تعيين اثرات انالاپريل و لوزارتان بر روي پراكسيداسيون ليپيدي در بيماران پيوندكليه اي با پلي مورفيسم هاي سيستم رنين ـ آنژيوتانسين

محمد آقائي شهسواري*، نادره رشتچي زاده، پگاه ويسي، مسعود نوروزيان اول، حسن ارگانی، امير قرباني حق جو و حسين بابائي
مركز تحقيقات كاربردي- داروئي دانشگاه علوم پزشكي تبريز

تاريخ دريافت: ۸۵/۵/۴ ، تاريخ پذيرش: ۸۵/۱۰/۱۱

Enalapril and Losartan Affect Lipid Peroxidation in Renal Transplant Recipients with Renin-Angiotensin System polymorphisms

Aghaeishahsavari M.*, Rashtchizadeh N., Veisi P., Noroozianavval M., Argani H., Ghorbanihaghjo A., Babaei H.
Drug Applied Research Center of Tabriz University of Medical Sciences

Received: 2006/7/26 , Accepted: 2007/1/1

Objectives: In this study, the effect of enalapril (E) and/or losartan (L) on lipid peroxidation (LPO) is studied in renal transplant recipients (RTRs) with regarding to polymorphisms of renin-angiotensin system (RAS). **Methods:** fter determination of genotypes of the angiotensin converting enzyme (ACE I/D), angiotensinogen (AGT M235T) and angiotensin II type 1 receptor (ATR1 A1166C) by polymerase chain reaction, sixty-four RTRs recruited to four groups randomly: first (13 patients) and second (20 patients) groups were treated with enalapril (E^+: 10mg/d) and losartan (L^+: 50 mg/d) alone, respectively. The third group (13 patients as positive control) received enalapril + losartan (E^+L^+: 10mg/d + 50 mg/d) and the forth group (18 patients as negative control) received no medication (E^-L^-). Malondialdehyde (MDA) as LPO marker was measured after 8 weeks. After 2 weeks as washout period, E group changed to L and vice versa as a cross-over design. They were followed for another 8 weeks and MDA was retested. **Results:** MDA level significantly decreased in all of the groups except the E^-L^-. Regardless of the treatment protocol, HDL-c, LDL-c, TG, total cholesterol and reduced MDA levels did not change (P>0.05). Although, patients with DD genotype of ACE had higher MDA (P=0.01) and TG (P=0.03) levels, RAS polymorphisms couldn't predict the antioxidative response rate to the drugs (P>0.05). **Conclusion:** Although LPO is higher in DD genotype of ACE polymorphism; E and/or L reduce MDA regardless of the RAS genotypes.

Key words: *Enalapril, losartan, RAS polymorphisms, MDA, LPO.*

زمينه و هدف: در اين مطالعه بر آنيم تا اثرات انالاپريل و يا لوزارتان را بر روي پراكسيداسيون ليپيدي مطابق پلي مورفيسم هاي سيستم رنين ـ آنژيوتانسين در بيماران پيوند كليه اي مورد ارزيابي قرار دهيم. **روشها:** در اين مطالعه بعد تعيين ژنوتيپ هاي سيستم رنين ـ آنژيوتانسين شامل ژنوتيپ آنزيم مبدل آنژيوتانسين (I/D)، آنژيوتانسينوژن (M235T) و رسپتور نوع ۱ آنژيوتانسين II (A1166C) توسط واكنش زنجيره اي پلي مراز، ۴ بيمار پيوند كليه اى، به صورت تصادفي به چهار گروه تقسيم شدند. گروه اول (۱۳ بيمار) و گروه دوم ۲۰ بيمار) به ترتيب روزانه، با انالاپريل ۱۰ ميلي گرم و لوزارتان ۵۰ ميلي گرم درمان شدند. گروه سوم به عنوان كنترل مثبت شامل ۱۳ بيمار هردو دارو را با همان دوز دريافت نمودند و در نهايت گروه چهارم شامل ۱۸ بيمار به عنوان كنترل منفي هيچ دارويي دريافت نكردند. مالون دآلدئيد به عنوان معياري از پراكسيداسيون ليپيدي بعد از هشت هفته درمان اندازه گيري شد. **يافته ها:** سطح مالون دآلدئيد در تمام گروهها به استثناي گروه كنترل منفي به طور معني داري كاهش يافت. درمان با داروهاى ياد شده تاثيرى بر پروفايل ليپيدى نداشت. (P>۰/۰۵). اگرچه كه بيماران با ژنوتيپ DD پلي مورفيسم آنزيم مبدل آنژيوتانسين، مالون دآلدئيد تـــري گليسريد بالا (به ترتيب P=۰/۰۱ و P =۰/۰۳) داشتند، اما پلي مورفيسمهاي سيستم رنين ـ آنژيوتانسين هيچ تأثيري در كاهش استرس اكسيداتيو متعاقب درمان با داروهاي ياد شده را نداشتند (P>۰/۰۵). **نتيجه گيري:** نتايج اين مطالعه حاكى از آن است كه انالاپريل و يا لوزارتان مى توانند اندازه مالون دآلدئيد را بدون توجه به ژنوتيپهاي سيستم رنين ـ آنژيوتانسين تغيير دهند.

واژه هاي كليدي: *انالاپريل، لوزارتان، پلي مورفيسم هاي سيستم رنين ـ آنژيوتانسين، مالون دآلدئيد، راكسيداسيون ليپيدي.*

*نويسنده مسئول: دكتر محمد آقائي شهسواري، مركز تحقيقات كاربردي- داروئي، دانشگاه علوم پزشكي تبريز، تلفن: ۰۹۱۴۴۱۱۲۲۳۹، نمابر: ۳۳۶۳۲۳۱-۰۴۱۱

** Corresponding Authors: Dr. Mohammad Aghaeishahsavari, Drug Applied Research Center (DARC), Tabriz University of Medical Sciences, Tel: 09144112239; Fax: 0411-3363231; E-mail: dr_mash1951@yahoo.com*

۱- مقدمه

استرس اكسيداتيو يكي از عوامل مرگ و مير با علت قلبي-عروقي در نارسائي مزمن كليوي است (۱) و به صورت عدم توازن بين توليدات اكسيداتيو و سيستم‌هاي دفاعي آنتي‌اكسيداتيو تعريف مي‌شود (۲). نقش آسيب رساني اكسيژن فعال در فرايند آترواسكلروتيك به خوبي شناخته شده است (۳). رويدادهاي مختلف منجر به شروع و افزايش پديده اكسيداتيو شامل تحريك سيستم ايمنولوژيك، فعال شدن سلولهاي آندوتليال و يا مزانژيال توسط سايتوكائين ها و ارتشاح آلوگرافتها توسط ماكروفاژها هستند. اين رويداد مي‌تواند ناشي از تطابق نفرون به دنبال كاهش حجم توده سلولهاي كليوي به دنبال افزايش فشار خون و يا انقباض عروقي به علت هيپوكسي باشد كه همگي آنها مي‌تواند باعث ايجاد ضايعات بينابيني، گلومولار و عروقي بشود (۴). پراكسيداسيون ليپيدي به عنوان استرس اكسيداتيو يكي از مكانيسم‌هاي اتوكاتاليتيك منجر به تخريب اكسيداتيو غشاي سلولي است. در پيوند كليه، اين مكانيسم به دنبال ايسكمي و يا پرفيوژن مجدد ايجاد شده و ممكن است مربوط به كاركرد نامطلوب پيوند باشد. مالون دآلدهيد يكي از متابوليسم‌هاي اساسي آلدهيد يك پراكسيداسيون ليپيدي مي‌باشد (۵). مطالعات مختلف به افزايش معني‌دار غلظت مالون دآلدهيد در پلاسما، گلبول قرمز، پلاكتها و سلولهاي تك‌هسته‌اي خون محيطي در بيماران با مشكل نارسايي كليوي اشاره داشته‌اند (۶). به علت فعاليت سيستم رنين-آنژيوتانسين-آلدوسترون كه منجر به افزايش استرس اكسيداتيو مي‌شود، اخيرا گزارش شده است كه فعاليت‌هاي متعدد اين سيستم در ارتباط با عملكرد ضعيف طولاني مدت كليه پيوندي بوده و منجر به كاهش بقاء پيوند مي‌شود (۷ و۸). آنژيوتانسين II به عنوان پپتيد موثر سيستم رنين-آنژيوتانسين، هموديناميك كليه وانتقال توبولي را تحت تاثير قرار داده و منجر به تحريك تكثير سلولي و سنتز پروتئين ماتريكس خارج سلولي مي‌شود. اين اثر باعث ايجاد فيبروز پيش رونده در ارگانهاي مختلف مي‌شود. بنابراين، پلي‌مورفيسم ژنهايي كه فعاليت سيستم رنين- آنژيوتانسين را تنظيم مي‌كند، مي‌تواند در تعيين پيش آگهي كليه پيوندي پراهميت باشد (۸). اخيرا مطالعات مداخله‌اي آينده نگر نشان داده‌اند كه داروهاي مهار كننده آنزيم مبدل آنژيوتانسين و بلوك كننده رسپتور آنژيوتانسين عملكرد آندوتليالي را بهتر كرده و استرس اكسيداتيو را كاهش مي‌دهد (۱۳-۹). در مدل‌هاي حيواني داروهاي مهار كننده آنزيم مبدل آنژيوتانسين توانسته منجر به كاهش آتروژنز از طريق مكانيسم‌هاي حفاظتي شود كه اين مكانيسم‌ها شامل اثرات آنتي پرولیفراتيو در سلولهاي عضلاني صاف ديواره عروقي، كاهش فشار خون و كاهش اكسيداسيون ليپو پروتئين با چگالي پائين، مهار فعاليت پلاكتها، تنظيم سيگنالهاي پيش التهابي در عروق، كاهش تجمع ماكروفاژها و بهبود عملكرد آندوتليالي ميباشد (۱۴). در كنار مهار كننده آنزيم مبدل آنژيوتانسين، بلوك كننده رسپتور آنژيوتانسين اثرات آنتي‌آترواسكلروتيك سودمند شناخته شده در مدلهاي حيواني داشته است كه اين اثرات به دنبال ساپرس شدن تشكيل پلاك عروقي و ساير ماركرهاي آتروژنز حاصل شده است. با وجود اين، نتايج حاصل از مطالعات مختلف به نقش كاهش تجمع پلاكتي توسط بلوك كننده رسپتور آنژيوتانسين اشاره داشته‌اند (۱۵و۱۶). متعاقب اين مطالب ما فرض كرديم كه ژنوتيپ‌هاي سيستم رنين - آنژيوتانسين مي‌تواند شدت استرس اكسيداتيو را تحت تاثير قرار بدهد. روي اين اصل در اين مطالعه ما بر آن شديم تا ارتباط بين پلي‌مورفيسم‌هاي اين سيستم و استرس اكسيداتيو و همچنين نقش سيستم ياد شده را در كاهش استرس اكسيداتيو به دنبال تجويز انالاپريل و/ يا لوزارتان، مورد ارزيابي قرار بدهيم.

۲- مواد و روش ها

مطالعه حاضر در مركز تحقيقات كاربردي- داروئي دانشگاه علوم پزشكي تبريز از سال ۲۰۰۳ تا سال ۲۰۰۵ انجام شده است. بعد از اخذ رضايتنامه آگاهانه از بيماران كه رضايتنامه مذكور در كميته اخلاقي اين مركز مورد تائيد قرار گرفته بود ۶۴ (۳۷ مرد و ۳۷ زن با ميانگين سني ۶/۳۸ ±۳۶/۴۷) بيمار پيوند كليه‌اي به صورت تصادفي وارد مطالعه شدند. همگي آنها در مدت ۶ ماه گذشته و بيشتر مورد پيوند قرار گرفته بودند و عملكرد كليه پيوندي ثابتي (كراتينين سرم كمتر از ۲/۲mg/dl) داشتند. تمامي بيماران تحت درمان سه‌گانه ايمنوساپرسيو شامل سيكلوسپورين + پردنيزولون + آزاتيوپرين يا مايكو فنولات مفتيل بودند و هيچ‌كدام از آنها ديابتيك و سيگاري نبوده و از داروهائي نظير ديورتيكها، بتابلوكرها، مهار كننده HMG-COA reductase در سه ماه قبل از شروع مطالعه استفاده نكرده بودند. همچنين هيچكدام از بيماران تنگي شريان كليه پيوندي و پيوند مجدد نداشتند. براي تعيين پلي‌مورفيسم سيستم رنين - آنژيوتانسين شامل ژنهاي آنژيو تانسينوژن (M235T)، ژنوتيپ آنزيم مبدل آنژيوتانسين (I/D)، و رسپتور نوع ۱ آنژيوتانسين II (A1166C) از نمونه خون وريدي كه در لوله آزمايش حاوي آنتي‌كواگولان EDTA جمع‌آوري شده بود، استفاده شده است. سپس DNA ژنومي از لكوسيتها خون محيطي جدا شد. كل مراحل انجام و پروسه‌هاي آزمايشگاهي بر اساس توصيه‌ها و دستورالعمل‌هاي كارخانه سازنده، با استفاده از پرايمرهاي اختصاصي واكنش زنجيره اي پليمراز در هر بخش و آنزيم مناسب محدوده كننده هر قسمت انجام شد (۱۹-۱۷). در اين مطالعه پروفايل ليپيدي (HDL كلسترول، LDL كلسترول، كلسترول تام، تري‌گليسيريد)، اوره، كراتينين توسط متد آنزيماتيك استاندارد با دستگاه اتوآناليزر كوباس ميرا مورد

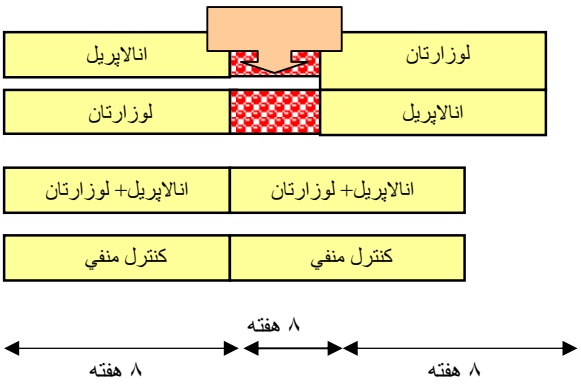
سنجش قرار گرفت. سطح مالون دآلدهيد هم توسط روش كلورمتريك از طريق استفاده از فرايند اسيد تيوباربيتوريك سنجش شده (۲۰) و در نهايت اينكه ميزان سطح سرمي سيكلوسپورين توسط روش راديوايمنواسي اندازه‌گيري شد. بعد از تعيين پلي‌مورفيسم سيستم رنين - آنژيوتانسين و تبديل داروهاي ضد فشار خون (نظير بلوك كننده كانال كلسيم) در بيماران هايپرتانسيو به مهار كننده آنزيم مبدل آنژيوتانسين و / يا بلوك كننده رسپتور آنژيوتانسين، كليه بيماران به صورت تصادفي به چهار گروه تقسيم شدند، گروهاي اول و دوم شامل ۱۳ و ۲۰ بيمار به ترتيب به تنهايي با ۱۰ ميلي گرم انالاپريل و۵۰ ميلي گرم لوزارتان روزانه درمان شدند. گروه سوم به عنوان كنترل مثبت هر دوي آن داروها را با همان دوز دريافت كردند و در نهايت گروه چهارم به عنوان كنترل منفي هيچ داروئي دريافت نكردند. داروها براي تمامي بيماران با دوزهاي كم (۲/۵ ميلي گرم براي انالاپريل و ۲۵ ميلي گرم براي لوزارتان) شروع شده و به تدريج به همان دوزهاي درماني ذكر شده افزايش داده شد. تمامي بيماران به مدت ۸ هفته تحت پيگيري و درمان قرار گرفتند. سپس بعد از دو هفته دوره wash-out، گروه انالاپريل به لوزارتان و برعكس به عنوان يك طرح cross-over عوض شدند و به مدت ۸ هفته ديگر تحت درمان قرار گرفتند. در طول اين مدت به ترتيب ۱۳ و ۲۲ بيمار به عنوان كنترل مثبت ومنفي (به مدت ۴ ماه) تحت فالوآپ و درمان بودند (شكل۱). قبل و بعد از ۲ و ۴ ماه مداخله، آزمايشات شمارش كامل سلولهاي خوني، الكتروليت‌هاي سرم، اوره، كراتينين، سطح سكيلوسپورين، پروفايل ليپيدي و مالون دآلدهيد (ماركر پراكسيداسيون ليپيدي) مورد سنجش قرار گرفت. در طول تمامي اين مدت، بيماران به طور متنـــاوب و مكرر (هر هفته) از نظر فشار خون، تستهاي عملكردي كليوي و عوارض اين داروها نظير هايپركالمي، سرفه و ساير واكنشهاي داروئي مورد معاينه و بررسي قرار مي‌گرفتند.

جهت آناليز آماري از SPSS نسخه ۱۱/۰ استفاده شد. تمامي مشخصات باليني با تست‌هاي آماري پارامتريك و غير پارامتريك مورد ارزيابي قرار گرفته‌اند. در اين مطالعه $p \leq ۰/۰۵$ به عنوان رابطه معني‌داري شناخته شده است.

۳- نتايج

خصوصيات دموگرافيك جمعيت نمونه مورد بررسي در جدول ۱ نشان داده شده است مطابق جدول ۱ هيچ اختلافي در سن، جنسيت، طول مدت پيوند، زمان ديااليز قبل از پيوند، نوع درمان ايمنوساپرسيو و پلي‌مورفيسمهاي سيستم رنين-آنژيوتانسين در گروههاي مختلف درماني وجود نداشت ($p>۰/۰۵$). بين بيماران قبل از مداخله داروئي، هيچ تفاوتي مطابق درمانهاي داروئي در سطوح اوليه مالون دآلدهيد و پروفايل ليپيدي وجود نداشت ($p>۰/۰۵$). بعد از شروع درمان، ۳ بيـــمار به علت هيپركالمي (۲ مورد) و سرفه خشك (۱ مورد) از مطالعه خارج شدند. با شروع درمان سطح مالون دآلدهيد در تمامي گروههاي ذكر شده به استثناي گرده پلاسبو كاهش يافت. سطوح مالون دآلدهيد در گروههاي كنترل مثبت، انالاپريل، لوزارتان و كنترل منفي قبل از شروع مداخله عبارت بود از: ۲/۱۳±۵/۸۱، ۲/۰۵±۵/۱۰، ۱/۶۱±۵/۲۰ و ۲/۱۲±۵/۲۷ nmol/ml (بـــــه ترتيب).

بعد از دو ماه درمان اين مقادير به ۰/۸۰±۱/۶۱ ($p=۰/۰۰۱$)، ۱/۰۱±۱/۶۸ ($p=۰/۰۰۳$)، ۰/۲۷±۱/۲۲ ($p=۰/۰۰۰$) و ۲/۰۳±۵/۰۷ nmol/ml ($p>۰/۰۵$) كاهش يافت. هيچ كدام از اين پروتكل‌هاي درماني در كاهش غلظت مالون دآلدهيد نسبت به هم ارجحيتي نداشتند ($p>۰/۰۵$) (شكل ۲). درجه كاهش مالون دآلدهيد در گروههاي فوق ذكر شده به ترتيب عبارت بودند از ۴/۲۰- (۷۲%)، ۳/۴۲- (۶۷%) و ۳/۹۸- (۷۶%) nmol/ml. با هر نوع رژيم درماني هيچ تغييري در سطوح HDL كلسترول، LDL كلسترول كلسترول تام و تري‌گليسريد حاصل نشد ($p>۰/۰۵$) (جدول ۲).



شكل ۱: طرح مطالعه cross-over براي بيماران پيوند كليه اي در طول درمان

شکل ۲: تغییرات میانگین سطوح مالون دآلدهید بعد درمان در گروههاي کنترل مثبت (n=۱۳)، انالاپریل (n=۱۲)، لوزارتان (n=۱۸)، و کنترل منفي (n=۱۸)، در بیماران پیوند کلیه اي، P<0.05*

جدول ۱: مشخصات دموگرافیک بیماران پیوند کلیه اي در گروههاي مختلف دارویي

مؤلفه ها	انالاپریل (n=۱۳)	لوزارتان (n=۲۰)	کنترل مثبت (n=۱۳)	کنترل منفي (n=۱۸)	P.value
سن (سال)	۳۲/۴۱ ± ۸/۸۲	۳۲/۶۸ ± ۴/۹۷	۳۷/۳۳ ± ۶/۴۲	۳۷/۳۳ ± ۶/۲۷	غیرمعني دار
جنسیت (مرد/زن)	۸/۵	۱۲/۸	۹/۴	۶/۱۲	غیرمعني دار
مدت زمان بعد پیوند (ماه)	۵۰/۰۸ ± ۲۲/۰۶	۲۰/۱۰ ± ۱۰/۵۸	۳۹/۵۴ ± ۱۶/۲۴	۴۴/۹۴ ± ۱۲/۵۴	غیرمعني دار
مدت زمان دیالیز قبل پیوند (ماه)	۲۱/۶ ± ۱۵/۶۸	۱۹/۸۴ ± ۸/۴۲	۱۳/۵۷ ± ۸/۸۳	۲۰/۲۶ ± ۹/۰۱	غیرمعني دار
علت زمینه اي نارسایي کلیه					غیرمعني دار
- گلومرولونفرویت مزمن	۳	۸	۴	۳	
- پیلونفریت مزمن	۲	۲	۲	۲	
- کلیه پلي کیستیک بالغین	۱	۱	۱	۲	
- دیابت شیرین	۱	۲	۱	۱	
- بیماریهاي بافت همبند	-	۱	۱	-	
- سندرم آلپورت	-	۱	-	۱	
- هیپرتانسیون	۲	۱	-	۱	
- نکروزکورتیکال حاد	-	-	-	۱	
- علت ناشناخته	۴	۴	۴	۷	
درمان ایمنوساپرسیو					غیرمعني دار
- سیکلوسپورین + کورتن + ایموران	۶	۱۰	۷	۱۰	
- سیکلوسپورین + کورتن + سل سپت	۷	۱۰	۶	۸	
پلي مورفیسم سیستم رنین ـ آنژیوتانسین					
- ژنوتیپ آنزیم مبدل آنژیوتانسین					غیرمعني دار
DD	۷	۷	۶	۶	
non-DD	۶	۱۳	۷	۱۲	
- ژنوتیپ آنژیوتانسینوژن					غیرمعني دار
TT	۹	۱۴	۵	۸	
non-TT	۴	۶	۸	۱۰	
- ژنوتیپ رسپتور نوع I آنژیوتانسین					غیرمعني دار
CC	۲	۴	۲	۳	
non-CC	۱۱	۱۶	۱۱	۱۵	

جدول ۲: مؤلفه هاي بيوشيميايي بين پلي مورفيسم هاي سيستم رنين ـ آنژيوتانسين قبل از مداخله دارويي در بيماران پيوند كليه اي

مؤلفه ها / پلي مورفيسم سيستم رنين ـ آنژيوتانسين	مالون دآلدهيد (nmol/ml)	تري گليسريد (mg/dl)	كلسترول تام (mg/dl)	(mg/dl) HDL-C	(mg/dl) LDL-C
ژنوتيپ آنزيم مبدل آنژيوتانسين					
DD -	۶/۹۱ ± ۲/۲۱*	۱۸۹ ± ۴۵/۱*	۱۹۰ ± ۳۸/۷	۴۵/۵ ± ۱۲/۵۱	۱۱۵ ± ۳۳/۹
non-DD -	۴/۷۳ ± ۱/۳۵	۱۴۸ ± ۴۷/۱	۱۹۵ ± ۴۳/۷	۴۵/۸ ± ۱۵/۹۹	۱۱۲ ± ۴۱/۵
ژنوتيپ آنژيوتانسينوژن					
TT -	۵/۷۴ ± ۲/۲۵	۱۸۴ ± ۴۳/۴	۲۰۲ ± ۴۸/۵	۴۴/۴ ± ۱۶/۱۳	۱۱۸ ± ۳۷/۵
non-TT -	۵/۴۲ ± ۲/۴۴	۱۷۱ ± ۴۵/۰	۱۸۹ ± ۳۸/۴	۴۴/۹ ± ۱۲/۶۷	۱۱۱ ± ۳۹/۵
ژنوتيپ رسپتور نوع I آنژيوتانسين					
CC -	۵/۷۲ ± ۲/۲۳	۱۵۳ ± ۴۳/۸	۱۶۶ ± ۳۶/۶	۴۷/۰ ± ۹/۴۳	۹۹ ± ۳۵/۰
non-CC -	۵/۴۵ ± ۲/۴۰	۱۷۷ ± ۵۷/۹	۱۷۶ ± ۴۱/۶	۴۵/۵ ± ۱۵/۲۲	۱۱۰ ± ۳۷/۸

* معني دار بين ژنوتيپهاي آنزيم مبدل آنژيوتانسين

جدول ۳: سطوح پراكسيداسيون ليپيدي (مالون د آلدهيد) بيماران پيوند كليه اي مطابق با پلي مورفيسم سيستم رنين ـ آنژيوتانسين قبل و بعد از درمان

گروههاي دارويي / پلي مورفيسم سيستم رنين ـ آنژيوتانسين	انالاپريل (n=۱۲)		لوزارتان (n=۱۸)		كنترل مثبت (n=۱۳)		كنترل منفي (n=۱۸)		P.value
	قبل درمان	بعد درمان	قبل درمان	بعد درمان	قبل درمان	بعد درمان	قبل درمان	بعد درمان	
ژنوتيپ آنژيم مبدل آنژيوتانسين									غيرمعني دار
DD -	۶/۵۲ ± ۲/۱۳	۴/۴۷ ± ۱/۲۳	۶/۴۷ ± ۲/۰۹	۴/۵۳ ± ۲/۰۶	۵/۹۳ ± ۲/۱۹	۳/۸۲ ± ۱/۵۳	۶/۰۲ ± ۲/۱۷	۶/۲۴ ± ۲/۲۳	
non-DD -	۴/۷۲ ± ۱/۳۳	۳/۲۵ ± ۱/۱۹	۴/۸۴ ± ۱/۴۰	۳/۱۹ ± ۱/۳۷	۴/۷۶ ± ۲/۰۱	۳/۰۱ ± ۱/۰۴	۵/۹۵ ± ۱/۳۲	۵/۶۰ ± ۱/۶۲	
ژنوتيپ آنژيوتانسينوژن									غيرمعني دار
TT -	۵/۶۳ ± ۲/۲۴	۳/۵۱ ± ۱/۳۱	۵/۸۰ ± ۲/۲۶	۴/۰۱ ± ۱/۱۹	۵/۴۲ ± ۲/۱۰	۳/۲۳ ± ۱/۱۶	۵/۷۶ ± ۱/۹۵	۵/۹۸ ± ۱/۸۶	
non-TT -	۵/۳۹ ± ۲/۴۳	۳/۲۳ ± ۱/۵۱	۵/۶۵ ± ۲/۷۲	۳/۹۴ ± ۱/۴۳	۵/۳۲ ± ۲/۸۶	۳/۲۲ ± ۱/۲۵	۵/۶۲ ± ۲/۰۱	۵/۷۸ ± ۲/۲۰	
ژنوتيپ رسپتور نوع I آنژيوتانسين									غيرمعني دار
CC -	۵/۶۷ ± ۲/۱۷	۴/۰۱ ± ۱/۶۳	۵/۷۲ ± ۲/۱۲	۳/۹۳ ± ۱/۴۲	۵/۷۹ ± ۲/۰۲	۳/۰۳ ± ۱/۰۲	۵/۹۲ ± ۲/۱۳	۵/۸۴ ± ۲/۰۳	
non-CC -	۵/۴۷ ± ۲/۴۵	۴/۲۲ ± ۱/۷۳	۵/۳۳ ± ۲/۱۷	۳/۸۶ ± ۱/۳۷	۵/۶۲ ± ۱/۹۷	۳/۱۴ ± ۱/۱۳	۵/۵۹ ± ۲/۱۱	۵/۳۹ ± ۲/۰۷	

در آناليز ارتباط بين پلي مورفيسم هاي سيستم رنين- آنژيوتانسين با سطوح اوليه مالون دآلدهيد و پروفايل ليپيدي تنها ژنوتيپ DD آنزيم مبدل آنژيوتانسين مالون دآلدهيد و تري‌گليسريد بالائي داشتند (به ترتيب p=۰/۰۱ و p=۰/۰۳)، اما هيچ كدام از پلي‌مورفيسم‌هاي ياد شده در كاهش استرس اكسيد اتيو مطابق گروه هاي داروئي نقش موثري نداشتند (p>۰/۰۵، جدول ۲ و۳).

به دنبال درمان هيچ تغييري در سطح كراتينين، اوره، الكتروليت‌ها، سطح سيكلوسپورين ايجاد نشد. فشار ميانگين شرياني در طول مدت پيگيري تغييري نداشت (جدول٤).

جدول ۴: مؤلفه هاي آزمايشگاهي بيماران پيوند كليه اي قبل و بعد از دو ماه درمان

مؤلفه ها	انالاپريل (n=۱۲)		لوزارتان (n=۱۸)		كنترل مثبت (n=۱۳)		كنترل منفي (n=۱۸)		P.value
	قبل درمان	بعد درمان	قبل درمان	بعد درمان	قبل درمان	بعد درمان	قبل درمان	بعد درمان	
هماتوكريت (%)	۲/۱ ± ۴۰/۷	۲/۸ ± ۳۸/۵	۲/۳ ± ۴۰/۷	۲/۷ ± ۳۸/۷	۱/۵ ± ۴۰/۷	۲/۶ ± ۳۷/۴	۱/۴ ± ۴۰/۶	۲/۴ ± ۳۹/۹	غيرمعني دار
اوره (mg/dl)	۷/۳ ± ۴۱/۳	۸/۴ ± ۴۸/۴	۶/۵ ± ۳۷/۷	۶/۱ ± ۴۳/۰	۱۸/۰ ± ۴۰/۲	۹/۳ ± ۵۳/۴	۱۶/۵ ± ۴۲/۱	۱۹/۲ ± ۴۱/۷	غيرمعني دار
كراتينين (mg/dl)	۰/۰۷ ± ۱/۱۵	۰/۱۵ ± ۱/۴۷	۰/۰۸ ± ۱/۴۰	۰/۰۷ ± ۱/۴۸	۰/۱۲ ± ۱/۲۷	۰/۲۳ ± ۱/۴۶	۰/۰۶ ± ۱/۳۵	۰/۰۵ ± ۱/۳۰	غيرمعني دار
سديم (mEq/L)	۵ ± ۱۳۷	۷ ± ۱۳۸	۹ ± ۱۳۸	۵ ± ۱۳۵	۳ ± ۱۳۹	۶ ± ۱۳۵	۵ ± ۱۴۰	۸ ± ۱۳۹	غيرمعني دار
پتاسيم (mEq/L)	۰/۳ ± ۴/۶۱	۰/۰۲ ± ۴/۵۸	۰/۲ ± ۴/۵۰	۰/۱ ± ۴/۵	۰/۳ ± ۴/۲۰	۰/۴ ± ۴/۸۰	۰/۱ ± ۴/۰۰	۰/۱ ± ۳/۹۰	غيرمعني دار
سطح سيكلوسپورين (ng/ml)	۳۲ ± ۱۹۴	۳۳ ± ۱۷۶	۲۵ ± ۲۵۶	۲۴ ± ۲۲۲	۲۲ ± ۲۳۵	۲۳ ± ۲۴۷	۲۶ ± ۲۵۰	۳۴ ± ۲۷۲	غيرمعني دار
فشار متوسط شرياني (mmHg)	۱۴/۸ ± ۹۵/۰	۱۰/۵س ± ۹۳/۰	۱۲/۴ ± ۱۰۵	۱۱/۸ ± ۱۰۰	۹/۱ ± ۱۰۴	۱۸/۳ ± ۸۴/۰	۱۴/۱ ± ۹۴/۰	۱۳/۸ ± ۹۷/۰	غيرمعني دار
HDL-C (mg/dl)	۱۰/۳۸ ± ۴۳/۰	۷/۸۴ ± ۵۴/۵	۶/۴۶ ± ۴۵/۸	۶/۰۱ ± ۴۵/۵	۸/۱۹ ± ۴۶/۸۱	۵/۶۱ ± ۴۵/۵	۷/۶۴ ± ۵۰/۸	۷/۲۵ ± ۵۶/۰	غيرمعني دار
LDL-C (mg/dl)	۲۴/۳ ± ۱۲۱	۲۴/۶ ± ۱۱۹	۱۴/۸ ± ۱۰۵	۱۸/۰ ± ۱۲۲	۱۴/۷ ± ۱۳۵	۱۶/۸ ± ۱۳۷	۱۸/۶ ± ۱۰۹	۱۶/۶ ± ۱۲۶	غيرمعني دار
تري گليسريد (mg/dl)	۳۰/۳ ± ۱۳۰	۳۳/۱ ± ۱۷۵	۱۳/۱ ± ۲۲۰	۵۴/۰ ± ۲۶۱	۳۴/۳ ± ۲۳۵	۴۲/۶ ± ۲۰۹	۳۶/۲ ± ۱۴۱	۳۲/۳ ± ۱۵۱	غيرمعني دار
كلسترول تام (mg/dl)	۲۶/۸ ± ۱۹۹	۳۱/۳ ± ۲۰۸	۲۲/۴ ± ۱۹۱	۲۶/۸ ± ۲۱۵	۳۵/۲ ± ۲۲۷	۲۶/۲ ± ۲۰۳	۲۰/۴ ± ۱۸۴	۲۹/۸ ± ۱۹۵	غيرمعني دار

۴- بحث

مطالعات مختلف به افزايش استرس اكسيداتيو در بيماران با نارسايي كليوي و دريافت كنندگان پيوند كليه اشاره داشته‌اند و اين آسيب با داروهائي نظير مهار كننده آنزيم مبدل آنژيوتانسين و بلوك كننده رسپتور آنژيوتانسين بهبود مي‌يابد (۲۳-۲۱ و۱۶-۹ و۴ و۳). يافته‌هاي ما نتايج مطالعات قبلي را در مورد نقش هر دوي انالاپريل و لوزارتان در كاهش استرس اكسيداتيو در دريافت كنندگان پيوند كليه تائيد كرد. با وجود اين، نقش پلي‌مورفيسم‌هاي سيستم رنين - آنژيوتانسين در پاتوژنز پراكسيداسيون ليپيدي و همچنين تاثير اين پلي‌مورفيسم‌ها در جواب به درمان به داروهاي آنتي‌اكسيداتيو كاملا مشخص نشده است. اين مطالعه براي اولين بار جهت تعيين نقش انالاپريل و يا لوزارتان در كاهش پراكسيداسيون ليپيدي به عنوان استرس اكسيداتيو در بيماران پيوند كليه‌اي راه اندازي شده است.

به نظر مي‌رسد راديكالهاي آزاد و فعال اكسيژن در ايجاد استرسهاي محيطي متنوع اغلب در اكثر بيماريهاي دژنراتيو نقش داشته باشد. به طور تيپيك پراكسيداسيون ليپيدي و غير فعال شدن پروتئين‌ها و موتاسيون DNA به دنبال فعاليت راديكال آزاد اكسيژن ايجاد مي‌شود اما به علت اينكه اين فرايندها سريع اتفاق افتاده و اغلب يكي از اجزاي فرايندهاي كمپلكس هستند ما توانستيم فقط قسمتي از اين فرايندها را بررسي نمائيم. مكانيسمي كه توسط آن راديكالهاي آزاد اكسيژن باعث آسيب غشاي ليپيدي سلولها مي‌شود به خوبي شناخته شده است. آسيب اكسيداتيو به طور وسيع در ارتباط بـا فرايندهاي پراكسيداسيون ليپـــــيدي مي باشد. جهت اندازه‌گيري پراكسيداسيون ليپيدي اندازه‌گيري مالون دآلدهيد، به عنوان آخرين سطح توليدات فرايند تجزيه‌اي ليپيدي كه به دنبال استرس‌اكسيداتيو حاصل مي‌شود بررسي ميگردد (۲). اخيرا مطالعات متعدد گزارش داده‌اند كه فعاليت سيستم رنين- آنژيوتانسين در ارتباط با كاهش عملكرد كليه پيوندي بوده و طول مدت بقاي پيوند را كاهش مي‌دهد (۸).

افزايش مالون دآلدهيد پلاسمائي در بيماران با نارسايي كليوي در مقايسه با جمعيت نرمال پيشنهاد كننده اين مطلب است كه در اين بيماران استرس‌هاي اكسيداتيو سيستميك افزايش يافته است. افزايش در توليدات سوپراكسيد عروقي از طريق NADH/ NADPH اكسيداز به دنبال فعاليت آنژيوتانسين II مي‌تواند مسئول افزايش استرس اكسيداتيو باشد. همچنين دركليه آنژيوتانسين II نقش موثري از طريق توليدات آنيوني سوپراكسيد توسط سلولهاي مزانژيال و توبولار دارد (۳۶-۲۴).

يافته اساسي مطالعه ما اين مطلب است كه استفاده از انالاپريل و لوزارتان مالون دآلدهيد را به عنوان نشانه‌اي از استرس اكسيداتيو كاهش مي‌دهد. اين حقيقت متشابه مطالعات قبل بود. براي مثال Khaper و همكارانش نقش بلوك كننده رسپتور آنژيوتانسين را در تنظيم استرس اكسيداتيو بررسي كرده ونتيجه گرفتند كه بلوك رسپتور نوع I آنژيوتانسين بدون مهار آنزيم مبدل

آنژيوتانسين، بيماريهاي عروقي را تحت تاثير قرار داده كه اين نقش سودمند به علت كاهش در استرس اكسيداتيو بوده است (۱۲). مطالعه ديگر نقش مهاري كاپتوپريل بر پراكسيداسيون ليپيدي و فعاليت پلاكتها را نشان داد (۲۲). Puri و همكارانش نيز گزارش دادند كه سطح مالون دآلدهيد توسط درمان با مهار كننده آنزيم مبدل آنژيوتانسين كاهش مي‌يابد (۲۷). يك مطالعه ديگر خاطر نشان كرد كه درمان با لوزارتان استرس اكسيداتيو را كاهش داده و عملكرد آندوتليال عروقي را بهبود مي‌بخشد (۱۱). مكانيسم زمينه‌اي اثرات فارماكولوژيك مهار كننده آنزيم مبدل آنژيوتانسين به طور كامل شناخته نشده است. با وجود اين، پتانسيل برادي كينين و فعاليت اتصال به راديكال‌هاي آزاد توسط مهار كننده آنزيم مبدل آنژيوتانسين شناخته شده است (۲۸). مخصوصا درمان با انالاپريل و كاپتوپريل فعاليت آنزيم‌هاي آنتي‌اكسيدان و آنتي‌اكسيدانهاي غير آنزيماتيك را در بافت‌هاي مختلف افزايش مي‌دهد؛ بعلاوه در گلبولهاي قرمز، تجمع آنتي‌اكسيدانها توسط مهار كننده آنزيم مبدل آنژيوتانسين مرتبط با حفاظت از آسيب اكسيداتيو مي‌باشد. به عبارت ديگر مهار كننده آنزيم مبدل آنژيوتانسين باعث كاهش تخريب برادي‌كينين مي‌شود. برادي‌كينين يك وازوديلاتور شناخته شده است كه باعث تحريك آزادسازي نيتريك اكسيد مي‌شود، با وجود اين، حضور نيتريك اكسيد به عنوان تنظيم كننده دفاع اكسيداتيو مشخص نشده است. در سيستم‌هاي مختلف نيتريك اكسيد توانايي افزايش و يا كاهش دفاع‌هاي آنتي‌اكسيداتيو دارد (۲۸). مكانيسمي كه بلوك كننده رسپتور آنژيوتانسين باعث بهبودي عملكرد آندوتليال مي‌شود اين است كه اين داروها باعث كاهش NADH/NADPH اكسيداز مي‌شود كه در نهايت باعث تشكيل آنيون سوپراكسيد شده و منجر به تحريك آزادسازي آنژيوتانسين II مي‌شود. مخصوصا نشان داده شده است كه لوزارتان به عنوان داروي ضد فشار خون باعث ايجاد فعاليتهاي آنزيمهاي آنتي‌اكسيداتيو نظير سوپراكسيد دسموتاز، كاتالاز، GSH پراكسيداز و هم اكسيژناز I مي‌شود. همچنين بلوك كننده رسپتور آنژيوتانسين باعث افزايش سطوح پلاسمايي آنژيوتانسين II مي‌شود (۲۹).

اثرات مهار كننده آنزيم مبدل آنژيوتانسين و بلوك كننده رسپتور آنژيوتانسين بر روي پروفايل ليپيدي هنوز به طور كامل شناخته نشده است. در مطالعات مداخله‌اي در بيماران هايپرتانسيو، لوزارتان در ارتباط با كاهش كلسترول تام و LDL كلسترول بدون تغيير معني‌دار HDL كلسترول بوده است (۳۰). مطالعات Easthope و Ito گزارش دادند كه درمان با اين داروها هيچ تاثيري روي پروفايل ليپيدي نداشته است (۳۱ و۳۲). مطالعه ما ثابت كرد كه لوزارتان و/ يا انالاپريل هيچ تاثيري بر محتواي ليپيدي ندارد. هيچ مدركي دال بر اثر پلي‌مورفيسم‌هاي سيستم رنين - آنژيوتانسين بر پروفايل ليپيدي وجود ندارد. براي اولين بار در اين مطالعه، ما ارتباط بين پلي‌مورفيسم‌هاي سيستم رنين - آنژيوتانسين با سطوح اوليه و بعد درمان با داروهاي ياد شده را مورد ارزيابي قرار داده و در نهايت اين موضوع آشكار شد كه تنها ژنوتيپ DD آنزيم مبدل آنژيوتانسين سطح تري گليسريد بالا، قبل درمان داشته است.

۵- نتيجه گيري

در نهايت اينكه اگر چه كه پراكسيداسيون ليپيدي در ژنوتيپ ژنوتيپ DD آنزيم مبدل آنژيوتانسين بيشتر مي‌باشد اما انالاپريل و/يـــا لوزارتان بـــدون ارتباط با پلي مورفيسم‌هاي سيستم رنين- آنژيوتانسين، باعث كاهش سطح مالون دآلدهيد مي‌شود اما با اين وجود، مطالعات اضافي‌تر با حجم نمونه بيشتر جهت تبيين ارتباط كامل اين موارد مورد نياز مي‌باشد.

۶- تشكر و قدرداني

اين مقاله قسمتي از پروژه‌اي است كه با حمايت مركز تحقيقات كاربردي – داروئي و معاونت پژوهشي دانشگاه علوم پزشكي تبريز انجام شده است.

از همكاري كاركنان درمانگاه تخصصي و فوق تخصصي شيخ‌الرئيس در انجام اين مطالعه نهايت تشكر و قدرداني را داريم. در نهايت اين مطالعه به تمام بيماراني كه در تمام دوره اين مطالعه همكاري لازم را با ما داشتند تقديم مي‌گردد.

7- References

1. Vural A., Yilmaz MI., Caglar K., Aydin A., Sonmez A., Eyileten T., et al. Assessment of oxidative stress in the early posttransplant period: comparison of cyclosporine A and tacrolimus-based regimens, Am J Nephrol., 2005, 25: 250-255.
2. Parildar M., Parildar Z., Oran I., Kabaroglu C., Memis A., Bayindir O. Nitric oxide and oxidative stress in atherosclerotic renovascular hypertension: effect of endovascular treatment, J Vasc Interv Radiol., 2003, 14: 887-892.
3. Steinerova A., Racek J., Stozicky F., Tatzber F., Lapin A. Antibodies against oxidized LDL--theory and clinical use, Physiol Res., 2001, 50: 131-141.
4. Boratynska M., Boratynski J., Klinger M., Szyber P., Pawlowski S., Pupka A., et al. Lipid peroxidation and cytokines in chronic allograft failure: influence of

nonimmunological risk factors, Transplant Proc., 2000, 32:1384-1386.
6. Eschwege P., Paradis V., Conti M., Holstege A., Richet F., Deteve J., et al. In situ detection of lipid peroxidation by-products as markers of renal ischemia injuries in rat kidneys, J Urol., 1999, 162: 553-557.
7. Zwolinska D., Grzeszczak W., Kilis-Pstrusinska K., Szprynger K., Szczepanska M. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in children with chronic renal failure, Pediatr Nephrol., 2004, 19: 888-892.
8. Mailloux LU., Napolitano B., Bellucci AG., Vernace M., Wilkes BM., Mossey RT. Renal vascular disease causing end-stage renal disease, incidence, clinical correlated, and outcomes: a 20-year clinical experience, Am J Kidney Dis., 1994, 24: 622-629.
9. Akcay A., Ozdemir FN., Atac FB., Sezer S., Verdi H., Arat Z., et al. Angiotensin-converting enzyme genotype is a predictive factor in the peak panel-reactive antibody response, Transplant Proc., 2004, 36: 35-37.
10. Yavuz D., Koc M., Toprak A., Akpinar I., Velioglu A., Deyneli O., et al. Effects of ACE inhibition and AT1-receptor antagonism on endothelial function and insulin sensitivity in essential hypertensive patients, J Renin Angiotensin Aldosterone Syst., 2003, 4:197-203.
11. Pechter U., Aunapuu M., Riispere Z., Vihalemm T., Kullissaar T., Zilmer K., et al. Oxidative stress status in kidney tissue after losartan and atenolol treatment in experimental renal failure, Nephron Exp Nephrol., 2004, 97: 33-37.
12. Bayorh MA., Ganafa AA., Eatman D., Walton M., Feuerstein GZ. Simvastatin and losartan enhance nitric oxide and reduce oxidative stress in salt-induced hypertension, Am J Hypertens., 2005, 18:1496-1502.
13. Khaper N., Singal PK. Modulation of oxidative stress by a selective inhibition of angiotensin II type1 receptors in MI rats, J Am Coll Cardiol., 2001, 37:1461-1466.
14. Agarwal R. Proinflammatory effects of oxidative stress in chronic kidney disease: role of additional angiotensin II blockade, Am J Physiol Renal Physiol., 2003, 284: 863-869.
15. Scribner AW., Loscalzo J., Napoli C. The effect of angiotensin-converting enzyme inhibition on endothelial function and oxidant stress, Eur J Pharmacol., 2003, 482: 95-99.
16. Strawn WB., Chappell MC., Dean RH., Kivlighn S., Ferrario CM. Inhibition of early atherogenesis by losartan in monkeys with diet-induced hypercholesterolemia, Circulation., 2000, 101: 1586-1593.
17. Kramer C., Sunkomat J., Witte J., Luchtefeld M., Walden M., Schmidt B., et al. Angiotensin II receptor-independent antiinflammatory and antiaggregatory properties of losartan: role of the active metabolite EXP3179, Circ Res., 2002, 90: 770-776.
18. Miller SA., Dykes DD., Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells, Nucleic Acids Res., 1988, 16: 1215.
19. Frishberg Y., Becker-Cohen R., Halle D., Feigin E., Eisenstein B., Halevy R. Genetic polymorphisms of the renin-angiotensin system and the outcome of focal segmental glomerulosclerosis in children, Kidney Int., 1998, 54:1843-1849.
20. Ohno T., Kawazu S., Tomono S. Association analyses of the polymorphisms of angiotensin-converting enzyme and angiotensinogen genes with diabetic nephropathy in Japanese non- insulin-dependent diabetics, Metabolism., 1996, 45: 218-222.
21. Yagi K. Lipid peroxides in hepatic, gastrointestinal, and pancreatic diseases, Adv Exp Med Biol., 1994, 366:165-169.
22. Perez Fernandez R., Martin Mateo MC., De Vega L., Bustamante Bustamante J., Herrero M., Bustamante Munguira E. Antioxidant enzyme determination and a study of lipid peroxidation in renal transplantation, Ren Fail., 2002, 24: 353-359.
23. Tkaczewski W., Kedziora J., Buczynski A., Dziekanski S., Ryniec A. [Effect of captopril on superoxide dismutase (SOD-1) activity and malondialdehyde (MDA) level in blood platelets in patients with arterial hypertension], Kardiol Pol., 1989, 32: 138-141.
24. Tepel M., Echelmeyer M., Orie NN., Zidek W. Increased intracellular reactive oxygen species in patients with end-stage renal failure: effect of hemodialysis, Kidney Int., 2000, 58: 867-872.
25. Rajagopalan S., Kurz S., Munzel T., Tarpey M., Freeman BA., Griendling KK., et al. Angiotensin II-mediated hypertension in the rat increases vascular superoxide production via membrane NADH/NADPH oxidase activation. Contribution to alterations of vasomotor tone, J Clin Invest., 1996, 15:1916-1923.
26. Hannken T., Schroeder R., Stahl RA., Wolf G. Angiotensin II-mediated expression of p27Kip1 and induction of cellular hypertrophy in renal tubular cells depend on the generation of oxygen radicals, Kidney Int., 1998, 54:1923-1933.
27. Jaimes EA., Galceran JM., Raij L. Angiotensin II induces superoxide anion production by mesangial cells, Kidney Int., 1998, 54: 775-784.
28. Puri VN., Saha S. Comparison of acute cardiovascular effects of cadmium and captopril in relation to oxidant and angiotensin converting enzyme activity in rats, Drug Chem Toxicol., 2003, 26: 213-218.
29. Mailloux A., Deslandes B., Vaubourdolle M., Baudin B. Captopril and enalaprilat decrease antioxidant defences in human endothelial cells and are unable to protect against apoptosis, Cell Biol Int., 2003, 27: 825-830.
30. Bayorh MA., Ganafa AA., Socci RR., Eatman D., Silvestrov N., Abukhalaf IK. Effect of losartan on oxidative stress-induced hypertension in Sprague-Dawley rats, Am J Hypertens., 2003, 16: 387-392.
31. Ogihara T., Yoshinaga K. The clinical efficacy and tolerability of the angiotensin II-receptor antagonist losartan in Japanese patients with hypertension, Blood Press Suppl., 1996, 2: 78-81.
32. Easthope SE., Jarvis B. Candesartan cilexetil: an update of its use in essential hypertension, Drugs., 2002, 62: 1253-1287.
33. Ito Y., Utsugi T., Ohyama Y., Ohno T., Uchiyama T., Tomono S., et al. Role of blood pressure in the progression of microalbuminuria in elderly Japanese type 2 diabetic patients: a 7-year follow-up study, J Int Med Res., 2001, 29: 280-286.