

Медицински университет София, Медицински факултет,
Катедра по вътрешни болести
УМБАЛ „Александровска“ ЕАД, София
Клиника по нефрология

АВТОРЕФЕРАТ

на дисертационен труд за получаване на научна и
образователна степен “доктор”

на тема:

**Мембранозен гломерулонефрит – ретроспективна и проспективна
оценка на еволюцията на болестта във връзка с лечението**

Докторска програма –“Нефрология”

Професионално направление – 7.1 Медицина

Област на висшето образование – 7. Здравеопазване и спорт

Докторант: д-р Невена Бранимирова Гергинова

Научен ръководител:

Проф. д-р Борис Богов, д.м.

София, 2017 г.

Медицински университет София, Медицински факултет,

Катедра по вътрешни болести
УМБАЛ „Александровска“ ЕАД, София
Клиника по нефрология

АВТОРЕФЕРАТ

на тема:

**Мембранозен гломерулонефрит – ретроспективна и проспективна
оценка на еволюцията на болестта във връзка с лечението**

Докторант: д-р Невена Бранимирова Гергинова

Научен ръководител: Проф. д-р Борис Богов, д.м.

Защитата на дисертационния труд ще се състои пред научно жури в състав:

1. Проф. д-р Борис Илиев Богов, д.м. – вътрешен член, УМБАЛ – „Александровска“, Клиника по нефрология, Медицински факултет при МУ, научен ръководител – с рецензия.
2. Проф. д-р Боряна Петрова Делийска, дмн – вътрешен член, УМБАЛ „Царица Йоана-ИСУЛ“, Клиничен център по нефрология, Медицински факултет при МУ – със становище.
3. Доц. Д-р Велислава Димитрова Димитрова, д.м. – външен член, УМБАЛ „Лозенец“, Медицински факултет при СУ „Св. Климент Охридски“ – със становище.
4. Проф. д-р Валентин Христофоров Икономов, д.м. – външен член, УМБАЛ „Св. Марина“, Медицински факултет при МУ Варна – с рецензия.
5. Доц. д-р Емил Павлов Кумчев, д.м. – външен член, УМБАЛ „Каспела“, Медицински факултет при МУ Пловдив – със становище.

Резервни членове:

1. Доц. д-р Реджина Жак Джераси, д.м. – вътрешен член, МФ, МУ-София
2. Доц. д-р Валентин Любомиров Мушеков, д.м. – външен член, УМБАЛСМ „Н.И. Пирогов“, който става редовен при отсъствието на външен титуляр

Дисертационният труд съдържа 139 страници, 6 фигури, 98 таблици, 178 цитирани статии.

Публичната защита ще се състои на 11.10.2017 г. от 14 ч. в Клиника по нефрология на УМБАЛ „Александровска“ ЕАД.

Използвани съкращения:

МГН – Мембранозен гломерулонефрит

иМГН – Идиопатичен мембранозен гломерулонефрит

ГБМ – Гломерулна базална мембрана

АН – Артериално налягане

ХБН – Хронична бъбречна недостатъчност

АКТХ – Адreno-кортикотропен хормон

КС – Кортикостероиди

ГИТ – Гастроинтестинален тракт

КНИ – калциневринови инхибитори

СЛЕ – Системен лупус еритематодес

ММФ – Микофенолат мофетил

ARB – angiotensin II receptor blockers

МАС – membrane attack complex

PLA2R – Phospholipase A2 Receptor

NEP – neutral endopeptidase

MBL – mannan binding lectin

SIR – standardized incidence ratio

MDRD – Modification of Diet in Renal Disease

ВЪВЕДЕНИЕ

Мембранозният гломерулонефрит (МГН) е най-често срещаното гломерулно заболяване водещо до развитие на нефрозен синдром при възрастни. МГН може да бъде първичен (идиопатичен) или вторичен при други заболявания. Идиопатичният мембранозен гломерулонефрит (иМГН) е антитяло-медирано гломерулно заболяване, без дефинирана етиология, хистологично характеризира се с равномерно задебеляване на гломерулните базални мембрани (ГБМ), причинено от субепителни депозити на имунни комплекси.

Лечението на мембранозния гломерулонефрит може да бъде симптоматично или патогенетично, според тежестта на протеинурията, бъбречната функция и риска от прогресия. Симптоматичната терапия е препоръчителна при пациенти с нисък риск от прогресия – нормален креатининов клирънс, протеинурия < 4.0 г/24 часа и стабилна бъбречна функция в продължение на 6 месеца. Тя включва диетичен режим с ограничение на белтъчния внос (0.8 г/кг идеално телесно тегло/дн висококачествен протеин) и контрол на артериалното налягане (таргетно АН<125/75 mmHg), хиперлипидемията и отоците. Патогенетичното лечение се прилага при пациенти със среден и висок риск от прогресия. То включва приложението на широк спектър от лекарствени вещества: кортикостероиди, алкилиращи агенти, Циклоспорин, Такролимус, микофенолат-мофетил, АКТХ и по-нови вещества, продукт на генното инженерство, като Ритуксимаб и Екулизумаб. Тъй като монотерапията рядко е ефективна при МГН, обичайно се започва схема на лечение включваща повече от един медикамент. Съществуват различни схеми, включващи различни групи имуномодулиращи средства.

Въпреки множеството агенти и схеми на лечение около 30% от пациентите с иМГН прогресират до терминален стадий на бъбречна недостатъчност. Също така използваните при лечението на иМГН медикаменти, често дават множество странични ефекти, включително захарен диабет, стерилитет, неоплазми и др. Необходими са алтернативни агенти с наличие на по-малко странични ефекти, но все още

няма такива с доказана ефективност по отношение на постигане на трайна ремисия и бъбречна преживяемост.

Мембранозният гломерулонефрит е отдавна известно заболяване. През годините са се задълбочили познанията върху патогенезата и хистоморфологичните промени при различните стадии, съставени са схеми и алгоритми за лечение, включващи разнообразни имunosупресивни агенти. Въпреки това, не малка част от болните не успяват да постигнат клинично-лабораторна ремисия и заболяването прогресира до терминален стадий на бъбречна недостатъчност. Също така, използваните за лечение медикаменти крият висок риск от развитие на сериозни странични ефекти, включително захарен диабет, неоплазми, стерилитет, тежки инфекции. Продължава търсенето на нови, алтернативни медикаменти с добър ефект по отношение на бъбречната преживяемост и по-малко нежелани реакции. Доказването на ефикасността и безопасността им изисква провеждането на рандомизирани контролирани проучвания, което отнема години. Дотогава е необходимо оптимизиране и индивидуализиране на съществуващите схеми на лечение, за постигане на максимална ефективност при минимизиране на страничните ефекти.

Настоящото проучване проследява ретроспективно и проспективно пациенти с доказан МГН, при които са налични различни придружаващи заболявания и са прилагани различни терапевтични схеми. Направен е обстоен анализ на разликите в хода на болестта при различните пациенти в зависимост от пола, възрастта и наличието на захарен диабет. Сравнена е прогресията на заболяването и е направен анализ на честотата на ремисиите и рецидивите при използването на различни комбинации от имуномодулиращи медикаменти, за да се определи оптимален алгоритъм за лечение – терапевтична схема с добро повлияване на клинично-лабораторните изяви на болестта и минимален риск от изява на странични ефекти.

ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

ЦЕЛ: ДА СЕ ОЦЕНИ ЕФЕКТА ОТ ПРИЛАГАНИТЕ ТЕРАПЕВТИЧНИ СХЕМИ ПРИ ПАЦИЕНТИ С МОРФОЛОГИЧНО ДОКАЗАНА МЕМБРАНОЗНА НЕФРОПАТИЯ.

ЗАДАЧИ

1. Клинично протичане на МГН в зависимост от пола и възрастта.
2. Корелация между хистологичен стадий и еволюция на болестта.
3. Клинично протичане на МГН при болни със ЗД Тип 2 в сравнение със стероиден.
4. Оценка на бъбречната функция преди и след лечението при различните групи.
5. Изграждане на терапевтичен алгоритъм.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

1. МАТЕРИАЛ

За периода 01.2009 – 01.2017 са изследвани 92 пациенти с хистологично доказан мембранозен гломерулонефрит на средна възраст 54.37 години \pm 15.37, 18-77 години – 56 мъже и 36 жени.

Двадесет от болните (11 мъже и 9 жени), не са включени в статистическите изчисления, поради недостатъчно дълго проследяване.

Остават 72 болни разпределени както следва в следните групи.

Таблица №1 – разпределение по пол

Пол	N	%	Възраст			
			Mean	SD	Min	Max
Мъже	45	62,5	53,51	14,233	18	77
Жени	27	37,5	50,96	13,710	21	68
Общо	72	100,0	52,56	13,997	18	77

Таблица №2 – разпределение по възраст

Възрастова група	N	%
\leq 35 г.	11	15,3
36-65 г.	46	63,9
> 65 г.	15	20,8
Общо	72	100,0

Болните са проследявани за период, не по-малък от 12 месеца. В рамките на проследявания период, за целите на настоящото проучване термините «ремисия» и «рецидив» са дефинирани както следва: непълна ремисия – нормални стойности на общ белтък и албумин, протеинурия 2.0-0.2 г/24 часа и намаляване на протеинурията с не по-малко от 50% от пиковата ѝ стойност; пълна ремисия - нормални стойности на общ белтък и албумин, протеинурия под 0.2 г/24 часа; рецидив – повишаване на протеинурията с над 2.0 г/24 часа, след достигане на каквато и да е ремисия.

Наличната информация е въведена и систематизирана във вид на компютърна база данни (Microsoft Office Excel)

2. МЕТОДИ НА ИЗСЛЕДВАНЕ

2.1. Анамнеза – На всички пациенти беше снета подробна анамнеза – анамнеза за първа клинична изява на симптомите на заболяването, предшестваща влошена бъбречна функция, инфекции, информация за прием на медикаменти, минали и придружаващи заболявания; фамилна анамнеза за генетични болести и вродени малформации.

2.2. Физикален статус - на всички участници е снет пълен физикален статус. Измерване на артериалното налягане с anerоиден сфигмоманометър в седнало положение след поне 5 минутен покой, трикратно. На всички участници се измериха ръст (см) и телесно тегло (кг). Креатининовият клирънс (eGFR) се изчисли по формулата на Modification of Diet in Renal Disease Study Equation for Estimating Glomerular Filtration Rate with Standardized Serum Creatinine Values (MDRD) в mL/min/1.73 m².

2.3. Клинико-лабораторни методи - Взети са венозна кръв и урина при стандартни условия и чрез стандартизирани методи. Изследвани са общ

белтък, албумин, серумен креатинин, урея. Количествена протеинурия е изследвана в 24-урина, като стойностите са в грама/24 часа.

2.4. Абдоминална ехография - Ултразвуково изследване: на всички участници в проучването се осъществи В-мод абдоминална ехография с апарат ESAOTE-MYLAB-60 и ALOKA. Изследването се провежда на гладно, първоначалното положение на пациента на кушетката е по гръб, след което поетапно се оглежда и в странично положение и по корем. Оценката на тежестта на промените се извърши от няколко високо квалифицирани специалисти. На всички участници в проекта се определиха ехографски следните параметри: надлъжен размер на бъбреците, дебелина на бъбречният паренхим, видимост на пирамиди и ехогенност на бъбречния кортекс. Промените в последния показател се стадират в четири степени: 0-ва степен на ехогенност (нормална ехогенност); 1-ва степен- леко повишена ехогенност спрямо черния дроб; 2-ра степен на умерено повишена ехогенност; 3-та степен-трудно се отличава паренхим от ренален синус.

2.5. Пункционна бъбречна биопсия – При всички пациенти е осъществена перкутанна пункционна бъбречна биопсия (ПББ) след подписано информирано съгласие. Бъбречната биопсия е проведена с автоматична система Gun и биопсична игла G 16/20, на сляпо, при предварителна ултразвукова локализация на левия бъбрек. Всеки материал от бъбречната биопсия е оцветен с хематоксилин-еозин, Конго-червено (за изключване на амилоидоза) и е осъществено имунофлуоресцентно изследване. При необходимост е осъществена и електронна микроскопия. При всички болни е хистологично верифициран мембранозен гломерулонефрит.

2.6. Статистически методи – данните за количествените променливи с параметрично разпределение са представени със средни стойности и стандартно отклонение ($M \pm SD$), а непараметрично разпределените променливи – с медиана и интреквартилен размах ($Me; IQR$). Данните от проучването са обработени със софтуерни статистически пакети SPSS v. 13.0 IBM и EXEL for Windows. Използвани са следните статистически методи:

1.) Дескриптивна статистика

- средна аритметична, медиана – мерки за оценка на централната тенденция;
- стандартно отклонение – мярка за оценка на разсейването;
- честотни таблици - абсолютни честоти – броят на единиците в отделно взета група; относителни честоти – броят на единиците в отделно взета група отнесен към общия брой единици в съвкупността;
- графично представяне на резултатите - стълбовидни и бокс-плот диаграми-за представяне на обобщаващи статистически характеристики, секторни диаграми-представяне на относителни честоти.

2.) Тест на Колмогоров-Смирнов при една извадка (One-Sample Kolmogorov-Smirnov test) или тест на Шапиро-Уйлк (Shapiro-Wilk test) – за сравнение на формата на честотните разпределения на количествените променливи с формата на нормалното разпределение.

3.) Хи-квадрат тест (Chi-square test) или точен тест на Фишер (Fisher's exact test) – за изследване на зависимости между описателни (категорийни) данни с две или повече категории. Теста се основава на кръстосана таблица (таблица на спрегнатост)

4.) Дисперсионен анализ при повторни измервания (Repeated Measures ANOVA) - проверка за равенство на средните на повече от две групи при нормално разпределение на изследваната променлива.

5.) Тест за множествени сравнения (Post Hoc Test – Sidak). Приложен е след ANOVA за подвойкови сравнения на повторните измервания.

6.) Непараметричен тест на Фридман (Friedman test) – сравняване на повече от две зависими групи (повторни измервания), при рангови данни или когато формата на честотното разпределение е различна от формата на нормалното разпределение

7.) Непараметричен тест на Кръскал-Уолис (Kruskal-Wallis test) при сравняване на повече от две независими групи – използва се при рангови

данни или когато формата на честотното разпределение е различна от формата на нормалното разпределение.

8.) Непараметричен тест на Ман-Уитни (Mann-Whitney test) при сравняване на две независими групи – използва се при рангови данни или когато формата на честотното разпределение е различна от формата на нормалното разпределение.

Използваното критично ниво на значимост е $\alpha=0,05$. Съответната нулева хипотеза се отхвърля, когато Р стойността (P-value) е по-малка от α .

При статистическата обработка на данните за избягване на прекалено малките групи и по-висока статистическа достоверност, хистологичните стадии на МГН са групирани условно в три групи – начален (включващ 1ви и 1 към 2 стадии), среден (2ри стадий) и напреднал (включващ 2 към 3 и 3ти стадии).

2.7. Други изследвания – мембранозният гломерулонефрит е верифициран като първичен или вторичен след провеждане на изследвания за доказване или отхвърляне наличието на неоплазми (фиброгастроскопия (ФГС), фиброколоноскопия (ФКС), рентгенография на бели дробове, гинекологичен преглед за жените и изследване на PSA при мъжете), системни заболявания (имунологични изследвания, клинични данни), хепатит (HBs-антиген, anti-HCV).

РЕЗУЛТАТИ

1. Възрастово-полова структура

1.1 Пол

От изследваните 72 пациенти, 45 (62.5%) са мъже и 27 (37.5%) са жени. Отбелязва се лек превес на мъжкия пол спрямо женския.

При пациентите от женски пол се наблюдава сигнификантно по-ниска протеинурия както при изявата на болестта, така и при последващите измервания (табл. №1).

Табл. №1 Протеинурия в зависимост от пола

Показател	Група	N	Mean	Median	SD	Min	Max	U	p
протеинурия1	Мъже	45	9,82	8,00	5,91	1,00	26,00	412,0	0,022
	Жени	27	7,04	6,00	5,47	1,00	27,00		
протеинурия2	Мъже	45	5,84	5,00	4,01	0,00	15,00	301,0	<0,001
	Жени	27	2,78	2,00	2,41	0,00	9,00		
протеинурия3	Мъже	45	4,67	3,00	4,69	0,00	19,00	351,0	0,002
	Жени	27	1,85	1,00	1,96	0,00	7,00		
протеинурия4	Мъже	45	3,69	2,00	5,20	0,00	27,00	385,5	0,008
	Жени	27	1,52	0,00	2,49	0,00	9,00		

Подобна зависимост от пола се забелязва и при нивата на общия белтък и албумина. Няма съществена разлика в eGFR при мъже и жени.

По отношение на ремисиите на заболяването няма съществена разлика между половете за пациентите недостигащи ремисия – малкопо-висока е честотата при мъжете недостигащи изобщо ремисия – 18%, спрямо 11% при жените. Пълните ремисии се срещат сигнификантно по-често при женския пол, докато при мъжете са по-чести непълните ремисии. (табл. №2).

При пациентите достигнали до каквато и да било ремисия, честотата на рецидивите не показва корелация с пола

Табл. № 2 Ремисии при двата пола

ремисия	Статистика	Мъже	Жени	Общо	р
Не	N	8	3	11	0.030
	%	17.8%	11.1%	15.3%	
Непълна	N	23	7	30	
	%	51.1%	25.9%	41.7%	
Пълна	N	14	17	31	
	%	31.1%	63.0%	43.1%	
Общо	N	45	27	72	
	%	100.0%	100.0%	100.0%	

1.2 Възраст

Средната възраст на първоначална изява на заболяването е $52,56 \pm 14$ години, като при мъжете е $53,51 \pm 14,2$ години, а при жените $50,96 \pm 13,7$ години.

Най-често заболяването се изявява за първи път във възрастта 36-65 години (63.9%), като под и над тази възраст процентът на първа изява е приблизително равен (съответно 15.3% и 20.8%). (табл. №3).

Табл. №3 Възрастова структура

Възрастова група	N	%
≤ 35 г.	11	15,3
36-65 г.	46	63,9
> 65 г.	15	20,8
Общо	72	100,0

Възрастта в която се изявява за първи път МГН не показва статистически значима корелация с нивата на протеинурията, общия белтък, серумния албумин и бъбречната функция. Въпреки това, в групата над 65 години

се отчита известно намаляване на eGFR (табл. №4), което най-вероятно не е свързано с гломерулната болест, а е проява на физиологичното отпадане на бъбречна функция с възрастта.

Табл. №4 Стойности на eGFR в зависимост от възрастта

Показател	Възрастова група	N	Mean	Median	SD	Min	Max	Chi-Square	p
eGFR1	≤35	11	73,64	55,00	46,55	4,00	134,00	1,17	0,556
	36-65	46	70,93	73,00	27,79	16,00	125,00		
	>65	15	61,67	58,00	33,96	6,00	132,00		
eGFR2	≤35	11	72,36	78,00	39,59	9,00	129,00	1,83	0,400
	36-65	46	70,41	74,50	27,45	9,00	126,00		
	>65	15	61,27	53,00	25,14	19,00	108,00		
eGFR3	≤35	11	82,82	91,00	40,66	15,00	153,00	3,73	0,155
	36-65	46	72,17	69,50	28,98	13,00	130,00		
	>65	15	58,27	52,00	23,83	17,00	99,00		
eGFR4	≤35	11	77,91	79,00	38,15	9,00	121,00	3,51	0,173
	36-65	46	67,65	67,50	29,18	5,00	121,00		
	>65	15	56,87	58,00	25,56	28,00	101,00		

Изследваните болни имат следните придружаващи заболявания: артериална хипертония - 65 болни (90.35%), захарен диабет - 23 пациенти (32%), като при 9 от тях (12.5%) захарният диабет предшества гломерулното заболяване, а при 14 (19.5%) се развива в хода на лечението. Със системен лупус са 8 болни (11.1%), хепатит 3 (4.2%).

2. Първични и вторични гломерулонефрити

При изследваните от нас болни, се наблюдава значителен превес на вторичните форми при женския пол (табл. №5).

Табл. №5 Първичен и вторичен МГН според пола

Пол	Статистика	Първичен	Вторичен	Общо	р
Мъже	N	42	3	45	0,034
	%	67,7%	30,0%	62,5%	
Жени	N	20	7	27	
	%	32,3%	70,0%	37,5%	
Общо	N	62	10	72	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	

Не се наблюдава статистически значима разлика между първичните и вторичните форми според възрастта на първа изява на заболяването. Няма значими разлики в количествената протеинурия, нивата на общ белтък и албумин, креатинина и eGFR при първичният и вторичен МГН, при всяко от направените измервания.

По отношение на провежданото лечение няма статистически значима разлика в използваните агенти при лечението на първичните и вторичните форми. Изключение прави приложението на Имуран (Азатиоприн), който се прилага предимно при лечението на вторичната мембранозна нефропатия (табл. №6).

Табл. №6 Лечение с Имуран при първичен и вторичен МГН

Имуран	Статистика	Първичен	Вторичен	Общо	р
Не	N	56	5	61	0,006
	%	90,3%	50,0%	84,7%	
Да	N	6	5	11	
	%	9,7%	50,0%	15,3%	
Общо	N	62	10	72	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	

При пациентите лекувани с Циклофосфамид, начинът на приложение (орално или интравенозно), както и приложените кумулативни дози не зависят от това дали се касае за първичен или вторичен гломерулонефрит.

Процента на пълните и непълни ремисии, както и този на рецидивите е подобен при първичните и вторичните форми.

3. Мембранозен гломерулонефрит и захарен диабет

От пациентите с наличие на захарен диабет, при изследваните от нас болни, такъв предхождащ гломерулната болест се наблюдава само при мъжете. При пациентите със захарен диабет развил се в хода на терапията няма разлика между мъжки и женски пол (табл. №7).

Табл. №7 Захарен диабет при МГН според пола

Пол	Статистика	Захарен диабет			Общо	р
		Не	известен преди ПББ	появил се след ПББ и лечение		
Мъже	N	30	9	6	45	0,012
	%	61,2%	100,0%	42,9%	62,5%	
Жени	N	19	0	8	27	
	%	38,8%	0,0%	57,1%	37,5%	
Общо	N	49	9	14	72	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

Няма сигнификантна корелация между възрастта на изява на гломерулонефрита и захарния диабет. Стадият в който е верифицирано заболяването няма връзка с наличието или липсата на захарен диабет.

По отношение на лечението не се наблюдава съществена разлика в терапевтичните схеми при пациентите със и без захарен диабет, независимо от момента на изявата му. При лечението с кортикостероиди

няма корелация между захарния диабет и пътя им на приложение – пулсово и перорално или само перорално.

Няма статистически значима разлика в достигането на ремисия между диабетици и не диабетици, въпреки че процентът на пациентите с предхождащ захарен диабет достигнали пълна ремисия е по-нисък, в сравнение с тези без диабет или такъв развил се в последствие – съответно 11%, 45% и 57% (табл. №8).

Табл. №8 Ремисии при МГН и захарен диабет

ремисия	Статистика	Захарен диабет			Общо	p
		Не	известен преди ПББ	появил се след ПББ и лечение		
Не	N	8	2	1	11	0,227
	%	16,3%	22,2%	7,1%	15,3%	
Непълна	N	19	6	5	30	
	%	38,8%	66,7%	35,7%	41,7%	
Пълна	N	22	1	8	31	
	%	44,9%	11,1%	57,1%	43,1%	
Общо	N	49	9	14	72	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

Процентът на пациентите с поне един рецидив на болестта е най-голям при тези със стероиден захарен диабет, като резултатът е на границата на статистическата значимост ($p=0.08$) (табл. №9).

Табл. №9 Рецидиви при МГН и захарен диабет

рецидив	Статистика	Захарен диабет			Общо	p
		Не	известен преди ПББ	появил се след ПББ и лечение		
Не	N	22	4	3	29	0,008
	%	53,7%	57,1%	23,1%	47,5%	
Да	N	19	3	10	32	
	%	46,3%	42,9%	76,9%	52,5%	
Общо	N	41	7	13	61	
	%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

Налице е статистически значима разлика в нивата на протеинурията след началната при пациенти със и без захарен диабет, като при пациентите с предхождащ гломерулонефрита диабет тя е по-висока (табл. №10).

Табл. №10 Протеинурия при МГН и захарен диабет

Показател	Захарен диабет	N	Mean	Median	SD	Min	Max	Chi-Square	p
Протеинурия 1	Не	49	7,98	7,00	4,88	1,00	22,00	1,87	0,392
	известен преди ПББ	9	12,33	10,00	8,82	1,00	26,00		
	появил се след ПББ и лечение	14	9,29	8,00	6,39	2,00	27,00		
Протеинурия 2	Не	49	4,02	4,00	2,93	0,00	14,00	9,45	0,009
	известен преди ПББ	9	9,56	9,00	5,15	2,00	15,00		
	появил се след ПББ и лечение	14	3,93	3,00	3,38	0,00	10,00		
Протеинурия 3	Не	49	3,39	2,00	3,95	0,00	19,00	4,94	0,08
	известен преди ПББ	9	6,78	5,00	5,91	1,00	16,00		
	появил се след ПББ и лечение	14	2,36	1,50	2,13	0,00	7,00		
Протеинурия 4	Не	49	2,57	1,00	3,54	0,00	18,00	5,48	0,06
	известен преди ПББ	9	6,56	3,00	8,66	0,00	27,00		
	появил се след ПББ и лечение	14	1,57	1,00	2,44	0,00	8,00		

Съответно са налични разлики в нивата на общия белтък и албумина, но няма разлика между групите по отношение нивата на серумния креатинин и eGFR.

4. Хистологични стадии на МГН

При статистическата обработка на данните за избягване на прекалено малките групи и по-висока статистическа достоверност, хистологичните стадии на МГН са групирани условно в три групи – 1 - начален

(включващ 1ви и 1 към 2 стадии), 2 - среден (2ри стадий) и 3- напреднал (включващ 2 към 3 и 3ти стадии).

Не се наблюдава корелация между хистологичния стадий на заболяването и пола, както и между стадия и възрастовата група. Няма разлика в използваните схеми на лечение при различните стадии, нито в приложените кумулативни дози Циклофосфамид.

Макар и без статистическа значимост, се наблюдава тенденция към намаляване на процента на пълните ремисии при пациентите с по-напреднал хистологичен вариант на МГН, както и по-висок процент на пациентите недостигащи ремисия при 2-3 и 3ти хистологичен стадий (табл. №11).

Табл. №11 Ремисии при различните хистологични стадии на МГН

ремисия	Статистик а	Стадий			Общо	р
		1	2	3		
Не	N	4	2	5	11	0,488
	%	11,8%	10,0%	27,8%	15,3%	
Непълна	N	13	10	7	30	
	%	38,2%	50,0%	38,9%	41,7%	
Пълна	N	17	8	6	31	
	%	50,0%	40,0%	33,3%	43,1%	
Общо	N	34	20	18	72	
	%	100,0 %	100,0 %	100,0 %	100,0 %	

Процентът на рецидиви е сходен при всички стадии на заболяването. Няма зависимост между хистологичния стадий и нивата на протеинурия, общ белтък, серумен албумин и бъбречна функция.

Няма разлика в използваните схеми на лечение при различните стадии, нито в приложените кумулативни дози Циклофосфамид.

6. Лечение

Всички болни, с изключение на 4 (5.6%) са лекувани най-малко с два имуносупресивни медикамента. От посочените 4 – двама са лекувани само с кортикостероид, един само с Циклофосфамид и един само с Циклоспорин А. От останалите болни – 47 (65.8%) са лекувани с комбинация от два имуносупресора, 15 (21%) болни са лекувани с три медикамента и 6 (8.4%) са лекувани с четири имуносупресивни агента (фиг. №1).



Фиг. №5 Схеми на лечение

По групи имуносупресори 70 болни (97.3%) са лекувани с кортикостероиди, 67 (93.1%) с Циклофосфамид, 11 (15.4%) с Имуран, 10 (14%) с Циклоспорин А, по 4 (5.6%) с Хлорамбуцил и ММФ (фиг. №2).



Фиг. №6 Пациенти по видове имunosупресори

Основната група болни – 46 пациента (65%) са лекувани с комбинация от кортикостероид (прилаган пулсово и след това п.о или само п.о.) и Циклофосфамид (пулсово, п.о. или комбинирано). При 13 от тях, след неповлияване от първоначалната схема на лечение е добавен трети имunosупресор (при 7 – Азатиоприн и при 5 Циклоспорин А). При останалите болни са използвани различни комбинации от имunosупресивни медикаменти, като всички те включват кортикостероид и Циклофосфамид и един или повече други медикаменти.

Начина на приложение на кортикостероидите (пулсово и п.о. или само п.о.) не корелира с нивата на протеинурията, стойностите на общия белтък и албумина и бъбречната функция.

При пациентите, при които към терапията е добавен Циклоспорин А се отбелязва сигнификантно повлияване на протеинурията (табл. №77), най-вече в късните етапи на проследяване, и съответстващо, макар и по-слабо

изявено повишаване на стойностите на общия белтък и албумина при по-късните изследвания.

Табл. №12 Лечение с Циклоспорин и протеинурия

Показател	Циклоспорин	N	Mean	Median	SD	Min	Max	U	p
протеинурия1	Не	62	8,39	7,00	5,60	1,00	27,00	241,0	0,260
	Да	10	11,20	10,00	7,21	3,00	25,00		
протеинурия2	Не	62	4,21	4,00	3,37	0,00	15,00	174,5	0,026
	Да	10	7,70	6,50	4,95	2,00	15,00		
протеинурия3	Не	62	3,00	2,00	3,57	0,00	19,00	113,0	0,001
	Да	10	7,40	5,00	5,36	3,00	16,00		
протеинурия4	Не	62	2,00	1,00	2,63	0,00	10,00	114,0	0,001
	Да	10	8,30	4,50	8,59	1,00	27,00		

По-изразеният ефект при по-късните изследвания, може да се обясни с това, че Циклоспорин А е включван по-късно към терапията, при неповлияване от първоначалното лечение.

Въпреки че Циклоспорин А има доказан нефротоксичен ефект, при изследваните от нас болни не се наблюдава сигнификантна разлика по отношение на бъбречната функция между пациентите получавали Циклоспорин и останалите.

При пациентите лекувани с Циклофосфамид няма корелация между начина на приложение (перорално или пулсово) и стойностите на протеинурията, общия белтък и албумина при всички изследвания. Пътя на приложение не корелира и с бъбречната функция.

Не се наблюдават статистически значими разлики обусловени от дозата в нивата на протеинурията, общия белтък, серумния албумин и eGFR.

При пациентите лекувани с Циклофосфамид няма значима разлика за достигането до ремисия при различните кумулативни дози и пътя на приложение (и.в. и п.о.). Наблюдава се корелация между приложената кумулативна доза и наличието на рецидиви на заболяването.

Проследени в динамика, в хода на лечението се наблюдава сигнификантно повлияване на протеинурията и повишаване на стойностите на общия белтък и албумина, липсва обаче статистически изявен ефект по отношение на бъбречната функция.

При сравнение по двойки на отделните измервания на протеинурията, общият белтък, албумина и бъбречната функция се вижда същата зависимост, което показва, че ефектът от терапията се запазва във времето.

ОБСЪЖДАНЕ

Мембранозният гломерулонефрит е една от най-често срещаните гломерулопатии при възрастни. При около 30% от болните заболяването прогресира и води до терминална бъбречна недостатъчност, въпреки приложеното лечение.

Настоящото проучване има за цел да определи рисковите фактори за прогресия на заболяването и да предложи схеми на лечение с оптимално съотношение ефективност/безопасност.

Един от рисковите фактори за прогресия е мъжкият пол. Нашето проучване потвърждава, че гломерулното заболяване при жените протича със значимо по-ниски нива на протеинурията, както при първоначалната му изява, така и при последващите измервания. При изследваните от нас болни статистически значими разлики между двата пола се отчитат при всички стойности на протеинурията, но по отношение на стойностите на общия белтък и албумина, такива разлики се наблюдават при междинните измервания, но не и в началото и края на проследявания период. В световната литература се описва и намалена бъбречна преживяемост при мъжкия пол. В нашето проучване има статистически значима разлика в стойностите на креатинина между мъже и жени при всички измервания, но липсва такава при сравнение на стойностите на изчисления креатининов клирънс. Това може да бъде обяснено с използваната формула за изчисляване на eGFR (MDRD), която не взема под внимание телесното тегло и по-високата мускулна маса при мъжете.

Женският пол се приема и за фактор, благоприятстващ достигането до ремисия (пълна или непълна). При проведеното от нас изследване няма разлика в общия брой ремисии, но достигането до пълна ремисия е сигнификантно по-високо при женския пол. Не се откриват сигнификантни разлики в честотата на рецидивите при мъже и жени.

Получените от нас данни показват статистически сигнификантен превес на вторичните форми на МГН при жени. Подобни резултати са публикувани и от Cai-Hong Zeng през 2008 г., където 73.3% от доказаните като вторични МГН са на базата на системни заболявания на съединителната тъкан – предимно СЛЕ (срещащ се основно при млади жени) и 17.7% са на базата на хронични инфекции – предимно вирусен хепатит В (по-често при мъже). При интерпретиране на тези резултати, трябва да се има предвид, че изследваните от нас вторични МГН са на базата на вирусен хепатит и системен лупус еритематодес, но липсват такива на фона на неоплазми – пациентите с доказани неопластични заболявания са насочени за лечение на основното състояние и са изгубени от проследяване, поради което не са включени в статистическата обработка.

Получените от нас данни за сигнификантни разлики при лечението на първичните и вторичните форми с Имуран, трябва да се интерпретират съобразно изнесените по-горе данни. Имуран (Азатиоприн) е медикамент от групата на пуриновите антиметаболити, чийто ефект при идиопатичен мембранозен гломерулонефрит е спорен и не е включен в общоприетите алгоритми за лечение. По-често използван от групата при лечение на МГН е микофенолат мофетил (ММФ). При вторичните форми на МГН съществена част от терапията е лечението на първичното заболяване. Азатиопринът е лекарство с доказана ефективност при лечението на СЛЕ и високата честота на вторичен МГН асоцииран с лупус обяснява сигнификантната разлика в приложението му при вторичен МГН.

По отношение на наличието на корелация между захарен диабет и пол могат да се направят следните заключения. 1. Жените със захарен диабет тип 2 са с по-нисък риск от развитие на независима гломерулна патология в сравнение с мъжете. При жените е по-вероятно наличието на протеинурия да е показател за наличие на диабетна нефропатия. 2. При пациентите при които се отключва захарен диабет в хода на патогенетичното лечение, не се наблюдава корелация с пола.

Също така, макар и без наличие на статистическа значимост се наблюдава значително по-нисък процент на достигналите пълна ремисия

диабетици, когато диабетът е известен преди началото на гломерулната патология – 11% от пациентите с диабет тип 2 достигат до пълна ремисия срещу съответно 45% и 57% от болните без диабет и с наличие на такъв развил се в хода на терапията.

По отношение на рецидивите на болестта резултатът е на границата на статистическата значимост, като най-висок е процентът рецидиви при пациентите със стероиден захарен диабет. Този резултат е възможно да се дължи на тенденцията за по-бързо прекратяване на патогенетичното лечение при развитие на странични ефекти от него.

Наблюдават се и значими разлики в количествената протеинурия и стойностите на общия белтък и албумина. Отново сигнификантно по-висока протеинурия се наблюдава при пациенти със захарен диабет предхождащ МГН и съответно на това по-ниски стойности на общия белтък и албумина, при всички измервания след началното. Това с голяма вероятност говори за наличие на тубуло-интерстициални промени предизвикани от диабета, насложени върху промените в ГБМ от мембранозния гломерулонефрит.

При лечението с кортикостероиди не се намират сигнификантни разлики в прилагането на пулсова или само конвенционална КС терапия при болните със и без захарен диабет. По отношение на развитието на стероиден диабет, също няма корелация между пътя на приложението на кортикостероидите (комбинирано пулсове и перорално или само перорално) и честотата на изява на диабет в хода на терапията. Може да се направи заключение, че даже и при пациентите с известен риск за развитие на захарен диабет или гранични стойности на кръвната захар преди започването на терапия, преценката за пътя на приложение на кортикостероидите и използваните дози, трябва да бъде съобразена най-вече с активността на гломерулното заболяване и необходимостта от терапия.

Повечето автори не намират корелация между хистологичния стадий на заболяването и риска от прогресия. Болните със всякакъв стадий могат да достигнат както до пълна ремисия, така и до краен стадий на бъбречна болест. Някои статии все пак отбелязват по-висок риск от прогресия при

пациентите с по-напреднал хистологичен стадий заболяването. Статистическият анализ на изследваните от нас пациенти не показва сигнификантни разлики в достигането до ремисия при различните хистологични стадии. Въпреки това се забелязва намаляване на процента на пациентите достигнали пълна ремисия при по-напредналите стадии. До пълна ремисия достигат 50% от пациентите в 1ви и 1-2 стадии, 40% от пациентите във 2ри стадий и само 33% от пациентите във 2-3 и 3ти хистологични стадии. Също така, процентът на пациентите недостигнали ремисия е равен при 1ви, 1-2 и 2ри стадии – около 10% от болните и се повишава до 28% при болните във 2-3 и 3ти хистологични стадии. Непълните ремисии са 40-50% при болните във всички стадии. При веднъж достигната ремисия, честотата на рецидивите не зависи от хистологичния стадий на болестта.

По отношение на терапевтичните схеми, настоящето проучване се фокусира върху комбинираната терапия с кортикостероиди и алкилиращ цитостатик – Циклофосфамид. Болшинството от изследваните от нас болни – 46 пациента (65%) са лекувани с кортикостероиди (пулсово и п.о. или само п.о.) и Циклофосфамид. При 43 от тези болни (60%), лечението е било провеждано само с пулсово приложение на Циклофосфамид и кортикостероид, без добавяне на други имunosупресори. Общо 37 (86%) от пациентите лекувани по тази схема достигат до ремисия – 22 (51%) до пълна и 15 (35%) непълна ремисия. При шестима болни (14%) не е достигната ремисия. От достигналите до каквато и да е ремисия болни 18 имат поне един рецидив на заболяването. Подобни проучвания, включващи терапия с перорален Циклофосфамид са публикувани от и от други автори. Резултатите от тези проучвания са подобни на получените от нас – пълна ремисия достигат 32% до 67% от пациентите, непълна ремисия 24% до 60%, като общият процент ремисии е 72%-93%. Процентът рецидиви при тези проучвания е 25%-30%, по-нисък от установеният при нас, който е малко под 50%. Трябва обаче да се вземе предвид, че при всички тези проучвания е прилаган орален Циклофосфамид в доза 1.5-2.5 мг/кг/дн за 6 до 12 месеца, което води до натрупване на кумулативни дози от 20 до 40 грама за посочения период. При провеждането на пулсова терапия с Циклофосфамид, кумулативната

доза за един курс на лечение обичайно е 3500 до 5000 мг и при рецидив на заболяването могат да се проведат един или повече последващи курсове на лечение, като рядко се достигат кумулативни дози над 20 грама, асоциирани с по-честа изява на сериозни странични ефекти.

При проведеният от нас статистически анализ не се откриват сигнификантни разлики в достигането до ремисия при пациентите третиран с ниски (до 7000 мг) и високи (над 10 грама) кумулативни дози Циклофосфамид. Изследването на зависимостта между кумулативните дози и рецидивите показва противоречиви резултати. Забелязва се корелация между дозите и количеството рецидиви, като с увеличаване на кумулативните дози се повишава и процента на пациенти с поне един рецидив на болестта. Тази необичайна (на пръв поглед) зависимост може да бъде обяснена с предимно пулсовото приложение на Циклофосфамид при изследваните от нас болни. При тези от тях, при които е настъпил рецидив на заболяването, в повечето случаи е приложен последващ (един или повече) курс на лечение, което води и до натрупване на по-висока кумулативна доза – т.е. повишаването на кумулативните дози (често) е показател за настъпването на рецидив след лечение с един курс пулсова терапия с ниска кумулативна доза на единичния курс терапия.

Изложеното по-горе се подкрепя и от резултатите получени при сравняване на пациентите лекувани с перорален (обичайно високи к.д.) и парентерален (обичайно ниски до средни к.д.) Циклофосфамид. При двете групи няма сигнификантни разлики в нивата на протеинурия при нито едно от измерванията, нито има такива при сравняването на стойностите на общия белтък и албумина. Не се отчитат и значими различия в стойностите на креатинина и eGFR, което показва че няма съществена разлика и по отношение на бъбречната преживяемост при двата типа лечение.

Събраните до момента данни показват, че калциневриновите инхибитори (КНИ) са ефективни и водят до ремисия на заболяването при до 80% от пациентите. Лечението с КНИ показва добър отговор при пациенти, които не са отговорили на други имunosупресори, включително алкилиращи цитостатици. В скорошно рандомизирано контролирано

проучване, проведено от Naumovic et al., в което всички участници по-рано не са отговорили на лечение по схемата на Ponticelli, лечението с Циклоспорин и ниска доза Преднизон е довело до ремисия при 80% от пациентите и стабилизиране на бъбречната функция.

Тези данни се потвърждават и от нашето проучване – 60% от изследваните от нас болни, при които към терапията е добавен Циклоспорин (след липса на отговор от комбинацията кортикостероид и цитостатик) достигат до ремисия.

В проучване проведено от du Buij-Vereijken et al. през 2004 г., при лекуваните с Циклоспорин пациенти се наблюдава сигнификантно намаляване на протеинурията (намаляване наполовина на протеинурията при 50% от лекуваните пациенти срещу липса на подобрение при плацебо групата) и по-ниска скорост на влошаване на бъбречната функция. Нашите резултати също показват сигнификантно намаление на протеинурията при пациентите третирани с Циклоспорин и съответстващо, макар и по-слабо изявено повишаване на стойностите на общия белтък и албумина. Не намираме корелация между лечението с Циклоспорин и бъбречната функция.

При проследяване в динамика на изследваните показатели се забелязва сигнификантно понижение на стойностите на протеинурията и повишаване на общия белтък и албумина в хода на терапията. Сигнификантни разлики се забелязват при сравнението на всеки две от стойностите, което показва, че позитивният ефект от терапията се запазва във времето.

Проследяването в динамика не показва сигнификантни разлики в стойностите на креатинина и eGFR – наблюдава се съхраняване на бъбречната функция във времето. Само четирима от изследваните от нас болни в края на проследявания период са с клирънс на креатинина под 15 мл/мин/1.73 м².

ИЗВОДИ

1. При женския пол се наблюдава по-благоприятно протичане на мембранозния гломерулонефрит - при жените заболяването протича с по-ниска протеинурия, по-висок стойности на общия белтък и албумина, по-висока е вероятността за достигане до пълна ремисия.
2. Възрастта на първоначална изява не оказва влияние върху прогнозата. Дори и при изява в по-късна възраст не се наблюдава по-неблагоприятно протичане.
3. При мъжете със захарен диабет тип 2 е по-голяма вероятността наличието на протеинурия да е във връзка с независима гломерулна патология (несвързана с наличието на диабетна нефропатия).
4. Пациентите със захарен диабет тип 2 по-трудно достигат до пълна ремисия, най-вероятно поради наличието на тубуло-интерстициални промени свързани със захарния диабет, или комбинирана гломерулна увреда (МГН + диабетна нефропатия).
5. При пациенти със стероиден диабет рецидивите са по-чести, поради по-ранното прекратяване на лечението.
6. При пациентите с по-напреднал хистологичен стадий е по-висок риска от неблагоприятно протичане – по-нисък е процента на пълни ремисии и по-голям риска от настъпване на рецидив.

7. Пулсовото приложение на Циклофосфамид има еднакво благоприятен ефект при лечението на мембранозен гломерулонефрит както схемите включващи перорално приложение, при достигане на значително по-ниски кумулативни дози. По този начин се запазва терапевтичния ефект, при значимо намаляване на риска от развитие на странични ефекти и нежелани реакции.

8. При неповлияване от първоначалната комбинация на кортикостероиди и Циклофосфамид, замяната на алкилиращия цитостатик с Циклоспорин води до достигане до ремисия при над 50% от резистентните на първоначалната терапия болни.

9. Не се променя значимо бъбречната функция в хода на лечението.

ПРИНОСИ

Научно-теоретични

- За първи път в нашата страна се извършва задълбочено проучване на пациенти с мембранозен гломерулонефрит.
- За първи път се изяснява връзката между мембранозен гломерулонефрит и захарен диабет – предшестващ гломерулното заболяване, както и при съпътстващ стероиден диабет.
- Потвърждава се наличието на разлика в протичането и прогнозата в зависимост от пола.

Научно-приложни

- Показва се, че захарният диабет (предшестващ МГН и стероиден) не е противопоказание за различните терапевтични схеми.
- Показва се, че пулсовото лечение с Циклофосфамид има същият терапевтичен ефект, както пероралния прием.
- Доказва се, че ефектът от лечението с ниски кумулативни дози (3500-5000 мг курсова доза) Циклофосфамид е съпоставим с този при високи кумулативни дози, при значително намаляване на риска от странични ефекти.
- За първи път в нашата страна се предлага унифициран терапевтичен алгоритъм – комбинация от кортикостероид и пулсово приложение на Циклофосфамид и при неповлияване замяна на алкилиращия цитостатик с Циклоспорин.

Научни публикации във връзка с дисертационния труд

1. Гергинова Н. Мембранозен гломерулонефрит (обзор) МедикАрт. 2016; 4:42-45.
2. Гергинова Н., Богов Б. Принципи на лечение при първичните мембранозни гломерулонефрити Съвременна Медицина, 2016, 1:55-62
3. Nevena Guerguinova, Boris Bogov, Milena Nikolova, Mila Liubomirova, Todor Kundurzhiev Comptes rendus de l'Académie bulgare des Sciences 2017 (IN PRESS)

Научни съобщения във връзка с дисертацията

- 1.Н. Гергинова, М. Любомирова, Е. Андреев, Р. Кръстева, Б. Богов, Т. Тодоров. Епидемиология на мембранозния гломерулонефрит.Националната конференция по нефрология, гр. Хисар, 18-20.10.2013 г.
1. Н. Гергинова, Р. Кръстева, М. Любомирова, М. Николова, и сътр. Първичен мембранозен гломерулонефрит и захарен диабет. Седми конгрес по нефрология. Град Хисар, СПА хотел “Хисар”. 20-22.11.2015 г.
 2. Н. Гергинова, Б. Богов, Р. Кръстева, М. Любомирова, М. Николова, А. Илиев, Г. ИвановРезистентен на лечение мембранозен гломерулонефрит. Клиничен случай от практиката. Училище по нефрология. КК “Пампорово”, хотел “Орфей”. 13-15.05.2016 г.