибитор и ndCCB може да бъде използвано за по-лесно постигане на препоръчваните таргетни стойности на артериалното налягане при пациентите с нормоалбуминурия и микроалбуминурия, което ще ограничи разходите по добавянето на други антихипертензивни лекарства и ще осигури по-добър комплайънс от страна на болните.
4. Комбинираното инхибиране на ECE и NEP с даглутрил 300 mg/ден, на фона на ARB, може да бъде ефективна и безопасна антихипертензивна терапия при пациентите с ДН.

II. Нормоалбуминурия, кардиоваскуларен риск, АСЕ-инхибитори

При хипертензивни пациенти със захарен диабет тип 2 и нормоалбуминурия:

1. Навременното започване на терапия с АСЕ-инхибитор би осигурило дългосрочна кардиопротекция.
2. Дори минималното намаляване на стойностите на албуминурията, които са в нормалните референтни граници, чрез подобряване на инсулиновата чувствителност, метаболитния профил, артериалното налягане, загубата на тегло, може да ограничи повишения кардиоваскуларен риск в дългосрочен план.
3. Регресията на микроалбуминурията до нормоалбуминурия, която се наблюдава при инхибирането на АСЕ, би могла да се превърне в терапевтична цел при превенцията на сърдечно-съдовите заболявания.

VIII. ПУБЛИКАЦИИ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД И СПРАВКА ЗА ЧАСТ ОТ ЗАБЕЛЯЗАНИТЕ ЦИТИРАНИЯ

1. Ruggenenti P, Fassi A, **Ilieva AP**, Bruno S, Iliev IP, Brusegan V, Rubis N, Gherardi G, Arnoldi F, Ganeva M, Ene-Iordache B, Gaspari F, Perna A, Bossi A, Trevisan R, Dodesini AR, Remuzzi G; Bergamo Nephrologic Diabetes Complications Trial (BENEDICT) Investigators. Preventing microalbuminuria in type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2004; 351(19):1941-1951. **IF=38.57; Цитирания: 986**
2. Ruggenenti P, Fassi A, **Ilieva A**, Iliev IP, Chiurchiu C, Rubis N, Gherardi G, Ene-Iordache B, Gaspari F, Perna A, Cravedi P, Bossi A, Trevisan R, Motterlini N, Remuzzi G; BENEDICT-B Study Investigators. Effects of verapamil added-on trandolapril therapy in hypertensive type 2 diabetes patients with microalbuminuria: the BENEDICT-B randomized trial. *J Hypertens.* 2011; 29(2): 207-216. **IF=4.021; Цитирания: 36**
3. Ruggenenti P, Porrini E, Motterlini N, Perna A, **Ilieva AP**, Iliev IP, Dodesini AR, Trevisan R, Bossi A, Sampietro G, Capitoni E, Gaspari F, Rubis N, Ene-Iordache B, Remuzzi G; BENEDICT Study Investigators. Measurable urinary albumin predicts cardiovascular risk among normoalbuminuric patients with type 2 diabetes. *J Am Soc Nephrol.* 2012; 23(10): 1717-1724. **IF=8.987; Цитирания: 46**
4. **Parvanova A**, van der Meer IM, Iliev I, Perna A, Gaspari F, Trevisan R, Bossi A, Remuzzi G, Benigni A, Ruggenenti P; Daglutril in Diabetic Nephropathy Study Group. Effect on blood pressure of combined inhibition of endothelin-converting enzyme and neutral endopeptidase with daglutril in patients with type 2 diabetes who have albuminuria: a randomised, crossover, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2013; 1(1): 19-27. **Цитирания: 18**
5. **Parvanova A**, Chiurchiu C, Ruggenenti P, Remuzzi G. Inhibition of the renin-angiotensin system and cardio-renal protection: focus on losartan and angiotensin receptor blockade. *Expert Opin Pharmacother.* 2005; 6(11): 1931-1942. **IF=1.823; Цитирания: 10**
6. Ruggenenti P, Iliev I, Costa GM, **Parvanova A**, Perna A, Giuliano GA, Motterlini N, Ene-Iordache B, Remuzzi G; Bergamo Nephrologic Diabetes Complications Trial Study Group. Preventing left ventricular hypertrophy by ACE inhibition in hypertensive patients with type 2 diabetes: a prespecified analysis of the Bergamo Nephrologic Diabetes Complications Trial (BENEDICT). *Diabetes Care.* 2008; 31(8): 1629-1634. **IF=7.349; Цитирания: 23**

7. Ruggenenti P, Lauria G, Iliev IP, Fassi A, **Ilieva AP**, Rota S, Chiurchiu C, Barlovic DP, Sghirlanzoni A, Lombardi R, Penza P, Cavaletti G, Piatti ML, Frigeni B, Filipponi M, Rubis N, Noris G, Motterlini N, Ene-Iordache B, Gaspari F, Perna A, Zaletel J, Bossi A, Dodesini AR, Trevisan R, Remuzzi G; DEMAND Study Investigators. Effects of manidipine and delapril in hypertensive patients with type 2 diabetes mellitus: the delapril and manidipine for nephroprotection in diabetes (DEMAND) randomized clinical trial. *Hypertension*. 2011; 58(5): 776-783. **IF=6.207; Цитирания: 44**
8. **Parvanova A**, Trevisan R, Iliev I, Dimitrov BD, Vedovato M, Tiengo A, Remuzzi G, Ruggenenti P. Insulin resistance and microalbuminuria, A Cross-sectional, case-control study of 158 patients with type 2 diabetes and different degrees of urinary albumin excretion. *Diabetes* 2006; 55: 1456-1462. **IF=7.955; Цитирания: 136**
9. **Parvanova A,** Dimitrov BD, Ruggenenti P, Iliev I, Tolekova A, Trevisan R, Remuzzi G. Insulin resistance as a marker of type 2 diabetic nephropathy. *Proceedings of the Jubilee Scientific Conference of Thracian University,* Stara Zagora, October 2002 (In English): 12-16.
10. **Parvanova A**, Pisoni R, Dimitrov BD, Iliev I, Perna A, Ruggeneti P, Stucchi N, Lutz J, Remuzzi G. Relative renoprotective effect of ACE inhibitors (ACEi), angiotensin II antagonists (ATA), ACEi and ATA combination and dihydropyridine calcium channel blockers (dCCBs) in overt diabetic nephropathy of Type 2 diabetes. *J Am Soc Nephrol.* 2001; 12: A0802. **IF=6.33; Цитирания: 7**
11. Vogt L, Chiurchiu C, Chadha-Boreham H, Danaietash P, Dingemanse J, Hadjadj S, Krum H, Navis G, Neuhart E, **Parvanova AI,** Ruggenenti P, Woittiez AJ, Zimlichman R, Remuzzi G, de Zeeuw D; PROLONG (PROteinuria Lowering with urOteNsin receptor antaGonists) Study Group. Effect of the urotensin receptor antagonist palosuran in hypertensive patients with type 2 diabetic nephropathy. *Hypertension*. 2010; 55(5): 1206-1209. **IF=6.908; Цитирания: 26**
12. Ruggenenti P, Perna A, Ganeva M, Ene-Iordache B, Remuzzi G; **BENEDICT Study Group**. Impact of blood pressure control and angiotensin-converting enzyme inhibitor therapy on new-onset microalbuminuria in type 2 diabetes: a post hoc analysis of the BENEDICT trial. *J Am Soc Nephrol.* 2006; 17(12): 3472-3481. **IF=7.371;**
    Цитирания: 59
13. **BENEDICT Group.** The BErgamo NEphrologic DIabetes Complications Trial (BENEDICT): design and baseline characteristics. Control Clin Trials. 2003; 24(4): 442-461. **IF=1.869; Цитирания: 11**

14. De Cosmo S, Motterlini N, Prudente S, Pellegrini F, Trevisan R, Bossi A, Remuzzi G, Trischitta V, Ruggenenti P; **BENEDICT Study Group**: Impact of the PPAR-gamma2 Pro12Ala polymorphism and ACE inhibitor therapy on new-onset microalbuminuria in type 2 diabetes: evidence from BENEDICT. *Diabetes.* 2009; 58: 2920–2929. **IF=8.505; Цитирания: 22**
15. Bettinaglio P, Galbusera A, Caprioli J, Orisio S, Perna A, Arnoldi F, Bucchioni S, Noris M; **BENEDICT Study Group.** Single conformation polymorphism (SSCP) as a quick and reliable method to genotype M235T polymorphism of angiotensinogen gene. *Clin Biochem*. 2002; 35(5): 363-368. **IF=1.724; Цитирания: 20**
16. Ilieva G, Tolekova A, Slavov E, **Parvanova A**, Logofetov A. The change of Electrolyte Balance and Renin-Angiotensin-Aldosterone system after peroral and intraperitoneal treatment with Nifedipine. In: Acid-Base and Electrolyte Balance, Molecular, Cellular, and Clinical aspects (eds. Natale Gaspare De Santo end Giovambatista Capasso), Papers from the Second G.A.Borelli Conference, presented July 8 and 9,1995, Istituto Italiano per gli Studi Filosofici, Naples, 1995, 335-340.
17. Tolekova A, Ilieva G, **Parvanova A**. Comparison of the effects on RAAS of the combination of ACE inhibition with calcium channel blockade. *IMAB Annual proceedings (scientific papers).* 1996; 2(1): 209-210.
18. Илиева Г, Толекова А, **Първанова А**. Промени в ренин-ангиотензин-алдостероновата система и електролитния баланс след инхибиране на волтаж-зависимите калциеви каналчета и ангиотензин-конвертиращия ензим. Седма национална конференция “Съвременни тенденции в развитие на фундаменталните и приложни науки”, 6-7 юни, 1996 г. *Сборник от доклади.* 1996, 259-264.
19. Илиева Г, Толекова А, **Първанова А**. Промени във водно-солевия баланс и някои хематологични показатели след въздействие с Nifedipine. Седма национална конференция “Съвременни тенденции в развитие на фундаменталните и приложни науки”, 6-7 юни, 1996 г. *Сборник от доклади.* 1996; 274-279.

Справката за броя на цитиранията е направена в Google Scholar към 28/12/2015.

Част от забелязаните цитирания на статията:

Ruggenenti P, Fassi A, **Ilieva AP**, Bruno S, Iliev IP, Brusegan V, Rubis N, Gherardi G, Arnoldi F, Ganeva M, Ene-Iordache B, Gaspari F, Perna A, Bossi A, Trevisan R, Dodesini AR, Remuzzi G; Bergamo Nephrologic Diabetes Complications Trial (BENEDICT) Investigators. Preventing microalbuminuria in type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2004; 351(19):1941-1951. **IF=38.57; Цитирания: 986**

1. Robles, N. R., et al. (2006). "Practical management of oral antidiabetics in patients with renal disease." Nefrologia 26(5): 538-558.
2. Ritz, E. and R. Dikow (2006). "Hypertension and antihypertensive treatment of diabetic nephropathy." Nature Clinical Practice Nephrology 2(10): 562-567.
3. Retnakaran, R., et al. (2006). "Risk factors for renal dysfunction in type 2 diabetes - UK prospective diabetes study 74." Diabetes 55(6): 1832-1839.
4. Remuzzi, G. and P. Ruggenenti (2006). "Overview of randomised trials of ACE inhibitors." Lancet 368(9535): 555-556.
5. Remuzzi, G., et al. (2006). "Prevention and treatment of diabetic renal disease in type 2 diabetes: The BENEDICT study." Journal of the American Society of Nephrology 17(4): S90-S97.
6. Remuzzi, G., et al. (2006). "Mechanisms of progression and regression of renal lesions of chronic nephropathies and diabetes." Journal of Clinical Investigation 116(2): 288-296.
7. Pascual, J. M., et al. (2006). "Determinants of urinary albumin excretion reduction in essential hypertension: a long-term follow-up study." Journal of Hypertension 24(11): 2277-2284.
8. Parving, H. H., et al. (2006). "Prevalence and risk factors for microalbuminuria in a referred cohort of type II diabetic patients: A global perspective." Kidney International 69(11): 2057-2063.
9. Palmer, A. J., et al. (2006). "Cost-consequence analysis in a French setting of screening and optimal treatment of nephropathy in hypertensive patients with type 2 diabetes." Diabetes & Metabolism 32(1): 69-76.
10. Palatini, P., et al. (2006). "Glomerular hyperfiltration predicts the development of microalbuminuria in stage 1 hypertension: The HARVEST." Kidney International 70(3): 578-584.
11. Ochodnicky, P., et al. (2006). "Microalbuminuria and endothelial dysfunction: Emerging targets for primary prevention of end-organ damage." Journal of Cardiovascular Pharmacology 47: S151-S162.
12. Navarro, J. F. and C. Mora (2006). "Diabetes, inflammation, proinflammatory cytokines, and diabetic nephropathy." Thescientificworldjournal 6: 908-917.
13. Locatelli, F., et al. (2006). "Renal manifestations in the metabolic syndrome." Journal of the American Society of Nephrology 17(4): S81-S85.
14. Lambers Heerspink, H. J., et al. (2006). "Update on microalbuminuria as a biomarker in renal and cardiovascular disease." Current Opinion in Nephrology and Hypertension 15(6): 631-636.
15. Kondo, S., et al. (2006). "Addition of the antioxidant probucol to angiotensin II type I receptor antagonist arrests progressive mesangioproliferative glomerulonephritis in the rat." Journal of the American Society of Nephrology 17(3): 783-794.
16. Komenda, P. and A. Levin (2006). "Analysis of cardiovascular disease and kidney outcomes in multidisciplinary chronic kidney disease clinics: complex disease requires complex care models." Current Opinion in Nephrology and Hypertension 15(1): 61-66.

17. Khosla, N., et al. (2006). "Microalbuminuria." Clinics in Laboratory Medicine 26(3): 635-653.
18. Khosla, N. and G. Bakris (2006). "Lessons learned from recent hypertension trials about kidney disease." Clinical Journal of the American Society of Nephrology 1(2): 229-235.
19. Karalliedde, J. and G. Viberti (2006). "Evidence for renoprotection by blockade of the renin-angiotensin-aldosterone system in hypertension and diabetes." Journal of Human Hypertension 20(4): 239-253.
20. Kaiser, T., et al. (2006). "Influence of nebivolol and enalapril on metabolic parameters and arterial stiffness in hypertensive type 2 diabetic patients." Journal of Hypertension 24(7): 1397-1403.
21. Jandeleit-Dahm, K. and M. E. Cooper (2006). "Hypertension and diabetes: Role of the renin-angiotensin system." Endocrinology and Metabolism Clinics of North America 35(3): 469-490.
22. Ibsen, H., et al. (2006). "Does albuminuria predict cardiovascular outcomes on treatment with losartan versus atenolol in patients with diabetes, hypertension, and left ventricular hypertrophy? The LIFE study." Diabetes Care 29(3): 595-600.
23. Ibrahim, M. M. (2006). "RAS inhibition in hypertension." Journal of Human Hypertension 20(2): 101-108.
24. Hartner, A., et al. (2006). "Angiotensin II formation in the kidney and nephrosclerosis in Ren-2 hypertensive rats." Nephrology Dialysis Transplantation 21(7): 1778-1785.
25. Harris, D., et al. (2006). "Prevention of progression of kidney disease." Nephrology 11: S2-S261.
26. Haller, H., et al. (2006). "Preventing microalbuminuria in patients with diabetes: rationale and design of the Randornised Olmesartan and Diabetes Microalbuminuria Prevention (ROADMAP) study." Journal of Hypertension 24(2): 403-408.
27. Griffin, K. A. and A. K. Bidani (2006). "Progression of renal disease: Renoprotective specificity of renin-angiotensin system blockade." Clinical Journal of the American Society of Nephrology 1(5): 1054-1065.
28. Glassock, R. J. (2006). "Prevention of microalbuminuria in type 2 diabetes: Millimeters or milligrams?" Journal of the American Society of Nephrology 17(12): 3276-3278.
29. Gaspari, F., et al. (2006). "Timed urine collections are not needed to measure urine protein excretion in clinical practice." American Journal of Kidney Diseases 47(1): 1-7.
30. Gagliardini, E. and A. Benigni (2006). "Role of anti-TGF-beta antibodies in the treatment of renal injury." Cytokine & Growth Factor Reviews 17(1-2): 89-96.
31. de Zeeuw, D., et al. (2006). "Microalbuminuria as an early marker for cardiovascular disease." Journal of the American Society of Nephrology 17(8): 2100-2105.
32. de Jong, P. E. and R. T. Gansevoort (2006). "Prevention of chronic kidney disease: The next step forward!" Nephrology 11(3): 240-244.
33. de Jong, P. E. and G. C. Curhan (2006). "Screening, monitoring, and treatment of albuminuria: Public health perspectives." Journal of the American Society of Nephrology 17(8): 2120-2126.
34. Chorzempa, A. (2006). "Type 2 diabetes mellitus and its effect on vascular disease." Journal of Cardiovascular Nursing 21(6): 485-492.
35. Caramori, M. L., et al. (2006). "Enhancing the predictive value of urinary albumin for diabetic nephropathy." Journal of the American Society of Nephrology 17(2): 339-352.
36. Burnier, M. and A. Zanchi (2006). "Blockade of the renin-angiotensin-aldosterone system: a key therapeutic strategy to reduce renal and cardiovascular events in patients with diabetes." Journal of Hypertension 24(1): 11-25.

37. Berl, T. and W. Henrich (2006). "Kidney-heart interactions: Epidemiology, pathogenesis, and treatment." Clinical Journal of the American Society of Nephrology 1(1): 8-18.
38. Bakris, G. L., et al. (2006). "Rationale and design of a study to evaluate management of proteinuria in patients at high risk for vascular events: the IMPROVE trial." Journal of Human Hypertension 20(9): 693-700.
39. Amann, B. (2006). "Diabetic nephropathy and ACE inhibitors." Clinical Research in Cardiology 95: 83-87.
40. Boersma, C., et al. (2006). "Pharmacoeconomics of angiotensin II antagonists in type 2 diabetic patients with nephropathy - Implications for decision making." Pharmacoeconomics 24(6): 523-535.
41. Zhou, X. Y. and E. D. Frohlich (2005). "Physiologic evidence of renoprotection by antihypertensive therapy." Current Opinion in Cardiology 20(4): 290-295.
42. Zandi-Nejad, K., et al. (2005). "Preventing microalbuminuria in type 2 diabetes." New England Journal of Medicine 352(8): 833-833.
43. Zandi-Nejad, K. and B. M. Brenner (2005). "Primary and secondary prevention of chronic kidney disease." Journal of Hypertension 23(10): 1771-1776.
44. Wittmann, I., et al. (2005). "Prevention and treatment of diabetic nephropathy." Diabetes Research and Clinical Practice 68(1): S36-S42.
45. Wenzel, U. and G. Wolf (2005). "Blood pressure independent effects of anti hypertensive agents." Internist 46(5): 548-556.
46. Wenzel, R. R. (2005). "Renal protection in hypertensive patients: Selection of antihypertensive therapy." Drugs 65: 29-39.
47. Verma, S., et al. (2005). "Perindopril in diabetes: perspective from the EUROPA substudy, PERSUADE." European Heart Journal 26(14): 1347-1349.
48. Tylicki, L., et al. (2005). "Renal protective effects of the renin-angiotensin-aldosterone system blockade: From evidence-based approach to perspectives." Kidney & Blood Pressure Research 28(4): 230-242.
49. Toto, R. D. (2005). "Proteinuria reduction: Mandatory consideration or option when selecting an antihypertensive agent?" Current Hypertension Reports 7(5): 374-378.
50. Strippoli, G. F. M., et al. (2005). "Antihypertensive agents for primary prevention of diabetic nephropathy." Journal of the American Society of Nephrology 16(10): 3081-3091.
51. Strippoli, G. F. M., et al. (2005). "Antihypertensive agents for preventing diabetic kidney disease." Cochrane Dataase of Systematic Reviews(4).
52. Imakiire, T., et al. (2007). "Effects of renin-angiotensin system blockade on macrophage infiltration in patients with hypertensive nephrosclerosis." Hypertension Research **30**(7): 635-642.
53. Hirsch, S. (2007). "A different approach to resistant hypertension." Cleveland Clinic Journal of Medicine **74**(6): 449-456.
54. Hasslacher, C. (2007). "Protection of renal function in diabetics." Internist **48**(7): 686-+.
55. Garcia-Donaire, J. A., et al. (2007). "Clinical trials in nephrology: success or failure." Current Opinion in Nephrology and Hypertension **16**(2): 59-63.
56. Gagliardini, E. and A. Benigni (2007). "Therapeutic potential of TGF-beta inhibition in chronic renal failure." Expert Opinion on Biological Therapy **7**(3): 293-304.
57. Ferrari, P. (2007). "Prescribing angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers in chronic kidney disease." Nephrology **12**(1): 81-89.

58. de Zeeuw, D. (2007). "Albuminuria: A target for treatment of type 2 diabetic nephropathy." Seminars in Nephrology **27**(2): 172-181.
59. Cravedi, P., et al. (2007). "Does remission of renal disease associated with antihypertensive treatment exist?" Current Hypertension Reports **9**(2): 160-165.
60. Coccheri, S. (2007). "Approaches to prevention of cardiovascular complications and events in diabetes mellitus." Drugs **67**(7): 997-1026.
61. Chikhladze, N. M., et al. (2007). "Trandolapril and verapamil SR combination effectiveness in arterial hypertension patients." Cardiovascular Therapy and Prevention **6**(2): 12-18.
62. Chikhladze, N. M. and I. E. Chazova (2007). "Combination of verapamil and trandolapril: therapeutic potential for high-risk patients with arterial hypertension." Cardiovascular Therapy and Prevention **6**(8): 99-105.
63. Bonne, J. F., et al. (2007). "Which optimal antihypertensive bitherapy for kidney patients?" Nephrologie & Therapeutique **3**(3): 79-88.
64. Bilous, R. (2007). "The management of proteinuria in diabetes." Clinical Medicine **7**(2): 116-117.
65. Batalis, N. I., et al. (2007). "Verapamil toxicity - An unusual case report and review of the literature." American Journal of Forensic Medicine and Pathology **28**(2): 137-140.
66. Auinger, M., et al. (2007). "Diabetic nephropathy." Wiener Klinische Wochenschrift **119**: 35-40.
67. Amazonas, R. B., et al. (2007). "Prevention of hypertension with or without renin-angiotensin system inhibition precludes nephrin loss in the early stage of experimental diabetes mellitus." Nephron Physiology **107**(2): P57-P64.
68. Estacio, R. O., et al. (2006). "Effect of intensive blood pressure control with valsartan on urinary albumin excretion in normotensive patients with type 2 diabetes." American Journal of Hypertension **19**(12): 1241-1248.
69. Volpe, M., et al. (2006). "Fewer mega-trials and more clinically oriented studies in hypertension research? The case of blocking the renin-angiotensin-aldosterone system." Journal of the American Society of Nephrology **17**(4): S36-S43.
70. Van de Wal, R. M. A., et al. (2006). "Urinary albumin excretion and the renin-angiotensin system in cardiovascular risk management." Expert Opinion on Pharmacotherapy **7**(18): 2505-2520.
71. Seedat, Y. K., et al. (2006). "South African Hypertension Guideline 2006." Samj South African Medical Journal **96**(4): 337-362.
72. Schernthaner, G. (2006). "Aggressive treatment of hypertension provides dramatic cardiovascular benefit in diabetic patients." Deutsche Medizinische Wochenschrift **131**(48): S247-S251.
73. Ruilope, L. M. and J. Segura (2006). "Blood pressure lowering or selection of antihypertensive agent: which is more important?" Nephrology Dialysis Transplantation **21**(4): 843-845.
74. Ruilope, L. M. and J. Segura (2006). "Renal protection in diabetic patients: benefits of a first-line combination of perindopril-indapamide (Preterax (R))." Journal of Hypertension **24**: S9-S12.
75. Ruilope, L. M. and J. Segura (2006). "Predictors of the evolution of microalbuminuria." Hypertension **48**(5): 832-833.
76. Patel, A. (2007). "Blood pressure- and blood sugar control in diabetics." Herz **32**(3): A17-A17.
77. Orna, J. A. G. (2007). "Diagnosis and treatment of diabetic nephropathy." Salud I Ciencia **15**(2): 524-527.
78. Ogawa, S., et al. (2007). "Effects of monotherapy of temocapril or candesartan with dose increments or

combination therapy with both drugs on the suppression of diabetic nephropathy." Hypertension Research **30**(4): 325-334.

79. Nebieridze, D. B. (2007). "Combined therapy of arterial hypertension: focus on pleiotropic effects." Cardiovascular Therapy and Prevention **6**(4): 99-102.
80. Navarro, J. (2007). "Medical care to patients with diabetic nephropathy: excusatio no petita, acusatio manifesta." Nefrologia **27**(2): 109-113.
81. Mohammadi-Karakani, A., et al. (2007). "Determination of urinary enzymes as a marker of early renal damage in diabetic patients." Journal of Clinical Laboratory Analysis **21**(6): 413-417.
82. McFarlane, P. A., et al. (2007). "Improving outcomes in diabetes and chronic kidney disease: The basis for Canadian guidelines." Canadian Journal of Cardiology **23**(7): 585-590.
83. Mancia, G., et al. (2007). "2007 ESH-ESC guidelines for the management of arterial hypertension - The task force for the management of arterial hypertension of the European society of hypertension (ESH) and of the European society of cardiology (ESC)." Blood Pressure **16**(3): 135-232.
84. Mancia, G., et al. (2007). "2007 Guidelines for the management of arterial hypertension - The task force for the management of arterial hypertension of the European society of hypertension (ESH) and of the European society of cardiology (ESC)." European Heart Journal **28**(12): 1462-1536.
85. Mancia, G., et al. (2007). "2007 guidelines for the management of arterial hypertension." Journal of Hypertension **25**(6): 1105-1187.
86. Levin, A. and M. Rocco (2007). "KDOQI clinical practice guidelines and clinical practice recommendations for diabetes and chronic kidney disease." American Journal of Kidney Diseases **49**(2): S10-S179.
87. Zhang, X. and F. F. Hou (2007). "How should renin-angiotensin system blockade be applied in chronic kidney disease for optimal renal protection?" Chinese Medical Journal **120**(3): 243-245.
88. Zanchetti, A. (2007). "Clinical practice and guidelines in Europe for the treatment of hypertension, with a focus on patients with diabetes mellitus." Clinical Therapeutics **29**: S44-S53.
89. Weiss, R., et al. (2007). "The role of sulodexide in the treatment of diabetic nephropathy." Drugs **67**(18): 2681-2696.
90. Tsagalis, G., et al. (2007). "Cardiorenal syndrome at different stages of chronic kidney disease." International Journal of Artificial Organs **30**(7): 564-576.
91. Shalnova, S. A. and O. V. Vikhireva (2007). "New advances in treating patients with arterial hypertension and diabetes mellitus." Cardiovascular Therapy and Prevention **6**(6): 98-102.
92. Schmieder, R. E., et al. (2007). "Low-grade albuminuria and cardiovascular risk." Clinical Research in Cardiology **96**(5): 247-257.
93. Schmieder, R. E., et al. (2007). "Renin-angiotensin system and cardiovascular risk." Lancet **369**(9568): 1208-1219.
94. Sarafidis, P. A., et al. (2007). "Anti hypertensive therapy in the presence of proteinuria." American Journal of Kidney Diseases **49**(1): 12-26.
95. Saltzman, H. E., et al. (2007). "Renal dysfunction in heart failure patients: what is the evidence?" Heart Failure Reviews **12**(1): 37-47.
96. Ryden, L., et al. (2007). "Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases: full text." European Heart Journal Supplements **9**(C): C3-C74.
97. Ryden, L., et al. (2007). "Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases: executive

summary - The Task Force on Diabetes and Cardiovascular Diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and of the European Association for the Study of Diabetes (EASD)." European Heart Journal **28**(1): 88-136.

98. Ruzicka, M., et al. (2007). "Treatment of hypertension in patients with nondiabetic chronic kidney disease." Canadian Journal of Cardiology **23**(7): 595-601.
99. Ruilope, L., et al. (2007). "The kidney and cardiovascular risk - Implications for management: A consensus statement from the European Society of Hypertension." Blood Pressure **16**(2): 72-79.
100. Halimi, J. M., et al. (2007). "Microalbuminuria and urinary albumin excretion: French clinical practice guidelines." Diabetes & Metabolism **33**(4): 303-309.
101. Grunfeld, J. P. (2007). "Primary prevention of kidney disease." Nephrologie & Therapeutique **3**: S192-S194.
102. Graham, I., et al. (2007). "European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: Full text." European Journal of Cardiovascular Prevention & Rehabilitation **14**: S1-S113.
103. Graham, I., et al. (2007). "European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: Executive summary." Atherosclerosis **194**(1): 1-45.
104. Graham, I., et al. (2007). "European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: Executive summary." European Journal of Cardiovascular Prevention & Rehabilitation **14**: E1-E40.
105. Graham, I., et al. (2007). "European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: executive summary." European Heart Journal **28**(19): 2375-2414.
106. Sampanis, C. and C. Zamboulis (2008). "Arterial hypertension in diabetes mellitus: from theory to clinical practice." Hippokratia **12**(2): 74-80.
107. Ryden, L., et al. (2008). "The management of the type 2 diabetic patient with hypertension - too late and too little: Suggested improvements." Blood Pressure **17**(5-6): 250-259.
108. Ruilope, L. M. (2008). "Angiotensin receptor blockers: RAAS blockade and renoprotection." Current Medical Research and Opinion **24**(5): 1285-1293.
109. Robles, N. R. (2008). "Calcium antagonists and renal failure progression." Renal Failure **30**(3): 247-255.
110. Cortinovis, M., et al. (2008). "Investigational drugs for diabetic nephropathy." Expert Opinion on Investigational Drugs **17**(10): 1487-1500.
111. Bilous, R. (2008). "Microvascular disease: what does the UKPDS tell us about diabetic nephropathy?" Diabetic Medicine **25**: 25-29.
112. Wuhl, E. and F. Schaefer (2008). "Therapeutic strategies to slow chronic kidney disease progression." Pediatric Nephrology **23**(5): 705-716.
113. Palmer, B. F. (2008). "Management of hypertension in patients with chronic kidney disease and diabetes mellitus." American Journal of Medicine **121**(8): S16-S22.
114. Perico, N., et al. (2008). "Present and future drug treatments for chronic kidney diseases: evolving targets in renoprotection." Nature Reviews Drug Discovery **7**(11): 936-953.
115. Abu Jawdeh, B. G. and M. Rahman (2009). "Blood pressure level and kidney disease progression: Do we really need to go to 130/80 mm Hg?" Current Hypertension Reports **11**(5): 363-367.
116. Drapkina, O. M. and Y. V. Dubolazova (2009). "Antihypertensive therapy in obese patients with

arterial hypertension." Cardiovascular Therapy and Prevention **8**(4): 93-97.

117. Levey, A. S., et al. (2009). "Comprehensive Public Health Strategies for Preventing the Development, Progression, and Complications of CKD: Report of an Expert Panel Convened by the Centers for Disease Control and Prevention." American Journal of Kidney Diseases **53**(3): 522-535.

118. O'Hare, A. M., et al. (2009). "Current Guidelines for Using Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors and Angiotensin II-Receptor Antagonists in Chronic Kidney Disease: Is the Evidence Base Relevant to Older Adults?" Annals of Internal Medicine **150**(10): 717-U712.

119. Notaro, L. A., et al. (2009). "Secondary Prevention in Concurrent Coronary Artery, Cerebrovascular, and Chronic Kidney Disease: Focus on Pharmacological Therapy." Cardiovascular Therapeutics **27**(3): 199-215.

120. Ray, K. K. and N. Sattar (2009). "DIABETES Which risk engines should be used to assess patients with diabetes?" Nature Reviews Endocrinology **5**(6): 302-303.

121. Ruilope, L. M. and J. Segura (2009). "Kidney protection: a key target in the management of patients with diabetes." Journal of Hypertension **27**: S15-S18.

122. De Cosmo, S., et al. (2009). "Impact of the PPAR-gamma 2 Pro12Ala Polymorphism and ACE Inhibitor Therapy on New-Onset Microalbuminuria in Type 2 Diabetes: Evidence From BENEDICT." Diabetes **58**(12): 2920-2929.

123. Cigolle, C. T., et al. (2009). "Diabetes and Cardiovascular Disease Prevention in Older Adults." Clinics in Geriatric Medicine **25**(4): 607-641.

124. Barlovic, D. P. and M. E. Cooper (2009). "DIABETES RAS inhibition: probably not a one-size-fits-all approach." Nature Reviews Nephrology **5**(12): 669-670.

125. (2009). "Evidence-based Practice Guideline for the Treatment of CKD." Clinical and Experimental Nephrology **13**(6): 537-566.

126. Alcocer, L., et al. (2010). "Use of Calcium Channel Blockers in Cardiovascular Risk Reduction Issues in Latin America." American Journal of Cardiovascular Drugs **10**(3): 143-154.

127. Segura, J. and L. M. Ruilope (2009). "Treatment of Prehypertension in Diabetes and Metabolic Syndrome What are the pros?" Diabetes Care **32**: S284-S289.

128. Atkins, R. C., et al. (2010). "Diabetic kidney disease: act now or pay later." Medical Journal of Australia **192**(5): 272-274.

129. James, M. T., et al. (2010). "Renal Medicine 2 Early recognition and prevention of chronic kidney disease." Lancet **375**(9722): 1296-1309.

130. Glassock, R. J. (2010). "Should Microalbuminuria Ever Be Considered as a Renal Endpoint in Any Clinical Trial?" American Journal of Nephrology **31**(5): 462-465.

131. Ritz, E., et al. (2010). "Determinants of urinary albumin excretion within the normal range in patients with type 2 diabetes: the Randomised Olmesartan and Diabetes Microalbuminuria Prevention (ROADMAP) study." Diabetologia **53**(1): 49-57.

132. Ritz, E., et al. (2010). "World Kidney Day on 10th of March 2010: Diabetic nephropathy - act now!" Diabetes Stoffwechsel Und Herz **19**(2): 145-147.

133. Preiss, D., et al. (2010). "Event Rates in Trials of Patients With Type 2 Diabetes." Jama-Journal of the American Medical Association **303**(8): 732-733.

134. Nelson, R. G. and K. R. Tuttle (2010). "Prevention of Diabetic Kidney Disease: Negative Clinical

Trials With Renin-Angiotensin System Inhibitors." American Journal of Kidney Diseases **55**(3): 426-430.

135. Burgess, E. (2010). "Reviewing the benefits of angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers in diabetic nephropathy - are they drug specific or class specific?" Canadian Journal of Cardiology **26**: 15E-19E.

136. Bell, K. J. L., et al. (2010). "Monitoring Initial Response to Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitor-Based Regimens An Individual Patient Data Meta-Analysis From Randomized, Placebo-Controlled Trials." Hypertension **56**(3): 533-U429.

137. Bangalore, S., et al. (2010). "Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitor Associated Cough: Deceptive Information from the Physicians' Desk Reference." American Journal of Medicine **123**(11): 1016-1030.

138. Atkins, R. C., et al. (2010). "Diabetic kidney disease: Act now or pay later." Diabetes Research and Clinical Practice **90**(3): E54-E56.

139. Friedrich, B. (2010). "Diabetic nephropathy and hypertension." Diabetologie Und Stoffwechsel **5**(6): R75-R85.

140. Cravedi, P., et al. (2010). "Which antihypertensive drugs are the most nephroprotective and why?" Expert Opinion on Pharmacotherapy **11**(16): 2651-2663.

141. Karalliedde, J. and G. Viberti (2010). "Proteinuria in Diabetes: Bystander or Pathway to Cardiorenal Disease?" Journal of the American Society of Nephrology **21**(12): 2020-2027.

142. Jerums, G., et al. (2010). "The clinical significance of hyperfiltration in diabetes." Diabetologia **53**(10): 2093-2104.

143. Jayapalan, J. J., et al. (2010). "Angiotensin Converting Enzyme Insertion/Deletion Gene Polymorphism: An Observational Study among Diabetic Hypertensive Subjects in Malaysia." Tropical Journal of Pharmaceutical Research **9**(5): 431-439.

144. Hoefield, R. A., et al. (2010). "Factors Associated With Kidney Disease Progression and Mortality in a Referred CKD Population." American Journal of Kidney Diseases **56**(6): 1072-1081.

145. Hart, P. D. and G. L. Bakris (2010). "Hypertensive nephropathy: prevention and treatment recommendations." Expert Opinion on Pharmacotherapy **11**(16): 2675-2686.

146. Nantel, P. and P. R. de Cotret (2010). "The evolution of angiotensin blockade in the management of cardiovascular disease." Canadian Journal of Cardiology **26**: 7E-13E.

147. Nagata, M., et al. (2010). "Trends in the prevalence of chronic kidney disease and its risk factors in a general Japanese population: The Hisayama Study." Nephrology Dialysis Transplantation **25**(8): 2557-2564.

148. Mischak, H., et al. (2010). "Urinary Proteomics Based on Capillary Electrophoresis-Coupled Mass Spectrometry in Kidney Disease: Discovery and Validation of Biomarkers, and Clinical Application." Advances in Chronic Kidney Disease **17**(6): 493-506.

149. Menne, J., et al. (2010). "Microalbuminuria as a risk factor: the influence of renin-angiotensin system blockade." Journal of Hypertension **28**(10): 1983-1994.

150. Leoncini, G., et al. (2010). "Chronic Kidney Disease and Albuminuria in Arterial Hypertension." Current Hypertension Reports **12**(5): 335-341.

151. Lemley, K. V. (2010). "When to initiate ACEI/ARB therapy in patients with type 1 and 2 diabetes." Pediatric Nephrology **25**(10): 2021-2034.

152. Lee, M., et al. (2010). "Impact of Microalbuminuria on Incident Stroke A Meta-Analysis." Stroke

41(11): 2625-2631.

153. Solomon, S. D. (2010). "Cardiovascular Clinical Trials in Patients With Diabetes Mellitus Lessons From the Bypass Angioplasty Revascularization Investigation 2 Diabetes (BARI 2D) Study." Circulation **121**(22): 2453-2455.

154. Ruilope, L., et al. (2010). "Prevention of Microalbuminuria in Patients With Type 2 Diabetes: What Do We Know?" Journal of Clinical Hypertension **12**(6): 422-430.

155. Ruggenenti, P., et al. (2010). "The RAAS in the pathogenesis and treatment of diabetic nephropathy." Nature Reviews Nephrology **6**(6): 319-330.

156. Riaz, S., et al. (2010). "Proteomic Identification of Human Urinary Biomarkers in Diabetes Mellitus Type 2." Diabetes Technology & Therapeutics **12**(12): 979-988.

157. Pichler, R. H. and I. H. de Boer (2010). "Dual Renin-Angiotensin-Aldosterone System Blockade for Diabetic Kidney Disease." Current Diabetes Reports **10**(4): 297-305.

158. Preiss, D., et al. (2011). "A systematic review of event rates in clinical trials in diabetes mellitus: The importance of quantifying baseline cardiovascular disease history and proteinuria and implications for clinical trial design." American Heart Journal **161**(1).

159. Ott, C., et al. (2011). "Reduction in Basal Nitric Oxide Activity Causes Albuminuria." Diabetes **60**(2): 572-576.

160. MacGregor, M. S. and M. W. Taal (2011). "Renal Association Clinical Practice Guideline on Detection, Monitoring and Management of Patients with CKD." Nephron Clinical Practice **118**: C71-C100.

161. Lee, M. and B. Ovbiagele (2011). "Reno-cerebrovascular disease: linking the nephron and neuron." Expert Review of Neurotherapeutics **11**(2): 241-249.

162. Lambertucci, L., et al. (2011). "Trandolapril, but not Verapamil nor their association, restores the physiological renal hemodynamic response to adrenergic activation in essential hypertension." Translational Research **157**(6): 348-356.

163. Lachin, J. M., et al. (2011). "Renal Function in Type 2 Diabetes with Rosiglitazone, Metformin, and Glyburide Monotherapy." Clinical Journal of the American Society of Nephrology **6**(5): 1032-1040.

164. Handelsman, Y., et al. (2011). "AMERICAN ASSOCIATION OF CLINICAL ENDOCRINOLOGISTS MEDICAL GUIDELINES FOR CLINICAL PRACTICE FOR DEVELOPING A DIABETES MELLITUS COMPREHENSIVE CARE PLAN." Endocrine Practice **17** (Suppl 2): 1-53.

165. Haller, H., et al. (2011). "Olmesartan for the Delay or Prevention of Microalbuminuria in Type 2 Diabetes." New England Journal of Medicine **364**(10): 907-917.

166. de Zeeuw, D. (2011). Unmet Need in Renal Protection - Do We Need a More Comprehensive Approach? Hemodialysis: New Methods and Future Technology. C. Ronco and M. H. Rosner. **171:** 157-160.

167. Whaley-Connell, A. T. and R. G. Kalaitzidis (2010). "Should Targeting Albuminuria Be Part of a Cardiovascular Risk Reduction Paradigm?" Cardiology Clinics **28**(3): 437-445.

168. Tocci, G. and M. Volpe (2011). "End-Organ Protection in Patients with Hypertension Focus on the Role of Angiotensin Receptor Blockers on Renal Function." Drugs **71**(8): 1003-1017.

169. Ting, R. Z. W., et al. (2011). Treatment and Landmark Clinical Trials for Renoprotection. Diabetes and the Kidney. K. N. Lai and S. C. W. Tang. **170:** 184-195.

170. Sun, J. Z., et al. (2011). "ACE inhibitors in cardiac surgery: current studies and controversies."

Hypertension Research **34**(1): 15-22.

171. Sorrentino, M. J. (2011). The Metabolic Syndrome.

172. Ruilope, L. M. and A. Solini (2011). "RAS Blockade for Every Diabetic Patient: Pro and Con." Diabetes Care **34**: S320-S324.

173. Ruggenenti, P., et al. (2011). "The Remission Clinic approach to halt the progression of kidney disease." Journal of Nephrology **24**(3): 274-281.

174. Rossing, P. and D. de Zeeuw (2011). "Need for better diabetes treatment for improved renal outcome." Kidney International **79**: S28-S32.

175. Ritz, E., et al. (2011). Clinical Manifestation and Natural History of Diabetic Nephropathy. Diabetes and the Kidney. K. N. Lai and S. C. W. Tang. **170:** 19-27.

176. Ritz, E. (2011). "Randomized Olmesartan And Diabetes Microalbuminuria Prevention Study (ROADMAP)." Polskie Archiwum Medycyny Wewnetrznej-Polish Archives of Internal Medicine **121**(5): 145-147.

177. Ritz, E. (2011). "Drug of Choice in the Management of Hypertension in Diabetes and Diabetic Nephropathy: Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors." Journal of Clinical Hypertension **13**(4): 285-289.

178. Holtkamp, F. A., et al. (2011). "An acute fall in estimated glomerular filtration rate during treatment with losartan predicts a slower decrease in long-term renal function." Kidney International **80**(3): 282-287.

179. Grassi, G. and G. Mancia (2011). "Prevention of Microalbuminuria in Diabetes Mellitus: Results of the ROADMAP Trial." Current Hypertension Reports **13**(4): 265-267.

180. Fegan, P. G., et al. (2011). "Renin-angiotensin-aldosterone system blockade and urinary albumin excretion in community-based patients with Type 2 diabetes: The Fremantle Diabetes Study." Diabetic Medicine **28**(7): 849-855.

181. Farmakis, D. and A. Aessopos (2011). "Olmesartan, Microalbuminuria, and Type 2 Diabetes." New England Journal of Medicine **364**(23): 2261-2262.

182. Dwyer, J. P. and J. B. Lewis (2011). "Olmesartan to Prevent the Development of Microalbuminuria: Is It New? Is It True? Is It Important?" American Journal of Kidney Diseases **58**(5): 700-703.

183. Roscioni, S. S., et al. (2011). "DIABETES ROADMAP: the road to renoprotection?" Nature Reviews Nephrology **7**(8): 427-428.

184. Reboldi, G., et al. (2011). "Effects of intensive blood pressure reduction on myocardial infarction and stroke in diabetes: a meta-analysis in 73 913 patients." Journal of Hypertension **29**(7): 1253-1269.

185. Laflam, P., et al. (2011). "Factors Affecting Conformity to Renin-Angiotensin System Inhibitor Usage in Chronic Kidney Disease and Diabetes Mellitus." Journal of Clinical Hypertension **13**(7): 473-478.

186. Koya, D., et al. (2011). "Therapeutic management of diabetic kidney disease." Journal of Diabetes Investigation **2**(4): 248-254.

187. Zoja, C., et al. (2011). "Distinct cardiac and renal effects of ETA receptor antagonist and ACE inhibitor in experimental type 2 diabetes." American Journal of Physiology-Renal Physiology **301**(5): F1114-F1123.

188. Williams, M. E. (2011). "The Goal of Blood Pressure Control for Prevention of Early Diabetic Microvascular Complications." Current Diabetes Reports **11**(4): 323-329.

189. Webb, A. J. S. and P. M. Rothwell (2011). "Effect of Dose and Combination of Antihypertensives on

Interindividual Blood Pressure Variability A Systematic Review." Stroke **42**(10): 2860-U2278.

190. Volpe, M., et al. (2011). "Antihypertensive Therapy in Diabetes: The Legacy Effect and RAAS Blockade." Current Hypertension Reports **13**(4): 318-324.

191. Scott, D. and J. A. Davidson (2011). "Managing Chronic Kidney Disease in Type 2 Diabetes in Family Practice." Journal of the National Medical Association **103**(9-10): 952-959.

192. Sacks, D. B., et al. (2011). "Guidelines and Recommendations for Laboratory Analysis in the Diagnosis and Management of Diabetes Mellitus." Clinical Chemistry **57**(6): E1-E47.

193. Ruggenenti, P. and G. Remuzzi (2011). "Worsening kidney function in decompensated heart failure: treat the heart, dont mind the kidney." European Heart Journal **32**(20): 2476-2478.

194. Barkoudah, E., et al. (2012). "Mortality Rates in Trials of Subjects With Type 2 Diabetes." Journal of the American Heart Association **1**(1): 8-15.

195. Cravedi, P., et al. (2012). "Proteinuria should be used as a surrogate in CKD." Nature Reviews Nephrology **8**(5): 301-306.

196. Chatzikyrkou, C., et al. (2012). "Albuminuria. Prognostic marker or therapeutic goal?" Internist **53**(1): 38-44.

197. Cerezo, C., et al. (2012). "Microalbuminuria breakthrough under chronic renin-angiotensin-aldosterone system suppression." Journal of Hypertension **30**(1): 204-209.

198. Lv, J. C., et al. (2012). "Antihypertensive agents for preventing diabetic kidney disease." Cochrane Database of Systematic Reviews(12).

199. Nikolaev, A. Y. (2012). "PHARMACOLOGICAL NEPHROPROTECTION IN CHRONIC KIDNEY DISEASE: CURRENT OPPORTUNITIES AND PERSPECTIVES (REVIEW OF FOREIGN LITERATURE)." Terapevticheskii Arkhiv **84**(6): 77-80.

200. Halimi, J. M., et al. (2012). "Renal endpoints in renal and cardiovascular randomized clinical trials: time for a consensus?" Fundamental & Clinical Pharmacology **26**(6): 771-782.

201. Bilous, R. W., et al. (2012). "KDOQI CLINICAL PRACTICE GUIDELINE FOR DIABETES AND CKD: 2012 UPDATE." American Journal of Kidney Diseases **60**(5): 858-886.

202. Auinger, M., et al. (2012). "Diabetic Nephropathy - Update 2012." Wiener Klinische Wochenschrift **124**: 42-49.

203. (2012). "KDIGO Clinical Practice Guideline for the Management of Blood Pressure in Chronic Kidney Disease." Kidney International Supplements **2**(5): 343-346.

204. Vejakama, P., et al. (2012). "Reno-protective effects of renin-angiotensin system blockade in type 2 diabetic patients: a systematic review and network meta-analysis." Diabetologia **55**(3): 566-578.

205. Argyropoulos, C., et al. (2013). "Urinary MicroRNA Profiling in the Nephropathy of Type 1 Diabetes." Plos One **8**(1).

206. Agodoa, L., et al. (2013). "Blood pressure lowering and major cardiovascular events in people with and without chronic kidney disease: meta-analysis of randomised controlled trials." Bmj-British Medical Journal **347:** f5680.

207. Parving, H. H., et al. (2015). "Microalbuminuria: A parameter that has changed diabetes care." Diabetes Research and Clinical Practice **107**(1): 1-8.

208. Sundstrom, J., et al. (2014). "Blood pressure-lowering treatment based on cardiovascular risk: a meta-analysis of individual patient data." Lancet **384**(9943): 591-598.

209. Thomopoulos, C., et al. (2014). "Effects of blood pressure lowering on outcome incidence in hypertension. 1. Overview, meta-analyses, and meta-regression analyses of randomized trials." Journal of Hypertension **32**(12): 2285-2295.

210. Gentile, G., et al. (2014). "Novel effective drugs for diabetic kidney disease? or not?" Expert Opinion on Emerging Drugs **19**(4): 571-601.

211. Harjutsalo, V. and P. H. Groop (2014). "Epidemiology and Risk Factors for Diabetic Kidney Disease." Advances in Chronic Kidney Disease **21**(3): 260-266.

212. Ichikawa, D., et al. (2014). "Renoprotective effect of renal liver-type fatty acid binding protein and angiotensin II type 1a receptor loss in renal injury caused by RAS activation." American Journal of Physiology-Renal Physiology **306**(6): F655-F663.

213. Japanese Soc, N. (2014). "Evidence-based Clinical Practice Guideline for CKD 2013." Clinical and Experimental Nephrology **18**(3): 346-423.

214. Imai, E., et al. (2013). "Effects of dual blockade of the renin-angiotensin system on renal and cardiovascular outcomes in type 2 diabetes with overt nephropathy and hypertension in the ORIENT: a post-hoc analysis (ORIENT-Hypertension)." Hypertension Research **36**(12): 1051-1059.

215. Kubota, M., et al. (2013). "Rice protein ameliorates the progression of diabetic nephropathy in Goto-Kakizaki rats with high-sucrose feeding." British Journal of Nutrition **110**(7): 1211-1219.

216. Pouwels, K. B., et al. (2013). "Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitor Treatment and the Development of Urinary Tract Infections: A Prescription Sequence Symmetry Analysis." Drug Safety **36**(11): 1079-1086.

217. Bakris, G. L. and M. Molitch (2014). "Microalbuminuria as a Risk Predictor in Diabetes: The Continuing Saga." Diabetes Care **37**(3): 867-875.

218. Chen, W. Z., et al. (2014). "Effect of glycemic control on microalbuminuria development among type 2 diabetes with high-normal albuminuria." Renal Failure **36**(2): 171-175.

219. Fagyas, M., et al. (2014). "New Perspectives in the Renin-Angiotensin-Aldosterone System (RAAS) I: Endogenous Angiotensin Converting Enzyme (ACE) Inhibition." Plos One **9**(4).

220. Fagyas, M., et al. (2014). "New Perspectives in the Renin-Angiotensin-Aldosterone System (RAAS) III: Endogenous Inhibition of Angiotensin Converting Enzyme (ACE) Provides Protection against Cardiovascular Diseases." Plos One **9**(4).

221. Farmer, A. J., et al. (2014). "Optimal strategies for identifying kidney disease in diabetes: properties of screening tests, progression of renal dysfunction and impact of treatment - systematic review and modelling of progression and cost-effectiveness." Health Technology Assessment **18**(14): 1-128.

222. Garattini, S. and N. Perico (2014). "Drug development: how academia, industry and authorities interact." Nature Reviews Nephrology **10**(10): 602-610.

223. Schievink, B., et al. (2015).” Early renin-angiotensin system intervention is more beneficial than late intervention in delaying end-stage renal disease in patients with type 2 diabetes.” Diabetes Obes Metab. doi: 10.1111/dom.12583. [Epub ahead of print].

224. Molitch, M. E., et al. (2015). “Diabetic kidney disease: a clinical update from Kidney Disease: Improving Global Outcomes.” Kidney international 87(1), 20-30.

Част от забелязаните цитирания на статията:

Ruggenenti P, Fassi A, **Ilieva A**, Iliev IP, Chiurchiu C, Rubis N, Gherardi G, Ene-Iordache B, Gaspari F, Perna A, Cravedi P, Bossi A, Trevisan R, Motterlini N, Remuzzi G; BENEDICT-B Study Investigators. Effects of verapamil added-on trandolapril therapy in hypertensive type 2 diabetes patients with microalbuminuria: the BENEDICT-B randomized trial. *J Hypertens.* 2011; 29(2): 207-216. **IF=4.021; Цитирания: 36**

1. Seki, N., et al. (2015). "Relationship Between the Brain Natriuretic Peptide (BNP) Level and Remission of Diabetic Nephropathy with Microalbuminuria: A 3-Year Follow-Up Study." Hormone and Metabolic Research **47**(2): 138-144.
2. Montero, R. M., et al. (2015). Diabetic nephropathy: What does the future hold?. International urology and nephrology, 1-15.
3. Savarese, G., et al. (2014). "Reduction of albumin urinary excretion is associated with reduced cardiovascular events in hypertensive and/or diabetic patients. A meta-regression analysis of 32 randomized trials." International Journal of Cardiology **172**(2): 403-410.
4. Bakris, G. L. and M. Molitch (2014). "Microalbuminuria as a Risk Predictor in Diabetes: The Continuing Saga." Diabetes Care **37**(3): 867-875.
5. Mancia, G., et al. (2013). "The guidelines of ESH/ESC Guidelines for hypertension in 2013." Kardiologia Polska **71**: S27-S116.
6. Mancia, G., et al. (2013). "2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension." European Heart Journal **34**(28): 2159-2219.
7. Mancia, G., et al. (2013). "2013 ESH/ESC Guidelines for themanagement of arterial hypertension The Task Force for the management ofarterial hypertension of the European Society ofHypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC)." Journal of Hypertension **31**(7): 1281-1357.
8. Mancia, G., et al. (2013). "2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension." Blood Pressure **22**(4): 193-278.
9. Khan, U. A., et al. (2013). "Prevention of Chronic Kidney Disease and Subsequent Effect on Mortality: A Systematic Review and Meta-Analysis." Plos One **8**(8).
10. Gagliardini, E., et al. (2013). "Angiotensin II Contributes to Diabetic Renal Dysfunction in Rodents and Humans via Notch1/Snail Pathway." American Journal of Pathology **183**(1): 119-130.
11. Sarafidis, P. A. and G. Bakris (2012). "A reappraisal of renin-angiotensin system blockade on microalbuminuria development: do they offer anything unique?" Journal of Hypertension **30**(1): 48-50.
12. Lv, J. C., et al. (2012). "Antihypertensive agents for preventing diabetic kidney disease." Cochrane Database of Systematic Reviews(12).
13. Lei, B., et al. (2012). "Add-On Aliskiren Elicits Stronger Renoprotection Than High-Dose Valsartan in Type 2 Diabetic KKAy Mice That Do Not Respond to Low-Dose Valsartan." Journal of Pharmacological Sciences **119**(2): 131-138.
14. Cravedi, P., et al. (2012). "Proteinuria should be used as a surrogate in CKD." Nature Reviews Nephrology **8**(5): 301-306.
15. Conti, S., et al. (2012). "Aging and the Renin-Angiotensin System." Hypertension **60**(4): 878-883.

Част от забелязаните цитирания на статията:

Ruggenenti P, Porrini E, Motterlini N, Perna A, **Ilieva AP**, Iliev IP, Dodesini AR, Trevisan R, Bossi A, Sampietro G, Capitoni E, Gaspari F, Rubis N, Ene-Iordache B, Remuzzi G; BENEDICT Study Investigators. Measurable urinary albumin predicts cardiovascular risk among normoalbuminuric patients with type 2 diabetes. *J Am Soc Nephrol.* 2012; 23(10): 1717-1724. **IF=8.987;**

Цитирания: 46

1. Park, S. Y., et al. (2015). "Normal Range Albuminuria and Metabolic Syndrome in South Korea: The 2011-2012 Korean National Health and Nutrition Examination Survey." Plos One **10**(5).
2. Parati, G., et al. (2015). "Blood Pressure Variability: Assessment, Predictive Value, and Potential as a Therapeutic Target." Current Hypertension Reports **17**(4).
3. Gagliardini, E., et al. (2015). "ET and Diabetic Nephropathy: Preclinical and Clinical Studies." Seminars in Nephrology **35**(2): 188-196.
4. Stephen, R., et al. (2014). "Albuminuria: When urine predicts kidney and cardiovascular disease." Cleveland Clinic Journal of Medicine **81**(1): 41-50.
5. Shimizu, M., et al. (2014). "Kidney lesions in diabetic patients with normoalbuminuric renal insufficiency." Clinical and Experimental Nephrology **18**(2): 305-312.
6. Parati, G., et al. (2014). "Clinical relevance of visit-to-visit blood pressure variability: impact on renal outcomes." Journal of Human Hypertension **28**(7): 403-409.
7. Oh, C. M., et al. (2014). "High-normal albuminuria predicts metabolic syndrome in middle-aged Korean men: A prospective cohort study." Maturitas **77**(2): 149-154.
8. Mori, H., et al. (2014). "Sitagliptin improves albuminuria in patients with type 2 diabetes mellitus." Journal of Diabetes Investigation **5**(3): 313-319.
9. Menne, J., et al. (2014). "The Randomized Olmesartan and Diabetes Microalbuminuria Prevention (ROADMAP) Observational Follow-Up Study: Benefits of RAS Blockade With Olmesartan Treatment Are Sustained After Study Discontinuation." Journal of the American Heart Association **3**(2).
10. McFarlane, P. A. (2014). "Testing for Albuminuria in 2014." Canadian Journal of Diabetes **38**(5): 372-375.
11. Maclsaac, R. J., et al. (2014). "'Progressive diabetic nephropathy. How useful is microalbuminuria?: Contra'." Kidney International **86**(1): 50-57.
12. Liu, J. J., et al. (2014). "High normal albuminuria is independently associated with aortic stiffness in patients with Type 2 diabetes." Diabetic Medicine **31**(10): 1199-1204.
13. Kodama, S., et al. (2014). "Meta-Analysis of the Quantitative Relation Between Pulse Pressure and Mean Arterial Pressure and Cardiovascular Risk in Patients With Diabetes Mellitus." American Journal of Cardiology **113**(6): 1058-1065.
14. Tytus, R., et al. (2013). "Effectiveness and Tolerability of a Trandolapril-Based Antihypertensive Treatment Regimen over 12 months in Actual Clinical Care Across Canada." Clinical Drug Investigation **33**(8): 535-543.
15. Shimizu, M., et al. (2013). "Long-Term Outcomes of Japanese Type 2 Diabetic Patients With Biopsy-Proven Diabetic Nephropathy." Diabetes Care **36**(11): 3655-3662.
16. Okada, H., et al. (2013). "Visit-to-Visit Blood Pressure Variability Is a Novel Risk Factor for the Development and Progression of Diabetic Nephropathy in Patients With Type 2 Diabetes." Diabetes Care **36**(7): 1908-1912.

17. Okada, H., et al. (2013). "A difference in systolic blood pressure between arms is a novel predictor of the development and progression of diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes." Atherosclerosis **230**(2): 198-201.
18. Ohkuma, T., et al. (2013). "Association between Sleep Duration and Urinary Albumin Excretion in Patients with Type 2 Diabetes: The Fukuoka Diabetes Registry." Plos One **8**(11).
19. Lucisano, S., et al. (2013). "New Insights on the Role of Vitamin D in the Progression of Renal Damage." Kidney & Blood Pressure Research **37**(6): 667-678.
20. Chatzikyrkou, C. and J. Menne (2013). "DIABETES Legacy effects of RAS blockade in diabetes mellitus." Nature Reviews Nephrology **9**(10): 566-568.
21. He, J. and J. Chen (2012). "Urinary Albumin: How Low Is Normal?" Journal of the American Society of Nephrology **23**(10): 1605-1607.

Част от забелязаните цитирания на статията:

Parvanova A, van der Meer IM, Iliev I, Perna A, Gaspari F, Trevisan R, Bossi A, Remuzzi G, Benigni A, Ruggenenti P; Daglutril in Diabetic Nephropathy Study Group. Effect on blood pressure of combined inhibition of endothelin-converting enzyme and neutral endopeptidase with daglutril in patients with type 2 diabetes who have albuminuria: a randomised, crossover, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2013; 1(1): 19-27. **Цитирания: 18**

1. Tamargo, J., et al. (2015). "New Antihypertensive Drugs Under Development." Current Medicinal Chemistry **22**(3): 305-342.
2. Samad, M. A., et al. (2015). "Endothelin A Receptor Antagonist, Atrasentan, Attenuates Renal and Cardiac Dysfunction in Dahl Salt-Hypertensive Rats in a Blood Pressure Independent Manner." Plos One **10**(3).
3. Paulis, L., et al. (2015). "New Developments in the Pharmacological Treatment of Hypertension: Dead-End or a Glimmer at the Horizon?" Current Hypertension Reports **17**(6).
4. Oparil, S. and R. E. Schmieder (2015). "New Approaches in the Treatment of Hypertension." Circulation Research **116**(6): 1074-1095.
5. Muskiet, M. H. A., et al. (2015). "Pleiotropic effects of type 2 diabetes management strategies on renal risk factors." Lancet Diabetes & Endocrinology **3**(5): 367-381.
6. Gagliardini, E., et al. (2015). "ET and Diabetic Nephropathy: Preclinical and Clinical Studies." Seminars in Nephrology **35**(2): 188-196.
7. Culshaw, G. J., et al. (2015). "Endothelin in Nondiabetic Chronic Kidney Disease: Preclinical and Clinical Studies." Seminars in Nephrology **35**(2): 176-187.
8. Boesen, E. I. (2015). "Endothelin receptors, renal effects and blood pressure." Current Opinion in Pharmacology **21**: 25-34.
9. Volpe, M. (2014). "Natriuretic peptides and cardio-renal disease." International Journal of Cardiology **176**(3): 630-639.
10. Maguire, J. J. and A. P. Davenport (2014). "Endothelin@25 - new agonists, antagonists, inhibitors and emerging research frontiers: IUPHAR Review 12." British Journal of Pharmacology **171**(24): 5555-5572.

11. Kohan, D. E. and M. Barton (2014). "Endothelin and endothelin antagonists in chronic kidney disease." Kidney International **86**(5): 896-904.
12. Gentile, G., et al. (2014). "Novel effective drugs for diabetic kidney disease? or not?" Expert Opinion on Emerging Drugs **19**(4): 571-601.
13. Dhaun, N., et al. (2014). "Diurnal Variation in Blood Pressure and Arterial Stiffness in Chronic Kidney Disease The Role of Endothelin-1." Hypertension **64**(2): 296-+.

Част от забелязаните цитирания на статията:

Parvanova A, Chiurchiu C, Ruggenenti P, Remuzzi G. Inhibition of the renin-angiotensin system and cardio-renal protection: focus on losartan and angiotensin receptor blockade. *Expert Opin Pharmacother.* 2005; 6(11): 1931-1942. **IF=1.823; Цитирания: 10**

1. Chang, B., et al. (2012). "Euonymus alatus in the Treatment of Diabetic Nephropathy in Rats." American Journal of Chinese Medicine **40**(6): 1177-1187.
2. Garcia-Sainz, J. A., et al. (2008). "G protein-coupled receptor-receptor tyrosine kinase receptor crosstalk: Regulation of receptor sensitivity and roles of autocrine feedback loops and signal integration." Current Signal Transduction Therapy **3**(3): 174-182.
3. Agha, A., Amer, W., Anwar, E., & Bashir, K. (2009). Reduction of microalbuminuria by using losartan in normotensive patients with type 2 diabetes mellitus: A randomized controlled trial. Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation, 20(3), 429.
4. Agha, Adnan, Kaukab Bashir, and Eram Anwar. "Use of losartan in reducing microalbuminuria in normotensive patients with type-2 diabetes mellitus." (2007). Nepal Med Coll J 9(2):79-83.

Част от забелязаните цитирания на статията:

Ruggenenti P, Iliev I, Costa GM, **Parvanova A**, Perna A, Giuliano GA, Motterlini N, Ene-Iordache B, Remuzzi G; Bergamo Nephrologic Diabetes Complications Trial Study Group. Preventing left ventricular hypertrophy by ACE inhibition in hypertensive patients with type 2 diabetes: a prespecified analysis of the Bergamo Nephrologic Diabetes Complications Trial (BENEDICT). *Diabetes Care.* 2008; 31(8): 1629-1634. **IF=7.349; Цитирания: 23**

1. Cigolle, C. T., et al. (2009). "Diabetes and Cardiovascular Disease Prevention in Older Adults." Clinics in Geriatric Medicine **25**(4): 607-641.
2. Cravedi, P., et al. (2011). "Targeting the Renin Angiotensin System in Dialysis Patients." Seminars in Dialysis **24**(3): 290-297.
3. Haskin, O., et al. (2015). "44-h ambulatory blood pressure monitoring: revealing the true burden of hypertension in pediatric hemodialysis patients." Pediatric Nephrology **30**(4): 653-660.
4. Huynh, K., et al. (2014). "Diabetic cardiomyopathy: Mechanisms and new treatment strategies targeting antioxidant signaling pathways." Pharmacology & Therapeutics **142**(3): 375-415.
5. Huynh, K., et al. (2013). "Targeting the upregulation of reactive oxygen species subsequent to hyperglycemia prevents type 1 diabetic cardiomyopathy in mice." Free Radical Biology and Medicine **60**: 307-317.

6. Januszewicz, A. and A. Prejbisz (2013). "Benefits of treatment with angiotensin converting enzyme inhibitors in patients with hypertension coxisting with cardiovascular disease - is there a place for trandolapril?" Kardiologia Polska **71**: 119-124.
7. Karalliedde, J. and G. Viberti (2010). "Proteinuria in Diabetes: Bystander or Pathway to Cardiorenal Disease?" Journal of the American Society of Nephrology **21**(12): 2020-2027.
8. Lv, J. C., et al. (2012). "Antihypertensive agents for preventing diabetic kidney disease." Cochrane Database of Systematic Reviews(12).
9. Molnar, M. Z., et al. (2014). "Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitor, Angiotensin Receptor Blocker Use, and Mortality in Patients With Chronic Kidney Disease." Journal of the American College of Cardiology **63**(7): 650-658.
10. Ritchie, R. H., et al. (2009). "Exploiting cGMP-based therapies for the prevention of left ventricular hypertrophy: NO center dot and beyond." Pharmacology & Therapeutics **124**(3): 279-300.
11. Rostoff, P., et al. (2010). "Left ventricular hypertrophy - current views on the pathophysiology, association with cardiovascular risk, and therapeutic options." Kardiologia Polska **68**(7): 815-823.
12. Ruilope, L. M. (2012). "Current challenges in the clinical management of hypertension." Nature Reviews Cardiology **9**(5): 267-275.
13. Sarafidis, P. A. and L. M. Ruilope (2012). "Cardiorenal disease development under chronic renin-angiotensin-aldosterone system suppression." Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System **13**(1): 217-219.
14. Tai, D. J., et al. (2010). "Cardiovascular Effects of Angiotensin Converting Enzyme Inhibition or Angiotensin Receptor Blockade in Hemodialysis: A Meta-Analysis." Clinical Journal of the American Society of Nephrology **5**(4): 623-630.

Част от забелязаните цитирания на статията:

Ruggenenti P, Lauria G, Iliev IP, Fassi A, **Ilieva AP**, Rota S, Chiurchiu C, Barlovic DP, Sghirlanzoni A, Lombardi R, Penza P, Cavaletti G, Piatti ML, Frigeni B, Filipponi M, Rubis N, Noris G, Motterlini N, Ene-Iordache B, Gaspari F, Perna A, Zaletel J, Bossi A, Dodesini AR, Trevisan R, Remuzzi G; DEMAND Study Investigators. Effects of manidipine and delapril in hypertensive patients with type 2 diabetes mellitus: the delapril and manidipine for nephroprotection in diabetes (DEMAND) randomized clinical trial. *Hypertension*. 2011; 58(5): 776-783. **IF=6.207;**

Цитирания: 44

1. Zanchetti, A., et al. (2015). "Randomized Controlled Trials of Blood Pressure Lowering in Hypertension A Critical Reappraisal." Circulation Research 116(6): 1058-1073.
2. Wang, B., et al. (2015). "Effects of RAS inhibitors on diabetic retinopathy: a systematic review and meta-analysis." Lancet Diabetes & Endocrinology 3(4): 263-274.
3. Thomopoulos, C., et al. (2015). "Effects of blood pressure lowering on outcome incidence in hypertension: 4. Effects of various classes of antihypertensive drugs - Overview and meta-analyses." Journal of Hypertension 33(2): 195-211.
4. Porrini, E., et al. (2015). "Non-proteinuric pathways in loss of renal function in patients with type 2 diabetes." Lancet Diabetes & Endocrinology 3(5): 382-391.

5. Do, D. V., et al. (2015). "Blood pressure control for diabetic retinopathy." Cochrane Database of Systematic Reviews(1).
6. Adeghate, E., et al. (2015). "Evaluating the Phase II drugs currently under investigation for diabetic neuropathy." Expert Opinion on Investigational Drugs 24(1): 1-15.
7. Thomopoulos, C., et al. (2014). "Effects of blood pressure lowering on outcome incidence in hypertension. 1. Overview, meta-analyses, and meta-regression analyses of randomized trials." Journal of Hypertension 32(12): 2285-2295.
8. Javed, S., et al. (2015).”Burning through the pain: treatments for diabetic neuropathy.” Diabetes, Obesity and Metabolism, 17(12), 1115-1125.
9. Marmiroli, P., & Cavaletti, G. (2015). “Drugs for the Treatment of Peripheral Neuropathies.” Expert Opinion on Pharmacotherapy, (just-accepted). DOI:10.1517/14656566.2016.1120719
10. Hao, G., et al. (2014). "Effects of ACEI/ARB in hypertensive patients with type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of randomized controlled studies." Bmc Cardiovascular Disorders 14.
11. Sowers, J. R. (2013). "Diabetes Mellitus and Vascular Disease." Hypertension 61(5): 943-947.
12. Boulton, A. J. M., et al. (2013). "Whither pathogenetic treatments for diabetic polyneuropathy?" Diabetes-Metabolism Research and Reviews 29(5): 327-333.
13. Ziegler, D. (2012). "Neuropathy. Update 2012." Diabetologia 8(5): 397-+.
14. Zidek, W., et al. (2012). "Ramipril-based versus diuretic-based antihypertensive primary treatment in patients with pre-diabetes (ADaPT) study." Cardiovascular Diabetology 11.
15. Yamaguchi, T., et al. (2012). "Diabetic Peripheral Neuropathy in Spontaneously Diabetic Torii-Lepr(fa) (SDT Fatty) Rats." Journal of Veterinary Medical Science 74(12): 1669-1673.
16. Seedat, Y. K. and B. L. Rayner (2012). "South African Hypertension Guideline 2011." Samj South African Medical Journal 102(1): 60-83.
17. Conti, S., et al. (2012). "Aging and the Renin-Angiotensin System." Hypertension 60(4): 878-883.
18. Weir, M. R. (2011). "Optimal Treatment Strategies for Patients With Hypertension and Diabetes Are Effects on Metabolism Important?" Hypertension 58(5): 758-759.

IX. НАУЧНИ СЪОБЩЕНИЯ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

1. **Parvanova A** on behalf of the VARIETY Study Group. Preventing microalbuminuria in type 2 diabetes: VARIETY TRIAL. Scientific anniversary conference with international participation, 20 years TRAKIA UNIVERSITY, Stara Zagora, May 19-20, 2015.
2. **Parvanova A** on behalf of the BENEDICT Study Group. Diabetic nephropathy: lessons from the BENEDICT STUDY. Scientific anniversary conference with international participation, 20 years TRAKIA UNIVERSITY, Stara Zagora, May 19-20, 2015.
3. **Parvanova AI**, van der Meer IM, Iliev IP, Perna A, Gaspari F, Trevisan R, Bossi AC, Remuzzi G, Benigni A, Ruggenenti P, for the Daglutril in Diabetic Nephropathy Study Group. Effetto sulla pressione arteriosa della inibizione combinata dell'enzima di conversione dell'endotelina e dell'endopeptidasi neutra con daglutril in pazienti con diabete di tipo 2 e con albuminuria: uno studio randomizzato, controllato, cross-over, in doppio cieco, con placebo. 20° Congresso Interassociativo AMD-SID Regione Lombardia, Gardone Riviera (BS), Italia, 3-4 ottobre 2014. *G It Diabetol Metab.* 2014; 34: 177.
4. **Parvanova AI**, Iliev IP, Bossi AC, Trillini M, Rota S, Aparicio C, Abbate M, Prandini S, Lecchi V, Yakymchuk S, Rubis N, Trevisan R, Ruggenenti P, Remuzzi G, for the PROCEED Study Group. Disegno dello studio PROCEED per la valutazione del possibile effetto antiproteinurico del Paracalcitolo, attivatore selettivo del recettore della vitamina D, in pazienti diabetici ipertesi. 20° Congresso Interassociativo AMD-SID Regione Lombardia, Gardone Riviera (BS), Italia, 3-4 ottobre 2014. *G It Diabetol Metab.* 2014; 34: 176-177.
5. **Parvanova AI**, Iliev IP, Trevisan R, Bossi AC, Ruggenenti P, Remuzzi G for VALID Study Group. VAL.I.D.: Un trial prospettico, randomizzato, multicentrico finalizzato a testare se il doppio blocco del RAS con un ACE inibitore ed un sartano previene la progressione verso l'insufficienza renale terminale in pazienti con diabete mellito di tipo 2 e nefropatia diabetica conclamata più efficacemente di ciascun farmaco usato singolarmente. Atti XVIII Congresso Interassociativo AMD-SID Regione Lombardia, Bergamo, Italia, 21-22 settembre 2012. *G It Diabetol Metab*. 2012; 32: 168-169.
6. **Parvanova AI**, Iliev IP, Bossi AC, Trevisan R, Ruggenenti P, Remuzzi G, for VARIETY Study Group. VA.R.I.E.TY. Un trial prospettico, randomizzato, multicentrico finalizzato a testare se il doppio blocco del RAS con un ACE inibitore ed un sartano previene la microalbuminuria in pazienti con diabete mellito di tipo 2 e "high-normal" albuminuria

più efficacemente di ciascun farmaco usato singolarmente. Atti XVIII Congresso Interassociativo AMD-SID Regione Lombardia, Bergamo, Italia, 21-22 settembre 2012. *G It Diabetol Metab.* 2012; 32: 169-170.

7. Ruggenenti P, **Parvanova A,** Trevisan R, Dimitrov BD, Iliev I, Fassi A, Perna A, Arnoldi F, Vedovato M, Tiengo A, Remuzzi G. Impaired insulin sensitivity as a marker of type 2 diabetic nephropathy. *Diabetes*. 2002: A517. **IF=8.256.**
8. Ruggenenti P, **Parvanova A,** Trevisan R, Dimitrov BD, Iliev I, Fassi A, Perna A, Arnoldi F, Vedovato M, Tiengo A, Remuzzi G. Insulin sensitivity as a predictor of type 2 diabetic nephropathy: results from a cross-sectional study. *EASD Hosted by Diabetes UK.* 2001: A268.
9. Logofetov A, Ilieva G, Tolekova A, **Parvanova A**, Kalaidjieva V, Dragov A. The dynamic changes of Renin-angiotensin-aldosterone system and Erytropoietin in short-time treatment with Nifedipine. *Kidney Int.* 1995; 47(2):683-684. **IF=3.995.**
10. Tolekova A, **Parvanova A**, Ilieva G, Logofetov A, Dragov A. Comparison between the acute effects of Nifedipine and Nicardipine on renin-angiotensin-aldosterone system. *Kidney Int.* 1995; 47(2):683-683. **IF=3.995.**

X. SUMMARY

Renin-angiotensin, endothelin and natriuretic peptide systems are involved in renal function reguration and they are a key target in the prevention and treatment of diabetic nephropathy (DN) in type 2 diabetes mellitus (T2DM).

The multicenter double-blind, randomized, parallel groups, Bergamo Nephrologic Diabetes Complications Trial (BENEDICT) was two fase (A and B) trial with Extension Study.

1) BENEDICT-A explored whether the inhibition of angiotensin-converting enzyme (ACE) by ACE-inhibitor (ACEI), trandolapril 2 mg/day, and the inhibition of L-type calcium channels by non-dihydropyridine calcium-channel blocker (ndCCB), verapamil 240 mg/day, alone or in combination - VeraTran 180/2 mg/day, prevent microalbuminuria in 1204 hypertensive, T2DM patients with normal albumin excretion rate (AER).

2) BENEDICT-B investigated whether combined inhibition of ACE and L-type calcium channels by VeraTran 180/2 mg/day ameliorates more effectively AER and cardiovascular events (CVE) than the inhibition of ACE by trandolapril 2 mg/day alone in 281 hypertensive T2DM patients with microalbuminuria.

3) BENEDECT-A Extension Study evaluated whether AER within the normal range predicts long-term cardiovascular risk (CVR) in 1208 patients, all of whom received ACEI at the end of BENEDICT-A.

4) Whether combined inhibition of endothelin-converting enzyme (ECE) and neutral endopeptidase (NEP) by daglutril 300 mg/day decreases AER in T2DM patients with DN, was tested in prospective, randomised, cross-over, placebo-controlled trial involving 45 patients.

1) Over a median of 3.6 years, the estimated acceleration factor, adjusted for baseline parameters, was 0.39 for the comparison VeraTran and placebo (P=0.01), 0.47 for the comparison trandolapril and placebo (P=0.01), and 0.83 for the comparison verapamil and placebo (P=0.54). VeraTran and trandolapril alone delayed the onset of microalbuminuria by factors of 2.6 and 2.1, respectively.

2) Over a median of 4.5 years, 13% of patients on VeraTran *vs* 10.5% on trandolapril, [HR, 1.07; 95% CI (0.54–2.12), P=0.852], progressed to macroalbuminuria; 44.9% *vs* 49.7% [0.80; (0.57–1.12), P=0.198] regressed to normoalbuminuria and 14.5% *vs* 14.7% [0.93; (0.50–1.72), P=0.816] had major CVE. Patients with CVE were significantly less 9.8% *vs* 18.9% [0.37; (0.19–0.71), P=0.003] among those regressing to normoalbuminuria than those without regression.

3) Over a median of 9.2 years, considering the entire study population [1.04; (1.02–1.07)] and the subgroup originally assigned to non-ACEI [1.02; (1.01–1.074)], even AER at 1-2 mg/min was significantly associated with increased CVR compared with AER <1 mg/min. The association disappeared among patients, originally receiving ACEI, and CVE rate was uniformly low.

4) Daglutril did not significantly affect 24-h AER compared with placebo (difference in change −7.6 µg/min, IQR −78.7 to 19.0; p=0.559), but significantly reduced 24-h systolic (difference −5.2 mm Hg, SD 9.4; p=0.0013), diastolic (-2.5, 6.2; p=0.015), pulse (-3.0, 6.3; p=0.019) and mean (-3.1, 6.2; p=0.003) blood pressure (BP).

1) In T2DM patients with normoalbuminuria, the inhibition of ACE demonstrated specific independent renoprotective effect that is not observed and is not potentiated during the inhibition of L-type calcium channels by ndCCB.

2) In T2DM patients with microalbuminuria, the inhibition of L-type calcium channels by ndCCB did not potentiate renoprotective effect observed during the inhibition of ACE, that normalized AER in half of the patients and this translated into significant cardioprotection. ACEIs should be the medication of choice for prevention and treatment of microalbuminuria and related CVE in T2DM patients.

3) Considering all patients of Extension Study, or patients originally assigned to non-ACEI, any degree of normoalbumiburia predicted long-term CVR, regardless of other risk factors. No albuminuria threshold, dividing such patients in groups with or without CVR. Early inhibition of ACE provided a long-term cardioprotection.

4) Combined ECE/NEP inhibition by Daglutril did not show renoprotective effect, but improved BP control with acceptable safety profile, suggesting that could provide a new treatment approach in hypertensive T2DM patients with DN.