

Медицински университет-София  
Медицински факултет-София  
Клиничен център по нефрология  
УМБАЛ“Александровска“ ЕАД,София  
Клиника по нефрология и трансплантация

ОСТРА РЕАКЦИЯ НА ОТХВЪРЛЯНЕ НА  
ТРАНСПЛАНТАТА И ИМУНОСУПРЕСИЯ ПРИ  
БЪБРЕЧНО ТРАНСПЛАНТИРАНИ ПАЦИЕНТИ  
Докторант:Д-р Майя Сашева Петрова-Младенова

Научен ръководител:  
проф.д-р Емил Паскалев Димитров,дмн

СОФИЯ 2017

Дисертационният труд съдържа 155 стандартни страници, 26 фигури, 29 таблици. В книгописа са цитирани 280 статии, 11 на български език и 269 на английски език.

## **СЪДЪРЖАНИЕ**

I.Увод	5
II.Използвани съкращения	6
III.Литературен обзор	8
1.Реакции на отхвърляне-характеристики,честота	8
2.Реакции на отхвърляне- рисковифактори,диагностика	9
3.Реакции на отхвърляне и имуносупресия	11
3.1Кортикостероиди..	14
3.2.Антиметаболити	15
3.3.Калциневринови инхибитори	16
3.4.m-TOR инхибитори	19
3.5.Антитялобазирана имуносупресия с поликлонални и моноклонални антитела	21
4.Реакции на отхвърляне-имунологични принципи ,влияещи върху тяхната честота	22
5.Реакции на отхвърляне –терапевтични стратегии	32
IV.ЦЕЛ И ЗАДАЧИ	43
1.Цел	43
2.Задачи	44
V.МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ	44
1.Материал	44
2.Методи	45
VI.СОБСТВЕНИ ПРОУЧВАНИЯ	48
1.Определяне честота на острите реации на отхвърляне в популацията на бъбречнотрансплантираните пациенти у нас	48
2.Определяне значимостта за честотата на острите реакции на отхвърляне на лечението с Микофенолат	69

3. Значимост за честотата на острите реакции на отхвърляне на приложението на Такролимус	77
4. Определяне значимостта за честотата на острите реакции на отхвърляне на приложението на m-TOR инхибитори	86
5. Значение за честотата на острите реакции на отхвърляне на поликлонални и моноклонални антитела	93
5.1.Поликлонални антитела	93
5.2.Индукционна терапия с моноклонално антитяло	100
6.Определяне на значимостта за честотата на острите реакции на отхвърляне на различните имunosупресивни комбинации	108
7.Основни изводи	124
8.Приноси	126
9.Библиография	127
10.Списък публикации	154
11.Участия в научни форуми	155

## **I. УВОД**

Бъбречната трансплантация (БТ) е органно заместващ и оптимален метод за лечение на хронично бъбречно заболяване (ХБЗ) – 5 ст. означавано като бъбречна недостатъчност. Тя се инициира с имплантиране на бъбрек от донор в тялото на реципиента, с което започва животът на трансплантирания орган. Иммунната система е разработила сложни и ефективни механизми за борба с чужди агенти. Тези механизми са въввлечени в отхвърлянето на трансплантираните органи, които се разпознават като чужди от имунната система на реципиента. Разбирането на тези механизми е важно за ранната диагностика и предприемане на подходящо лечение. Познаването им стои в основата на разработването на стратегии за намаляване честотата на реакциите на отхвърляне и в разработването на нови лекарства, потискащи имунната система, като по този начин се гарантира по-голяма преживяемост на трансплантираните органи.

Към настоящия момент в нашата страна няма всеобхватно проучване върху честотата на острите реакции на отхвърляне при бъбречно трансплантираните пациенти, което се налага от необходимостта да има точна яснота по въпроса за по-добра стратегия в имunosупресивното лечение и съответно по-добри резултати. Няма проучвания и обобщени данни за честотата на ОРО при използване отделните имunosупресивни медикаменти, както и по отношение честотата на ОРО при най-често използваните имunosупресивни комбинации. Тези проучвания и резултатите от тях биха дали правилна характеристика на имunosупресивната терапия в нашата клинична практика

## **II. ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ**

АЗА-азатиоприн

АЛГ-антилимфоцитен глобулин

АМРО-антитяло медирана реакция на отхвърляне

АПК-антиген представящи клетки

АТ-антитела

АТГ-антитимоцитен глобулин

БТ –бъбречна трансплантация

ГБМ-гломерулна базална мембрана

ГН-гломерулонефрит

ГФ-гломерулна филтрация

ДК-дендритни клетки

ДН-диабетна нефропатия

ДСА-донор специфични антитела

ЕВЕ-еверолимус

ЗД-захарен диабет

ИЛ-интерлевкин

ИЛ-2 рец-интрелевкин 2 рецептор

ИТМ-индекс на телесна маса

КМРО-клетъчно медирана реакция на отхвърляне

ИРУ-исхемично реперфузионно увреждане

КНИ -калциневринови инхибитори

КС-кортикостероиди

МФ-микофенолат

ММФ-микофенолат мофетил

МС-микофенолат содиум

ОКРО-остра клетъчна реакция на отхвърляне

ОРО-остра реакция на отхвърляне

ОХРО-остра хуморална реакция на отхвърляне

ПББ-пункционна бъбречна биопсия

ПРА-панел реактивни антитела

ПФ-плазмафереза  
РИ-резистентен индекс  
РО-реакция на отхвърляне  
СИР –сиролимус  
СЛЕ-системен лупус еритематодес  
ТАК-такролимус  
ТКР-Т клетъчен рецептор  
Тх-Т хелпери  
ХБЗ-хронично бъбречно заболяване  
ЦА-циклоспорин А  
АТG- Antithymocyte globulin  
ВКV –човешки полиомен вирус ВК  
СМV-цитомегаловирус  
СТL цитотоксични Т лимфоцити  
DGF-отложена функция на графта  
FSGS-огнищна сегментна гломерулосклероза  
HLA- човешки левкоцитен антиген  
HUS-хемолитико-уремичен синдром  
IL-интерлевкин  
IFN-интерферон  
IVIГ-интравенозен имуноглобулин  
MHC –главен комплекс на тъканната съвместимост  
MN-мембранозна нефропатия  
MPGN-мезангиопролиферативен гломерулонефрит  
m-TOR- mammalian target of Rapamycin  
NODAT- new onset diabetes after transplantation  
NF-AT- нуклеотиден фактор на активираните Т-лимфоцити  
NK-natural killers  
TGF-β- трансформиращ растежен фактор бета  
TNF-тумор некротизиращ фактор  
VEC - vascular endothelial cel

### III . ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР

#### 1. РЕАКЦИИ НА ОТХВЪРЛЯНЕ – ХАРАКТЕРИСТИКА, ЧЕСТОТА.

Реакциите на отхвърляне (РО) на бъбречния трансплантат се дефинират като тъканно увреждане от ефекторните механизми на алоимунния отговор. Има два типа РО – Т-клетъчно-медиирани (КМРО) и антитяло медиирани (АМРО). Двата типа РО могат да са ранни и късни, фулминантни или скрито протичащи, изолирани или комбинирани. Въвеждането на мощни имunosупресивни лекарства през последните три десетилетия е довело до рязко намаляване на честотата на остро отхвърляне при реципиенти с бъбречна трансплантация. Към момента честотата на остро отхвърляне за САЩ е приблизително 10%-15%. За сравнение, най-малко един остър епизод на отхвърляне се наблюдава при 50% до 60% от бъбречно трансплантираните пациенти през 1980г.

След този период в органната трансплантация, особено бъбречната, са постигнати много успехи, свързани с въвеждане на нови имunosупресивни медикаменти, които имат особено голям успех за намаляване честотата на остро отхвърляне. Появата на нови имunosупресори е свързано и с по-широко разпознаване на имунологичните механизми на острата реакция на отхвърляне. Остро отхвърляне е основен имунологичен рисков фактор за развитие на дисфункция на алографта. В някои случаи трансплантираният бъбрек не възвръща функцията си, дори при максимална антирежекционна терапия. Епизодите на остро отхвърляне имат неблагоприятно въздействие върху дългосрочната преживяемост на присадката. Фактори като времето на отхвърляне, тежестта и броя на епизодите на остро отхвърляне и степента на възстановяване на функцията след лечението влияят върху дългосрочния резултат. Ако функцията се връща до изходно ниво, остро отхвърляне не може да причини невъзвратими увреди или да повлияе дългосрочната преживяемост на присадката.

Острата реакция на отхвърляне (ОРО) остава значим фактор за преживяемостта на трансплантата въпреки наличната съвременна имunosупресия. До преди петнадесет години различни трансплантационни центрове посочват честота на ОРО между 30% и 50%. След този период се

въвеждат нови имunosупресори със значима супресивна активност, които се отразяват на честотата на реакциите на отхвърляне – остри и хронични. Проучвания върху честотата на ОРО през първите шест месеца след трансплантацията за годините 1988 и 1989 показват средна честота от 31,4%. В сравнение с тези данни същите проучвания за 1996 и 1997 години показват средна честота от 14,2% (5). Разликата в честотата представлява намаление повече от 50% т.е. изключително значима. Manfe et al (6) показват честота на остро отхвърляне от 12% до 14% през първите три месеца след трансплантацията за годините между 1994 и 1997. Много клинични проучвания върху честотата на ОР показват, че 75% от ОРО се презентират през първите три месеца от трансплантацията. Същите тези проучвания показват честота на ОРО под 20%, както за бъбречните трансплантации от жив донор, така и от трупен донор. Резултатите от тези проучвания демонстрират още, че ОР са най-често са от степен I и IIA по Banff (9). Съществуват специфични групи при бъбречно трансплантираните пациенти при които има по-висока честота на ОРО. На първо място това са трансплантираните при липса на съвместимост по кръвна група АВО. Друга група с висока честота на ОРО са трансплантирани от донори, с които са имали исторически позитивен кросмач .

Времето на поява на остро отхвърляне е също от значение. Появата на ОРО през първите три години след трансплантацията е сигнификантно свързано с намалена преживяемост на трансплантирания бъбрек (6.8.9).

## **2.РЕАКЦИИ НА ОТХВЪРЛЯНЕ – РИСКОВИ ФАКТОРИ, ДИАГНОСТИКА**

Комплекс от рискови фактори играят роля в етиологията на острата реакция на отхвърляне:

- ◆ Ретрансплантация;
- ◆ Възраст на донора над 50 години;
- ◆ Повече несъвпадения по клас I антигени на HLA и особено по DR антигените на HLA;
- ◆ Процент (%) реактивни алоантитела;
- ◆ По-млада възраст на реципиента т. е. детска възраст;
- ◆ Хипоимunosупресия;
- ◆ Неколаборативност на пациента;

- ◆ Вирусни инфекции – роля за отключване на остри реакции;
- ◆ Етническа принадлежност;
- ◆ Затлъстяване;
- ◆ Хиперлипидемия.

Към момента биопсията на бъбречния трансплантат остава златен стандарт за диагностициране на остро отхвърляне при трансплантирани пациенти.(14). Протоколните биопсии се извършват през определен период за откриване на субклинична патология без повишаване на креатинина с над 10-15%. Клиничните прояви на острата реакция варират от субклинични до бурна симптоматика - фебрилитет, твърд и уголемен трансплантат при палпация, намаляване на диурезата до олигоанурия, влошаване на артериалната хипертония с повишаване дозата и/или броя на антихипертензивата и Доплерови данни за промяна на кръвоснабдяването. Данните показват редукция на кръвоснабдяването в периферията на паренхима и повишение на резистентния индекс. Повечето епизоди на остро отхвърляне възникват в рамките на първите шест месеца след бъбречната трансплантация. Основен момент при бъбречно трансплантираните пациенти за навременно разпознаване на остро отхвърляне е тяхното наблюдение, което се осъществява периодично и редовно според протокола на трансплантационния център. Това основно зависи от времето, изминало след бъбречната трансплантация - от ежеседмично през първия месец до един път на четири месеца след третата година от оперативната интервенция. Основни моменти в редовния контрол са определяне състоянието на функцията на графта, лабораторен контрол и лекарствен мониторинг. Проследяването на серумния креатинин е от съществено значение. Кръвното налягане и протеинурията трябва да се наблюдават, но тези данни не са специфични за остро отхвърляне. Веднага след операцията се извършва внимателно проследяване на диурезата и бъбречната функция. Особено голямо значение за недопускане на остра реакция на отхвърляне е контрол върху имunosупресивното лечение. За това важно място заема проследяването на нивото на имunosупресорите в кръвта. Лекарственият мониторинг засяга имunosупресивните медикаменти и се използва за точното им дозиране, за недопускане на нежелани ефекти от тях и осигуряване на оптимална имunosупресия. Балансирането между необходимостта от имunosупресивна

терапия за предотвратяване отхвърлянето на алографта и същевременно минимизиране на тяхната лекарствена токсичност и други техни странични ефекти включително риска от инфекции и злокачествени заболявания продължава да бъде сериозно предизвикателство и в днешно време.

Рискът за остро отхвърляне и загуба на бъбречния трансплантат е най-висока през първите три до шест месеца след трансплантацията. По-ради това дозите на имunosупресивните медикаменти трябва да бъдат най-високи през този период и същевременно да бъдат адаптирани към индивидуалните характеристики на пациента,(16)свързани с риск за остро отхвърляне – напреднала възраст, детска възраст, затлъстяване, етническа принадлежност, хиперлипидемия, функция на графта и др. През този ранен период е най-висок рискът от загуба на функция на трансплантата при остри реакции, докато след този период този риск значително намалява.(6.7.16)

### **3.РЕАКЦИИ НА ОТХВЪРЛЯНЕ И ИМУНОСУПРЕСИЯ.**

Основните групи имunosупресивни медикаменти, които се използват при бъбречно трансплантираните пациенти са кортикостероиди, антипролиферативни средства (микофенолат /мофетил и содиум/ – иновативни и генерични продукти, както и азатиоприн), калциневринови инхибитори (циклоспорин А – Sandimmun Neoral и такролимус – Prograf), m-TOR инхибитори (сиролимус - Rapamune и еверолимус – Certican), поликлонални антитела (антилимфоцитен и антитимоцитен глобулин), моноклонални антитела (базиликсимаб – Simulect и даклизумаб – Zenarax, както и др. Моноклонални антитела, използвани off label режим – Rituxmab (Mabtera) и Alemtuzimab (Campath). При по-тежко протичащите реакции на отхвърляне се използват и различни методи за почистване на организма от циркулиращи алоантитела – плазмафереза и имunosорбция.

Имunosупресорите се използват в комбинации. Инициращата имunosупресия е обичайно тройна или четворна (при повишен риск) комбинация. Най-често се комбинират кортикостероиди, калциневринов инхибитор и антипролиферативен медикамент. При наличие на повишен риск се използва и антитяло базирана иницираща терапия чрез приложение на моноклонални и поликлонални антитела. При поддържащото лечение се намаляват дозите на

използваните имunosупресори, както и на техния брой в схемата (особено характерно за кортикостероидите).

Включването на m-TOR инхибитори се прилага при отстраняване на калциневриновите инхибитори поради нефротоксичност и други причини или по-рано в минимизиращи схеми на лечение. Допълнителни важни принципи на имunosупресивното лечение са съобразяване с възрастта на реципиента (особено при деца), с основното заболяване, затлъстяване, странични ефекти на медикаментите, непоносимост.

Антипролиферативните средства микофенолат /мофетил и содиум/ и азатиоприн са незаменима основна част от имunosупресивните протоколи и в исторически аспект са довели до намаляване честотата на остри реакции. Към днешния момент те са основна част от двукомпонентните имunosупресивни комбинации при голяма част от пациентите, особено след първата година от трансплантацията.

У нас се използват практически всички утвърдени в световната практика имunosупресивни агенти при лечението на бъбречно трансплантираните пациенти.(3)

Основните и най-чести имunosупресивни комбинации при лечението са: кортикостероид + микофенолат мофетил + циклоспорин А (КС + ММФ + ЦА), кортикостероид + микофенолат мофетил + такролимус (КС + ММФ + ТАК), кортикостероид + микофенолат содиум + такролимус (КС + МС + ТАК), микофенолат мофетил + сиролимус (ММФ + СИР). Сред популацията на нашите бъбречно трансплантирани пациенти броят на имunosупресивните комбинации е над двадесет на брой и съответства на индивидуалните характеристики на пациента и наличните рискови фактори, както и данните за функцията на трансплантата. Този резултат е еквивалентен на общоприетите правила за добра клинична практика при имunosупресията след бъбречна трансплантация, приети от световната нефрологична общност. Това означава, че има индивидуално адаптиране на имunosупресията, както и максимално съобразяване с особеностите на индикациите за приложение на тези медикаменти.

Друг важен момент е тенденцията за намаляване броя на пациентите на лечение с калциневринови инхибитори (ЦА, ТАК). Това е така, тъй като тези

имуносупресори имат нефротоксичен ефект и са една от основните причини за развитието на хронична нефропатия на трансплантата. Тяхното заместване е най-често с m-TOR инхибитори (сиролимус, еверолимус), които нямат нефротоксичен ефект.(2.6.7.8)

Особено значима е тенденцията за намаляване броя на пациентите на лечение с кортикостероиди поради наличните им разнообразни и сериозни странични ефекти (захарен диабет, забавяне растежа при деца, сърдечно-съдови усложнения, напредващи костни увреждания, очни увреждания, гастроинтестинални увреждания и др.). По този начин се постига намаляване честотата на допълнителни коморбидни състояния. Преустановяване приложението на КС се свързва с повишен риск от поява на остри реакции на отхвърляне – до 26% като средна честота от много проучвания по този въпрос.

В нашата страна няма проучване върху честотата на остро отхвърляне при преустановяване на КС лечение.

Увеличава се приложението на m-TOR инхибитори при бъбречно трансплантирани пациенти с неоплазми, което е особено актуална тенденция на съвременната имуносупресия. Причината е, че неоплазмите имат по-висока честота при тази популация, а използването на m-TOR инхибитори е възможно, тъй като те имат известен антитуморен ефект. Тези характеристики на имуносупресивната терапия при бъбречно трансплантираните пациенти я определят като съвременна и актуална, което е основа за постигане на по-добри резултати(2,3,7,10,26,30).

Използването на поликлонални и моноклонални антитела при бъбречната трансплантация е с насоченост за намаляване честотата на острите реакции на отхвърляне. В тези случаи целта е удължаване преживяемостта на трансплантата. Много са публикациите в тази насока, демонстриращи положителните ефекти на това лечение. Тези имуносупресивни срудства се използват и у нас като до сега не е направена характеристика на честотата на остро отхвърляне при тази популация трансплантирани.(5)

### **3.1. Кортикостероиди**

Кортикостероидите (КС) са основно и класическо средство на имunosупресивната терапия при бъбречна трансплантация. Те, заедно с антиметаболита Azathioprin (АЗА), бележат първите големи успехи на трансплантологията като тяхната значимост се запазва и до днес. Напоследък има известна тенденция за спиране на кортикостероидите след втората - третата година дори по-рано (на първата седмица след оперативната интервенция), особено при наличие на индикации за това. (44) Повечето автори се обединяват около извода, че тази стратегия води до зачестяване епизодите на хронично отхвърляне

Навсякъде в организма има различни рецептори към КС, обясняващо голямото им разнообразие от лечебни и странични действия. Иmunosупресивното им действие се осъществява на различни етапи на имунната реакция като може да бъде специфично и неспецифично (противовъзпалително). Специфичното имunosупресивно действие се дължи на потискане експресията на много цитокинови гени – IL-1, IL-2, IL-3, IL-6, TNF- $\alpha$  и  $\gamma$ -интерферон. Важна е блокадата на IL-1 и IL-6, които са значими костимули за експресията на IL-2. Последният активира Т-лимфоцитната имунна реакция.

Страничните действия на КС са много: затлъстяване, хиперлипидемия, хипертония, остеопороза, стероиден диабет, катаракта, нарушаване на растежа при деца, гастрити и пептични язви, трудно зарастване на рани, склонност към инфекции, акне, мускулна атрофия, емоционална лабилност, увеличено окосмяване.(10)

Иmunosупресивната терапия с КС започва в момента на оперативната интервенция когато се прилага пулсова доза от 250 mg до 750 mg и. в., най-често 500 mg i. v. Ниските дози се прилагат при рисковите пациенти по отношение на КС – с диабет, язвена болест, затлъстяване и деца. След това дозите се намаляват постепенно, както при пулсово кортикостероидно лечение или по-драстично – най-често при рискови пациенти като се достига поддържащата доза от 10 mg или 5-7,5 mg при пациенти с ниско телесно тегло. Прекъсването на КС може да стане рано – на 7-я ден от оперативната интервенция или след 2-та – 3-та година от трансплнтацията, както и по всяко време поради изразени или тежки странични действия.(5,6,7,10)

### **3.2. Аниметаболити**

Антиметаболитите включват азатиоприн и микофенолат. Azathioprin (АЗА) представлява имидазолов дериват на 6-меркаптопурина, който в качеството си на пуринов аналог инхибира пуриновия нуклеотиден синтез. Той потиска пролиферацията на миелоцитите и по този начин води до намаляване броя на циркулиращите моноцити и макрофаги. Така той е ефективен при първичен имунен отговор – предпазва от започване на имунна реакция. Неговите странични действия са потискане на костния мозък, повишена склонност към инфекции и неоплазми, хепатотоксичност, косопад. Подходящ е за поддържаща терапия. Неговото използване е силно ограничено, главно от сериозните странични ефекти. Прилага се в доза 3 mg/kg телесно тегло през първите 3-6 месеца, след което в поддържаща доза 1 mg/kg/т.т.(6.7.8)

Микофенолат (мофетил или содиум) (МФ) инхибира ензима инозинмонофосфатдехидрогеназа и така инхибира de novo пуриновата обмяна. Активното действие притежава неговият метаболит микофенолова киселина. Той води до по-слаба пролиферация главно на цитотоксичните Т-лимфоцити. Препаратът показва и допълнителни ефекти – потиска експресията на адхезивните молекули, продукцията на антитела, пролиферацията на мезангиални клетки и съдови миоцити и др. Това му дава известно предимство в имunosупресивното лечение и го прави приложим и при някои нефропатии с имунна генеза. Неговото действие може да бъде систематизирано така:

- морфолиноетилов естер на активната микофенолова киселина;
- блокира синтеза на гуанинови нуклеотиди;
- избирателно действие върху Т- и В-лимфоцити;
- има антипролиферативно действие;
- намалява честотата на остро отхвърляне (от 22% на 15.2% в сравнение с АЗА);
- намалява релативния риск за развитие на хронична недостатъчност на трансплантата с 27% в сравнение с АЗА, което е независимо от намаляване на остро отхвърляне;
- има изразено действие върху протеинурията като я намалява.

Микофенолат мофетил се прилага в доза 2000 mg дневно на два приема през 12 часа т. е. два пъти дневно по 1000 mg. Рядко са използвани по-високи дози (3000 mg дневно), които не са показали по-добри резултати от стандартната доза от 2000 mg дневно. Дозата на медикамента се съобразява с евентуално нарушение на бъбречната функция. Страничните му ефекти са: стомашночревни прояви – разстройство много често сериозно, по-рядко запек, газове, чревни спазми; косопад; потискане на костния мозък водещо най-често до анемия и левкопения, повишена склонност към инфекции и др. Микофенолат содиум се прилага в доза 1440 mg дневно (2 пъти по 720 mg) независимо от състоянието на бъбречната функция. Той има предимство с по-ниска честота на гастроинтестиналните ефекти в сравнение с микофенолат мофетил. (4,6.7.8.28)

### ***3.3.Калциневринови инхибитори***

Те са два медикамента – циклоспорин А и такролимус. Cyclosporin А е цикличен пептид, който осъществява имunosупресивното си действие посредством калциневринова инхибиция. Той се свързва интрацелуларно с циклофилин в комплекс, който блокира ензима калциневрин. Последният активира т. нар. ядрен фактор на Т-лимфоцитите и съответно експресията на IL-2 гена. ЦА засилва продукцията на TGF- $\beta$ , който също блокира IL-2, но успоредно с това е отговорен за развитие на интерстициална фиброза. Неговото дозиране се определя при контрол на кръвното му ниво и зависи от времето след трансплантацията – от 50-100 до 300  $\mu\text{g/ml}$  за  $C_0$  и за  $C_2$  - 800-1500  $\mu\text{g/ml}$ . Лечението с циклоспорин А е съпроводено с наличие на някои странични явления: хиперлипемия, нарушен глюкозен толеранс, хипертрихоза, гингивална хиперплазия, тремор, хепатотоксичност, костни болки, хиперурикемия, артериоло-спазъм, повишен риск от инфекции и неоплазми, невротоксичност. Най-сериозният страничен ефект е неговата нефротоксичност. Мониторингът на кръвното му ниво позволява да се подържат дози, които са едновременно достатъчни за имunosупресия и в същото време да не са нефротоксични. Въпреки това нефротоксичността се наблюдава често – по данни на различни автори до 50% от пациентите. Тя може да е остра и хронична. Последната е с по-неблагоприятно протичане и съответно по-неблагоприятна прогноза. Страничните действия на ЦА са подредени по своята честота така:

- влошаване на бъбречна функция - 57,2%;
- хипертония – 47,3%;
- хипертрихоза – 43%;
- тремор – 25%;
- гингивална хиперплазия – 19,9%;
- чернодробна дисфункция – 18,6%;
- гадене – 7,8%;
- хиперхолестеролемия – 5,8%;
- парестезии – 4,7%;
- хиперурикемия – 3,7%;
- енцефалопатия – 1,6%;
- хиперкалиемия – 1,5%;
- диабетогенност – 1,5%;
- анемия – 1,2%.

Циклоспорин А се характеризира с критична доза, което означава, че малки промени в дозата резултат в сигнификантни клинични промени по отношение на ефикасност и токсичност. Медикамента има малък терапевтичен прозорец т. е. тесни терапевтични граници на дозата и в същото време високите дози водят до токсичност, а ниските дози – до реакции за отхвърляне. ЦА има лимитирана и променлива резорбция, зависи от приеманата храна, вариабилност между пациентите, както и при един пациент с течение на времето, много зависи от междуплекарствени взаимодействия.

Циклоспориновата токсичност се характеризира с промени, които по времето на поява и степента на обратимост респ. необратимост се подреждат така:

- тубулопатия;
- микроангиопатия;
- интерстициална фиброза;
- артериолопатия;
- гломерулосклероза.

ЦА е открит през 1972 г., а от началото на 80-те години започва неговото клинично приложение с огромен успех като води до постигане на качествено по-добри резултати в органната трансплантация. Така той се превръща в крайъгълен камък на съвременната имunosупресия.

Лечението с ЦА започва в деня след провеждане на бъбречната трансплантация. Възможно е и в деня или преди БТ, което се определя от приетия протокол на съответния трансплантационен център. Началната доза е 6-8 mg/kg телесно тегло, след което се провежда мониториране на кръвното му ниво и се променя според таргетните нива, зависещи от времето след трансплантацията.

Другият представител на калциневриновите инхибитори е такролимус. Tacrolimus има химическа характеристика на макролиден антибиотик и имunosупресивно действие много близко до това на циклоспорин А. Той има подобни на циклоспорина характеристики като се свързва с цитоплазмен имунофилин – FKBP. Смята се, че е по-могътен, някои от страничните му действия са по-изразени, особено по отношение на хиперлипидемията и нарушенията в глюкозния толоранс, а други са по-слабо изразени в сравнение с ЦА – по-малка нефротоксичност и гингивална хиперплазия. Неговото дозиране се осъществява на базата на мониторинг на кръвното му ниво, което се поддържа в граници от 5 до 15 µg/ml в зависимост от времето след оперативната интервенция. За първи път е изолиран през 1984 г. от *Streptomyces tsukubaensis* в Япония и е наречен FK506. За първи път е приложен в Япония през 1993 г., а през следващата 1994 г. - във Великобритания и САЩ. Има доказана по-добра ефективност по отношение на остро отхвърляне и епизодите на хронично отхвърляне, както и подобрена преживяемост на графта в сравнение с циклоспорин А. Такролимус е сто пъти по-могътен инхибитор на Т-клетъчния пролиферативен отговор в сравнение с ЦА. Има проучвания, демонстриращи възможността на такролимус да осъществява антиромботичен ефект като редуцира тромбоцитната агрегация, докато ЦА увеличава тромбоцитната агрегация. Това различие доказва предимството на такролимус и преимуществото му в превенцията на алогографтната васкулопатия и атеросклерозата. Тези данни стоят в основата на съвременното приложение на такролимус при лечението на хронични гломерулопатии.

Има два варианта на такролимус. Единият се приема на 12-часов интервал (Prograf), а другият е с удължено действие и се приема еднократно в денонощието т. е. на 24 часа (Advagraf). Предимството на втория е, че има само един концентрационен пик в кръвта през денонощието (за разлика от два концентрационни пика на първия вариант), което е свързано с по-малка честота на остра реакция на отхвърляне, по-малка честота на нефротоксичност и по-висока преживяемост на присадката на 3-та и 5-та година след трансплантацията. Еднократният прием в денонощието води до по-стриктно спазване на режим на прием на медикамента от пациента респ. по-сигурна и по-ефективна имunosупресия. Това допълнително води до по-малка честота на реакции на отхвърляне и по-дълга преживяемост на трансплантата.(6,7,8,15,22,27,34).

#### **3.4.m-TOR-инхибитори**

Sirolimus е първият имunosупресор от тази група и представлява макролид, който по структура наподобява такролимус и затова като него се свързва с цитоплазмения имунофилин. От тук нататък действието му не е чрез калциневринова инхибиция, а чрез инхибиране на молекулата m-TOR, чрез което се потиска експресията на IL-2, IL-4, IL-7, IL-15. Той блокира сигналите на взаимодействие основно на IL-2 с неговите рецептори. Това води до блокиране на имунната реакция на ниво от фаза G-1 към S. Сиролимус (СИР) осигурява мощна имunosупресия, повлиява добре съдовопродиферативните процеси, намалява риска от неоплазми и не е нефротоксичен. Той може да се прилага след 2-я месец от БТ поради това, че причинява по-трудно зарастване на оперативната рана. Странични ефекти – хиперлипемия, тромбоцитопения, повишен риск от инфекции, белодробна интерстициална фиброза, артралгия и протеинурия. Дозирането му става чрез мониторинг на кръвното му ниво – от 5 до 12 µg/ml в зависимост от времето след БТ. СИР е ферментационен продукт на актиномицетен микроорганизъм *Streptomyces hydroscopicus*. Открит е в почвени проби от Rapa Nui, източна Исландия. Химически представлява макроцикличен лактон, открит през 1975 г. Той е неразтворим във вода и добре разтворим в маслени разтвори. Първо-начално е изследван за антигъбична активност, в хода на които изследвания прави впечатление неговата имunosупресивна активност *in vitro*. Първите клинични проучвания на СИР при

БТ пациенти са направени през 1996 г. Другият имunosупресор от същата група е еверолимус (ЕВЕ). Той притежава същият механизъм на действие и същите ефекти, както при СИР:

- Намалява честотата на остро отхвърляне;
- Потиска съдовото ремоделиране;
- Не е нефротоксичен;
- Действието му се свързва с намалена честота на възникване на CMV инфекция;
- има противотуморно действие.

Неговото дозиране се осъществява въз основа на мониториране на кръвното му ниво - от 5 до 12  $\mu\text{g/ml}$  в зависимост от времето след БТ. Той може да се прилага още през първия месец след БТ.

Както СИР, така и ЕВЕ блокират пролиферативните сигнали, поради което често са наричани инхибитори на пролиферативни сигнали. Този техен ефект заедно с това, че не са нефротоксични и имат противотумурни действия ги прави много обещаващи в органната трансплантация. Реално в клиничната практика те са използвани като препарати при хипернефром, но в много по-високи дози.

Използването на m-TOR-инхибиторите може да бъде ранно – веднага след БТ най-често вместо калциневриновия инхибитор (рядко в комбинация с ниски дози на калциневринов инхибитор) или късно, най-често в резултат на калциневринова интоксикация и прекратяване на калциневриновия инхибитор. Ранното включване на m-TOR-инхибиторите в имunosупресивното лечение е до 6-я месец след БТ, а късното - след 6-я ме-сец. Късното включване се свързва с по-честа и по-изявена протеинурия. Поради позитивните си действия mTOR-инхибиторите са предпочитани в съвременната имunosупресия при БТ.(1,2,3,6,7,8,42)

### **3.5. Антитялобазирана имunosупресия с поликлонални и моноклонални антитела**

Поликлоналните антитела (Lymphoglobulin и Thymoglobulin), различни по начина на приготвяне – съответно конски и заешки, са насочени срещу Т-лимфоцитите. Те потискат тяхната активност като предизвикват деструкция на лимфоцитите и лимфоцитопения чрез засилена апоптоза. Освен това те активират супресорните клетки и подържат относителна лимфоцитопения, продължаваща с месеци и години. Те се прилагат като индукционна терапия или при лечение на кортикорезистентни реакции на отхвърляне. Имат твърде специфична схема на приложение и особено на контрол. Като индукционна терапия те се прилагат в двете форми на индукция – първична (ранна) и вторична (късна). Първичната индукция представлява усилена имunosупресия в началото на БТ поради повишен риск. В този случай поликлоналните антитела се прилагат поради повишен имунологичен риск – при алоантитела, поредна БТ, несъвместимост по кръвна група АВО. Вторичната индукция се осъществява късно след БТ. Най-често поликлоналните антитела се използват като вторична индукция при тенденция за увеличаване абсолютния брой на лимфоцитите и лимфоцитоза, при които състояния има риск от инициране на реакция на отхвърляне. Важно показание за използване на поликлонални антитела е лечение на реакции на отхвърляне, които са рефрактерни на лечение с КС. Приложението на поликлоналните антитела е свързано с изключително ниско ниво на остри реакции, изключително висока сигурност срещу имунологичен риск, но в същото време с много висок риск от инфекции и пострасплантационни лимфопролиферативни заболявания. Това задължава прецизирането на индикациите за използването на тези мощни имunosупресори. Те имат строг режим на приложение с изолиране на пациентите и много чест контрол на диференциална КК и имунологичен статус.

Моноклоналните антитела са насочени само към определени молекули на Т-лимфоцитите, чрез което последните се инактивират и се променя толеранса им за по-продължително време. ОКТ-3 е най-старият препарат от тази група, насочен към CD-3 комплекса на Т-лимфоцитите. Друго моноклонално антитяло е химеричният Vaziliximab, който е хуманизиран в 75% и е насочен срещу CD-25 на Т-лимфоцитите, както и моноклоналният препарат Daclizumab, хуманизиран

над 95%, практически изцяло. Двата моноклонални препарата са анти IL-2R- $\alpha$  антитела. ОКТ-3 практически се използва твърде рядко при бъбречна трансплантация. Моноклоналните антитела се използват за първична индукция с основна цел превенция на реакции на остро отхвърляне. Чрез тяхното използване честотата на остро отхвърляне намалява отчетливо с което се подобрява преживяемостта на бъбречния трансплантат. За разлика от поликлоналните антитела, рискът от инфекции и посттрансплантационни лимфопролиферативни заболявания е практически минимален или липсващ. Това е предимство за моноклоналните антитела, но в същото време те не са достатъчно ефективни при много висок имунологичен риск и рефрактерни на лечение реакции на отхвърляне, където ефект имат само поликлоналните антитела. Терапията с антитела е твърде скъпа от финансова гледна точка и прилагането и е резултат на прецизна професионална обосновка.(2,3,5,6,7,8,10,23)

#### **4. РЕАКЦИИ НА ОТХВЪРЛЯНЕ - ИМУНОЛОГИЧНИ ПРИНЦИПИ, ВЛИЯЕЩИ ВЪРХУ ТЯХНАТА ЧЕСТОТА**

Независимо от постигнатият напредък в органната трансплантация голям процент от загубата на присадките се дължат все още на имунологични усложнения. Трансплантирането при по-добра HLA съвместимост, подобряването на кросмач техниките, предтрансплантационният скрининг за антитела и имunosупресивната терапия довеждат до значително намаляване на ранните реакции на отхвърляне на присадката и повишаване на ранната преживяемост.

Най-голямо значение за определяне съвместимостта между донор и реципиент има ABO кръвногруповата антигенна система и антигените на главния комплекс на тъканната съвместимост - HLA. Несъвместимостта между кръвните групи ABO води до бързо отхвърляне на трансплантирания орган. A/B антигените са пасивно абсорбирани от различни бъбречни тъкани, вкл. гломерулния ендотел и тубуния епител. Анти A/B кръвногруповите антитела са от клас IgM и IgG изотип в титър от 1:2 до 1:256. ABO несъвместими трансплантации много често претърпяват свръхостра реакция на отхвърляне вследствие хемаглутининова реакция между циркулиращите анти-A и анти-B антитела и съответните A или B антигени върху ендотелните клетки на съдовете

на трансплантата. За да се избегне това е необходима претрансплантационна имунологична подготовка на реципиентите с плазмафереза, прилагане на анти-CD20 моноклонално антитяло и имunosупресивни лекарствени средства.

Главният комплекс на тъканната съвместимост (МНС) е специфична област от гени, разположени върху късото рамо на хромозома 6, която кодира протеини с жизнено важни функции в осъществяването на клетъчно медирания имуноен отговор. Тези протеини изпълняват ролята на „собствени за организма“ антигени, които служат за разпознаване на собствените за организма тъкани т.е. участват в осъществяването на имунната толерантност.

За по-голяма яснота областта от гените се обозначава като главен комплекс на тъканната съвместимост (МНС), а протеините се обозначават като HLA система /human leucocyte antigens/. Гените на МНС кодират два класа HLA протеини клас I и клас II. Почти всички клетки, експресират клас I на HLA, но само определени типове клетки (В лимфоцити, макрофаги, дендритни и ендотелни клетки) експресират клас II на HLA-системата. Т лимфоцитите са основният клас клетки, които разпознават и отговарят на стимулацията на HLA системата. Цитотоксичните Т лимфоцити (CTL) възприемат сигнали от клас I на HLA системата и следователно могат да възприемат антигенни сигнали от почти всички клетки в човешкото тяло. Клас I протеините и CTL участват в отхвърлянето на трансплантираните тъкани. Клас II на HLA съдържа 6 различни алела DP, DZ, DO, DX, DQ и DR. От тях съществено значение за трансплантационната имунология имат DQ и DR. Клас I на HLA-системата съдържа 3 различни алела: A, B, C. Трите гена са важни за имунитета, като и трите са алелни и полиморфни, по-добно на тези от клас II. В клиничната трансплантология от значение са гените A и B. Те могат да произведат 6 различни антигени от клас I.

Физиологичната функция на молекулите МНС е да представят антигенни пептиди на Т-клетките, тъй като Т-лимфоцитите разпознават антигените, когато са представени в комплекс с МНС молекула. Клас I молекулите са отговорни за представяне на вътреклетъчни антигенни пептиди (например антигени от вътреклетъчни вируси, туморни антигени, собствени антигени) на CD8 Т-клетки. Клас II молекулите представят извънклетъчни антигени (като извънклетъчни бактерии) на CD4 Т клетките.

Несъвместимостта по отделните HLA локуси оказва значително влияние върху преживяемостта на присадката и реципиентите при бъбречни трансплантации. Този

ефект може да бъде обяснен и с почестите клинични усложнения при HLA несъвместими трансплантации, които от своя страна са резултат от по-силната имunosупресивна терапия, както в ранния посттрансплантационен период, така и в по-продължителен период след трансплантацията.

Повишен риск за развитие алоантитела срещу HLA антигени, които са висок риск за развитие на остра реакция на отхвърляне, има при кръвопреливания, бременност, повторна трансплантация. При наличие на алоантитела се определя срещу кои HLA локуси (клас I и/или клас II) са насочени и тяхната HLA специфичност. Доказан е неблагоприятен ефект на специфични антитела срещу HLA-A, -B, DRB1 локуси върху изхода от бъбречна трансплантация. Наличието на донорспецифични антитела преди трансплантация на бъбрек е рисков фактор и контраиндикация за трансплантация, поради това, че те участват в свръхострата и антитяло медирана реакция на отхвърляне. Това налага серумите на чакащите трансплантация реципиенти да се изследват периодично (два до 4 пъти годишно) за наличие на преформирани антитела.

Определянето на изотипа антитела също е от значение, поради диференцирания ефект на различните класове върху преживяемостта на присадката. Редица проучвания показват приемлива преживяемост след трансплантация и ретрансплантация при наличие на предходна IgM HLA специфична сенсibiliзация, но лоша преживяемост на присадката при предходни HLA специфични антитела от IgG клас. През последните години се разработват и въвеждат лечебни подходи за елиминирание или понижаване титъра на антителата - отстраняване чрез плазмафереза в комбинация с IVIG, моноклонално антитяло срещу CD20, имunosупресори. Така се увеличава шансът на сенсibiliзираните пациенти да бъдат трансплантирани.

У реципиентите преди трансплантация са установени и антитела срещу антигени извън системата HLA, разположени върху съдовите ендотелни клетки и отговорни за ранни кризи на отхвърляне (антигени от системата VEC - vascular endothelial cells).

Друга група от не-HLA антитела са насочени към неklasическите MHC антигени A и B експресирани върху ендотелни клетки, фибробласти, кератиноцити, моноцити. Тези антитела се свързват с повишен риск от отхвърляне и загуба на присадката. Установяването на антифосфолипидни автоантитела във високи титри при реципиентите за бъбречна трансплантация е предпоставка за съдови тромбози и ранна загуба на присадката.(1,17,18,22,25,26,30,44)

Важно място в подготовката за бъбречна трансплантация има кросмач реакция, която се извършва преди трансплантацията, за оценка на съвместимостта донорреципиент. Смесва се серум от реципиент с лимфоцити на донора, установява се наличие на донор специфична сенсibiliзация, която е предпоставка за свръхостра и остра реакция на отхвърляне. Положителен Т-клетъчен кросмач е абсолютна контраиндикация за бъбречна трансплантация от съответния донор. Положителен В клетъчен кросмач, дължащ се на HLA антитела също е свързан с висок риск от антияло-медиано увреждане и трансплантацията не се препоръчва.(19,36,38)  
)Етапите в алогенния имунен отговор са основно пет(9):

- Ишемично-реперфузионно увреждане (ИРУ);
- Представяне на антигена;
- Активиране на Т лимфоцитите;
- Активиране на ефекторните клетки;
- Реакция на отхвърляне.

Началните увреждания на графта по време на осигуряването му и последващата трансплантация се означават като ишемично реперфузионно увреждане (ИРУ). ИРУ се среща по-често при трупна трансплантация. Мозъчната смърт се свързва с генерализирана исхемия поради свръхактивност на симпатиковата нервна система. Използването на вазопресори, времето на топла и студена исхемия също намаляват снабдяването на тъканите с кислород и хранителни вещества. В патогенезата на ИРУ се включват биохимични, клетъчни, съдово-ендотелни и тъканно специфични фактори, които са обединени от наличието на възпалителен процес. Тези промени се засилват при възстановяване перфузията на бъбрека след бъбречна трансплантация. При ИРУ се увреждат ендотелните и тубулни епителни клетки, което може да доведе до остро бъбречно увреждане и отложена функция на графта, което от своя страна намалява преживяемостта на графта. Клетъчното увреждане води и до освобождаване на свободни радикали и генериране на възпалителни хемокини и цитокини, което води до активиране на toll-подобни рецептори по повърхността на антиген представящите клетки и тяхното активиране. В тази възпалителна среда активираните антиген представящи клетки преработват антигена, мигрират към лимфните възли и го представят на Т-клетките, активирайки по

този начин адаптивния имунитет и реакцията на отхвърляне. Намаляване честотата на ИРУ включва основно оптималното кондициониране на донора и реципиента. С минимален ефект е приложението на калциеви блокери, L-аргинин, N-ацетил-цистеин/49/.

Антиген представящите клетки (АПК) се специализирани клетки, които активират Т-клетките. Антигенът се преработва от АПК и се представя на клетъчната повърхност чрез молекулите от МНС. Т-лимфоцитите се активират след разпознаване на комплекса антиген-МНС молекула. Специализираните АПК са дендритните клетки (ДК), макрофаги, В-лимфоцити. Алогенният имунен отговор се активира чрез активирането на АПК от описаните вече вродени имунни системи. В трансплантата и заобикалящите тъкани АПК от донора или реципиента се активират и се придвижват до Т-клетъчните зони на вторичните лимфоидни зони (слезка и лимфни възли). АПК и Т-лимфоцитите се срещнат и се активират. Веднъж активирани Т-лимфоцитите преминават в кръвта, а от там в периферните тъкани в местата на възпаление.

Активирането на Т-лимфоцитите има важно място в патогенезата на острите реакции на отхвърляне. Активирането на Т-лимфоцитите протича в модел от 3 сигнала: сигнал 1 – активиране чрез контакта МНС молекула антиген – Т-клетъчен рецептор; сигнал 2 – костимулация; сигнал 3 – пролиферация на активирания Т-лимфоцитен клон.

При сигнал 1 антиген специфичният Т-клетъчен рецептор (ТКР) се свързва с МНС молекулата, представяща антигена. Към този комплекс се добавят и белтъчните молекули по мембраната на Т-лимфоцита – CD4 или CD8. Следва активиране на CD3 сигналния комплекс в цитоплазмата на Т-лимфоцита, водещо до активиране на серия от каскадни ензимни реакции, които в крайна сметка имат за резултат активиране на ядрените фактори NF-AT (нуклеотиден фактор на активирания Т-лимфоцити) и NFκB. Сигнал 1 осигурява специфичност на имунния отговор, но не и достатъчна сила и продължителност.

Сигнал 2 е необходим за адекватна сила на имунната реакция. Вероятно този етап има за цел блокиране формирането на автоимунни Т-клетки. Сигнал 2 представлява костимулация, осъществяваща се от белтъчни молекули от групата на имуноглобулините по клетъчната повърхност на АПК и Т-клетките. Част от тези молекули имат инхибиторен ефект, който е от значение при

прекръпяване на имунния отговор.–/1,9/

Сигналите 1 и 2 активират 3 сигнални системи – калциево-калциневринова, ренин-ангиотензин-протеин киназна система и системата на NF-κB. Синтезират се редица нови молекули като интерлевкин 2, CD 25, CD 154, водещи до активиране системата на белтъка mTOR (mammalian target of Rapamycin), което води до активно размножаване на активираните Т-лимфоцити. Повечето активирани Т-клетки мигрират към мястото на възпаление. Те бързо се натрупват в интерстициума на графта. Малка част от Т-лимфоцитите мигрират в В-зоните, където участват в диференциацията на В-лимфоцитите.

Важно място в имунния отговор има активирането на ефекторните клетки CD4+/ Т- лимфоцити. CD4 Т-лимфоцитите (Т-хелпери) отделят редица цитокини, които участват в алоимунния отговор. Те са в основата на забавената свръхсенситивност, при която е налице увеличена продукция на азотен оксид, кислородни радикали и TNFα от макрофагите. Цитокините влияят и върху паренхимните клетки с директно влияние върху ендотела или нарушаване на кръвоснабдяването на тъканно ниво.

При продължителна стимулация Т-хелперите могат да синтезират групи от цитокини. Т-хелпери тип 1 продуцират интерлевкин-2, γ-интерферон и лимфотоксин; Т-хелпери тип 2 синтезират интерлевкини 4, 5, и 10. Т-хелпери тип 1 (Th1) са свързани основно със синтеза на цитокини, ангажирани в матурацията на цитотоксични Т-лимфоцити и макрофаги, докато цитокините от Th2 имат същия ефект върху В-лимфоцитите. При РО има висока секреция на цитокини от двата типа, поради което алоимунният отговор не може да се определи като изцяло Th1 или Th2 тип. В допълнение, Т-хелперите могат да се трансформират в CD8+ клетки, както и да потискат имунния отговор и да индуцират имунна толерантност.

На практика почти всички цитотоксични Т-лимфоцити са CD8+/. Цитотоксичните Т-лимфоцити могат да засегнат таргетната клетка с клетъчен контакт и секреция на цитотоксични цитокини. Клетъчният контакт индуцира апоптоза по два механизма – системата на перфорингранзим В и системата на Fas-протеина. Директен цитотоксичен ефект имат секретирани TNFα, TNFβ и интерферон γ (IFN γ).

Активираните макрофаги са важен участник в забавената хиперсензитивност, която е в основата на локалното тъканно увреждане. Активирането им се осъществява от Th1 с междуклетъчен контакт, при който се активира CD40 протеин по повърхността на макрофага. IFN  $\gamma$  също участва в активирането на клетките. Продуцираните от активираните клетки азотен оксид и кислородни радикали са в основата на техните цитотоксични ефекти. Освен това те могат да синтезират интерлевкин-12, който спомага трансформирането на Т-хелперите в Th1 ефекторни клетки.

NK (natural killers) лимфоцитите имат някои сходни функционални черти с CD8 Т-лимфоцитите. За разлика от В- и Т-лимфоцитите, те нямат антигенспецифичен рецептор, а активирането им става при детекция липсата на MHC молекула от клас I в таргетните тъкани. Периферните NK клетки са зрели, не се нуждаят от костимулация и диференциация по типа на Т-лимфоцитите и освобождават цитотоксични гранули и възпалителни цитокини (TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ ) при откриване на съответните мишени. С оглед на високата цитолитична активност и рискът от аутоимунна реакция активността на тези клетки е строго контролирана. Активирането им се осъществява чрез цитокини, свързване с Fc сегмента на антителата, свързване с други мембранни молекули.

Прекратяването на имунния отговор има за цел избягване формиране на прекалено голямо количество активирани Т-лимфоцити. След ликвидиране на антигена, стимулът за активиране на лимфоцитите изчезва. Въпреки това формираните активни Т-лимфоцитите са налице и трябва да се активират. Това става по няколко механизма. След достигане на пълна матурация на дендритните клетки, синтезът на интерлевкин-2 се прекратява, като започва синтез на интерлевкин-12, който има потискащ ефект върху ефекторните Т-клетки. Освен това се увеличава експресията на CTLA-4 по клетъчната повърхност, които индуцират анергия на Т-лимфоцита. На фона на липсващи стимулиращи цитокини и растежни фактори, Т-преминават към пасивна смърт. В допълнение, клетъчната смърт се индуцира от взаимодействието на Fas–Fas L молекулите по повърхността на активните Т-клетки, като и двете молекули се експресират по повърхността им.

Реакцията на отхвърляне (PO) се дефинира като тъканно увреждане от ефекторните механизми на аутоимунния отговор. Има два типа PO: Т-

клетъчно-медиирани (КМРО) и антияло медиирани (АМРО). Двата типа РО могат да са ранни и късни, фулминантни или скрито-протичащи, изолирани или комбинирани. (1,9,18,19)

Навлизането на клетките в интерстициума се осъществява на три етапа: 1. Удължаване контакта на левкоцитите със съдовата стена; 2. Адхезия към съдовата стена; 3. Преминаване в интерстициума.

Удължаване контакта на левкоцитите със съдовата стена се осъществява от молекули, наречени селектини, които се експресират по ендотела. Удълженият контакт позволява активирането на левкоцитите от провъзпалителни хемокини, отделени от възпалителния процес. Хемокините се свързват с протеогликаните по повърхността на съдовия ендотел, активирайки по този начин адхезията на левкоцитите чрез активиране на интегрините. Интегрините са белтъчни молекули по повърхността на повечето левкоцити. Един от най-често срещаните интегрини е LFA-1. Лигандите за LFA-1 (ICAM - 1, 2, 3) са от семейството на имуноглобулините и в нормални условия са слабо експресирани в съдовия ендотел. Под влияние на възпалителни хемокини се индуцира експресията на молекулите ICAM. Аналогично се стимулира експресията на LFA-1. В резултат на това се образува плътна адхезия на левкоцитите със съдовия ендотел, което е в основата на разпознаването на антигена. Последният етап на екстравазацията е преминаването в интерстициума. След активиране на интегрините, левкоцитите променят формата си, стават плоски и чрез диапедеза преминават през пространствата между ендотелните клетки. Левкоцитите секретират протеинази, които разграждат съдовата базална мембрана, с което завършва излизането на левкоцита от съда. След попадане в интерстициума левкоцитите секретират металопротеинази, които разграждат междуклетъчния матрикс и осигуряват по-дълбока инфилтрация./1,9/

Повечето случаи на РО са клетъчно медиирани и по същността си много наподобяват на забавената тъканна свръхчувствителност, въпреки наличието на много цитотоксични Т-лимфоцити. Активираните Т-лимфоцити (CD4 и CD8) привличат неспецифични възпалителни клетки, отделящи протеолитични ензими, свободни радикали и други продукти. Тези вещества имат директен и индиректен токсичен ефект върху тубулния епител, интерстициума и кръвоносните съдове.

Увреждането на бъбречната функция съответства с ангажирането на тубулите – тубулит и артериит, който е по-рядка находка. В определен момент от алоимунния отговор ефекторните Т-клетки се придвижват към тубулите, преминават през базалната мембрана и ангажират епителните клетки. По този начин се развива тубулит. Според някои автори възпалителните промени водят до потискане способността на тубулните епителни клетки да отхвърлят възпалителните такива, което говори, че тубулитът може да се приеме като изява на увредена тубулна функция, а не причина за нея. И в двата случая тубулитът е важен показател за КМРО.

Артериитът се открива по рядко при КМРО и често се повлиява от анти-Т-лимфоцитни медикаменти, което насочва към основно участие на Т-лимфоцити в патогенезата му. Засягането на гломерулите при КМРО е рядка находка, като в него са ангажирани Т-лимфоцити и макрофаги. Все още не е ясно защо гломерулите се ангажират толкова рядко при КМРО.

Антитяло-медиирани реакции на отхвърляне (АТМРО) могат да се изявят самостоятелно или заедно с КМРО. Тя представлява отговор най-често към HLA антигени по повърхността на ендотелните клетки на графта, но и към други антигени (напр. кръвна група АВ0 антигени). Хистологично се доказва неутрофилна инвазия в перитубулни и гломерулни капилляри, а тубулитът и ендартеритът са минимални, освен ако няма елемент на КМРО. Под форма на АТМРО е свръхострата РО при реципиенти сенсibiliзирани към HLA антигени и несъвместими по кръвна група АВ0. Антителата към HLA антигените (алоантитела) имат цитотоксичен ефект чрез активиране на системата на комплемента, най-често по класическия път. При активиране системата на комплемента в перитубулните капилляри се отлага С4d, който е неактивен фрагмент от С4b, активиращ се при активиране на комплемента. Доказване отлагането на С4d в момента е най-добрият маркер за установяване наличието на комплемент свързващи антитела в ендотела. Активираният комплемент предизвиква навлизане на макрофаги и неутрофили с последваща цитотоксичност. Друга характерна находка при АТМРО е наличието на микротромби. Това се дължи на освобождаването на фактора на von Willebrand от увредения съдов ендотел, което води до тромбоцитна агрегация.

Реакциите на отхвърляне се класифицират според патогенезата си на

клетъчно медиирани, антитяло медиирани и смесени; според времето на възникване – свръхостра РО, акцелерирана РО, остра РО, хронична РО. От своя страна хистологичните лезии се класифицират по системата Banff.

Пациентите с предстояща бъбречна трансплантация се разделят на нискорискови и високорискови.

#### Нискорискови реципиенти:

- пациенти с пълна съвпадение по HLA антигени с донора;
- по-възрастни пациенти;
- получаващи донор от по-млади донори;
- първа трансплантация;
- БТ преди започване на хемодиализно лечение.

#### Високорискови за РО реципиенти:

- Сенсибилизирани пациенти (висок процент алоантитела) при предшестващи трансплантации;
- Бременност;
- Предишна трансплантация;
- Кръвопреливания;
- Отложена функция на графта;
- Трупен донор;
- Донор с мозъчна смърт;
- Възрастен донор;
- Удължено време на исхемия;
- Остра бъбречна дисфункция на донора;
- Наличие на несъвпадение по HLA антигени;
- Несъвпадение по кръвна група (AB0);
- Положителна В-клетъчна cross-match реакция преди трансплантация;
- Намаляване поддържащата доза на кортикостероидите;
- Инфекции;
- CMV – инфекция;
- Бактериален пиелонефрит;
- Млада възраст на реципиента;
- Предишен епизод на РО-Африканска раса.(1,18,19,24,25,26,30)

## 5. РЕАКЦИИ НА ОТХВЪРЛЯНЕ – ТЕРАПЕВТИЧНИ СТРАТЕГИИ

Свръхохстрата РО е рядка причина за отложена функция на графта поради подобрените техники за типизиране и скининг. Въпреки това нарастващата употреба на десенсибилизиращи протоколи прави клиничната диагноза отново актуална.(9)

Свръхохстрата РО се предизвиква от предварително формирани антитела в реципиента, реагиращи с антигени по съдовия ендотел на графта. По този начин се активират системата на комплемента и коагулацията. Най-често антителата са насочени към антигени, принадлежащи на АВ0 кръвноруповата система, антигени от HLA клас I. Антителата към антигени от HLA клас I се формират при предходна трансплантация, хемотрансфузии, бременност. По-рядка причина за свръхохстра РО са антитела към HLA клас II антигени или ендотелни или моноцитни антигени (последните не се установяват при стандартните техники за cross-match).

При класическата свръхохстра РО цианозата на графта и анурията настъпват минути след формиране на съдовата анастомоза. Може да настъпи дисеминирана коагулопатия. Хистологично се установява масово увреждане на съдовия ендотел и тромбоза, най- често с неутрофилна инфилтрация на тромбите.

### Диференциална диагноза

Преренални причини:

1. Хипотония, хиповолемия;
2. Съдова тромбоза.

Ренални причини:

1. Ишемична, остра тубулна некроза /ОТН/;
2. Остра калциневринова токсичност;
3. Акцелерирана РО, нсложена върху ОТН.

Постренални причини:

1. Обструкция на отделителната система.

Няма ефективно лечение на свръхохстрата РО. Единственото възможно решение е нефректомия. Този вид РО е рядка поради скрининговите методики за несъвместимост между донор и реципиент по антигени от АВ0 и HLA системите.

В практиката навлизат десенсибилизиращи протоколи с използване на високи дози имуноглобулин (IVIg) или плазмообмен с ниски дози IVIg. Краткосрочните и средносрочните резултати от тези методи са добри, но техен недостатък е високата цена и необходимостта от провеждането им в специализирани центрове.

Акцелерираната РО представлява РО, проявяваща се от 2 до 5 дни след трансплантацията. Обикновено е медирана от хуморалния имунитет. Причина за нея е сенсibiliзиране на реципиента към антигени на донора, като титрите на алоантителата са твърде ниски, за да се установят при cross match реакция преди БТ. Вероятно антитяло продукцията се осъществява скоро след БТ. Реципиентите с негативна лимфоцитотоксична, но с положителна flow-цитометрична cross match реакция са с повишен риск от развитие на акцелерирана РО. Акцелерираната РО може да се насложи на исхемична ОТН. В този случай може и да няма белези на РО или да се развие при работещ трансплантат. Диагнозата се поставя чрез биопсия на графта и резултатите от cross match реакцията. Хистологично се доказва по-често находка, свързана с АТМРО, отколкото с КМРО.(1,9)

Острата реакция на отхвърляне (ОРО) се характеризира с влошаване функцията на графта, причинена от имунна реакция срещу него. Въпреки че ОРО може да се развие по всяко време след БТ, тя най-често се среща в първите 6 месеца след операцията. Честотата на ОРО в световен мащаб намалява с годините, като в някои държави е под 15%. На фона на рутинното проследяване на серумния креатинин и нивата на имunosупресорите, клиничната картина на ОРО рядко е изразена. В редки случаи може да има нискостепенен фебрилитет, олиго-урия, болезненост или тежест в областта на графта. Тъй като клиничната картина и повишеното ниво на серумен креатинин може да са сравнително късни показатели за патологични промени в графта, редица нови маркери за ранна диагноза са в процес на проучване. Образните изследвания обикновено показват неспецифични изменения – задебеляване на паренхима, увеличаване на напречния размер повече от надлъжния размер на графа, хипоехогенни, оточни пирамиди, редукция на кръвоснабдяването на паренхима с увеличаване на резистентния индекс (РИ) на интерлобарни и аркуатни артерии. Окончателната диагноза се поставя с бъбречна биопсия. В

случаите, когато вероятността за неусложнена остра клетъчна РО (ОКРО) е голяма, лечението може да започне емпирично, без биопсия.

В патогенезата на ОРО участват клетъчни и/или хуморални механизми. Различията в изчистените форми на ОКРО и ОРО са посочени в таблицата №1 по-долу.(1,9,17,22,25)

Табл. 1.Разлика между изчистените форми на ОКРО и ОХРО.

	ОКРО	ОХРО
Клинични прояви	След 5-я ден	След 3-я ден
Антидонорни HLA антитела	Обичайно липсват	Да
Тубулит	Да	Не
Неутрофилна инфилтрация	не	Да - гломерулни и перитубулни капилляри
C4d отлагане	Не	Да
Начална терапия	Пулс с КС	Плазмафереза, IVIG, пулсове с КС
Поддържаща терапия	Пулс с КС	пулсове с КС

#### *Диференциална диагноза*

1.Преренални причини за дисфункция на графта в ранен постоперативен период (първи 6 месеца): хиповолемия/хипотония; ACE инхибитори; НСПВС; тромбоза на артерия и вена реналис; стеноза на A. renalis на графта.

2.Интраренални причини за дисфункция на графта в ранен постоперативен период (първи 6 месеца): остра калциневринова токсичност; тромботична микроангиопатия, индуцирана от калциневринови инхибитори; рецидив на основно заболяване; остър пиелонефрит; остър интерстициален нефрит.

3. Постренални причини за дисфункция на графта в ранен постоперативен период (първи 6 месеца): обструкция на отделителната система на графта.

### **ОКРО**

Типичните морфологични находки за ОКРО са описани по-горе. Важна характеристика е, че засягането на ендотела е с фокален характер и лесно може да се пропусне при взимането на материал при пункционна бъбречна биопсия (ПББ). Ето защо е необходимо достатъчно количество материал от ПББ. Ендотелитът се счита като проява на по-тежка форма на ОКРО. Фокалната инфилтрация с мононуклеарни клетки без ендотелно ангажиране или тубулит може да се установи и при стабилна бъбречна функция. В тези случаи не се налага лечение. При хистологични данни за ОКРО и стабилна функция на графта се касае за субклинична РО. Някои проучвания демонстрират подобрена бъбречна функция след лечение в тези случаи. При едно по-голямо мултицентрово проучване обаче не се установява полза от лечение в тези случаи. В препоръките на QDIGO от 2009 г. при граничните форми на РО се препоръчва провеждането на активно лечение. Наличието на еозинофили в инфилтратата се свързва с тежка РО, но трябва да се има предвид и остър интерстициален нефрит. Полиомна инфекция също може да предизвика тубулоинтерстициален нефрит.(9)

При неусложнена ОКРО лечението е кратък курс високи дози кортикостероиди (КС). Успеваемостта е от 60 до 70%, но няма стандартизирана доза и продължителност. Най-честата схема е Метилпреднизолон в доза 250 – 500 мг за 3 – 5 дни. След приключването на пулса дозата на КС бързо се намалява или веднага се преминава на поддържаща доза. Ако пациентът е бил на схема без КС, трябва да се включи поддържащо КС лечение. Наличието на РО подсказва неадекватна имunosупресия до този момент. Трябва да се уточни доколко пациентът спазва уточнената терапия и да се прецени завишаване базовата поддържаща терапия, при липса на противопоказания.

Един епизод на остро отхвърляне се счита резистентен на кортикостероидно лечение, когато нивата на серумния креатинин на пациента не се завръщат в до изходното ниво преди отхвърлянето, след пулс терапия с

кортикостероиди, в рамките на 14 дни след началото на стероидната терапия. Първите няколко дни след започване на лечението със стероиди са от решаващо значение. Едно проучване на нивата на серумния креатинин при случаи на стероидустойчиви и стероидчувствителни пациенти разкри, че минималния период от време за оценка на отговора към стероиди е пет дни след започване на пулс терапията. Промените в нивата на серумния креатинин са били сходни между пациенти с стероид чувствителни и резистентна на стероиди остра реакция на отхвърляне до 5-я ден, след което отговорилите показват значително намаление на серумния креатинин, докато нивото на креатинина на неотговорилите остава висока. Непълното възстановяване на функционирането на присадката при резистентна на стероиди реакция на отхвърляне може да доведе до развитието на хронични увреждания на присадката и има негативно въздействие върху преживяемостта на присадката.

За стероид резистентна форма на ОКРО се говори в случаите, когато липсва подобрение в диурезата и спадане на серумния креатинин в рамките на 5 дни след началото на пулса. Лечението най-често е с антитела, понижаващи броя на лимфоцитите. В случаите на провеждана емпирична терапия с КС трябва да се проведе ПББ преди използване на антиядло-съдържащи препарати. По-висока степен на ОКРО по BANFF (II и IIIст) с ендотелно ангажиране се свързва с по-висока резистентност към КС, поради което някои центрове използват антитела като начална терапия при високо рискови пациенти. Недостатъкът на този подход е високата му цена и нуждата от хоспитализация на болния. В допълнение, налице е повишен риск от инфекции и неоплазии. При КС – резистентни форми обаче ползите от лечението преобладават над рисковете. Препаратите Thymoglobulin и Antithymocyte globulin (ATG) са най-често използваните поликлонални препарати. Те се толерират по-добре от моноклоналния препарат ОКТ3.(40)

### ***Рефрактерна на лечение ОКРО***

Този тип ОКРО се определя като РО резистентна на лечение с поли- и моноклонални антитела. Пациентът вече е получил мощна имunosупресия, поради което засилване на имunosупресиата трябва да се прецени много внимателно, като се вземе предвид и резултата от ПББ. Възможни са следните стъпки:

- продължаване на поддържащата имunosупресивна терапия, изчаквайки подобряване на бъбречната функция на по-късен етап;
- повтаряне на курса с анти тяло съдържащ препарат;
- преминаване от Циклоспорин А към Такролимус (ако вече не е направено);
- лечение за хуморална ОРО, ако има такъв компонент

### ***Остра хуморална реакция на отхвърляне (ОХРО)***

ОХРО става все по-честа причина за дисфункция на графта, като се доказва в 12% до 37% от ПББ. Това най-вероятно се дължи на подобрената диагностика (особено доказване отлагането на С4d), както и увеличеният брой на HLA и ABO несъвместими трансплантации. За диагноза на ОХРО са необходими поне две от посочените находки

- неутрофилна мононуклеарна инфилтрация ± тромби в капилярите;
- дифузно отлагане на С4d в перитубулните капиляри;
- наличие на антидонорни алоантитела в серума.(22).

ОХРО най-често се изявява в ранния посттрансплантационен период, но може да се изяви и по-късно, особено на фона на намалена имunosупресия или неспазване на имunosупресивната терапия от пациента. ОХРО може да се изяви с и без ОКРО. На този етап няма оптимален терапевтичен режим за ОХРО. Сега се използват комбинации от плазмаобмен с цел елиминиране на алоантителата и/или приложение на интравенозни имуноглобулини (IVIg) и анти-CD20 моноклонално анти тяло с цел потискане продукцията им.(44)

### ***Профилактика на ОКРО***

Използването на мощна имunosупресивна терапия за кратък период от време около времето на БТ се означават като индукционна терапия и е често срещана стратегия за намаляване честотата на ОРО при пациенти с висок и нисък имунологичен риск. При високорискови пациенти индукционната терапия има за цел да профилактира РО при стандартна поддържаща терапия. При нискорискови пациенти индукционната терапия се използва с цел по-късно минимизиране на поддържащата терапия.

Индукционните агенти се делят най-общо на две групи – намаляващи и ненамаляващи броя на Т-лимфоцитите. Агентите, които не повлияват Т-лимфоцитите са моноклоналните хуманизирани антитела към рецептора за

интерлевкин 2 (ИЛ-2 рец) Daclizumab и Basiliximab. Потискането на взаимодействието между ИЛ-2 и ИЛ-2рец потиска пролиферацията на активираните Т-лимфоцити. Тези препарати демонстрират намаляване на честотата на ОРО при пациенти на Циклосорин А, но без Микофенолат в поддържащата терапия. Все още тези агенти не са проспективно проучени при пациенти на терапия с такролимус и миофенолат, което поставя въпроси относно ползата им при пациенти с по-мощна имunosупресивна терапия. Намаляващите броя на Т-лимфоцитите агенти са антитимоцитният глобулин, ОКТ3, анти-CD52. Антитимоцитният глобулин е поликлонален препарат, съдържащ животински антитела срещу Т-клетъчни рецептори. Разработени са няколко такива препарата, но понастоящем най-често използван е препаратът Thymoglobulin, съдържащ заешки антитимоцитен глобулин. ОКТ3 е препарат, насочен срещу CD3 субединицата на Т-клетъчния рецептор. Към момента не се използва поради значителното освобождаване на цитокини при приложението му, водещо до фебрилитет, белодробен оток, промени в хемодинамиката. Препаратът Alemtuzumab е антитяло към CD52, с нарастваща употреба след БТ. Антителата се свързат с CD52, при което се потискат В- и Т-лимфоцитните линии. Препаратът е хуманизиран, поради което има по-малко странични ефекти при приложение. Началните данни показват еквивалентна ефективност, но няма достатъчно данни за неговата безопасност, особено по отношение на риска за инфекции и посттрансплантационна лимфопролиферативна болест.(1,2,5,7,9,10,13)

Всички препарати, намаляващи броя на Т-лимфоцитите, поставят въпроса за безопасността на пациента в дългосрочен план. Редица проучвания демонстрират дозозависимо увеличаване на честотата на лимфом при пациентите, лекувани с тези агенти, в сравнение с пациентите с блокери на ИЛ-2рец или без индукционна терапия. По тази причина при употребата на намаляващи Т-лимфоцитния брой препарати в повторни и продължителни курсове, трябва да се вземе предвид отношението полза/риск от подобни усложнения.(24).

Посочените до тук медикаменти за лечение и профилактика на реакциите на отхвърляне се прилагат в практиката на бъбречната трансплантация у нас. Нямаме обобщени данни за резултатите, получени при трансплантираните с такива терапии. Тяхното обработване, характеризиране и обобщаване ще

допринесът за подобряване на резултатите.(11,15)

### **Профилактика на ОХРО**

Пациентите с антидонорни алоантитела или несъвместими по АВ0 с донора са с висок риск за развитие на ОХРО след БТ без съответната претрансплантационна профилактика. В последно време се създадоха различни терапевтични протоколи, обобщени под наименованието десенсибилизация, които включват елиминиране на антителата чрез плазмафереза и имуноадсорбция и потискане продуцирането на антитела чрез IVIG и моноклоналният препарат Rituximab, насочен към CD20 протеина по повърхността на активираните В-лимфоцити. В някои центрове се провежда спленектомия с цел потискане развитието на В-лимфоцитите. При комбинация на индукционна терапия с агенти, понижаващи Т-лимфоцитния брой и стандартна имunosупресивна поддържаща терапия, честотата на ОХРО е до 39%./51,60,61,62,/

### **Късна ОРО**

ОРО е със значително по-ниска честота след 6-месец след БТ. Късната ОРО е сигнал за неадекватна имunosупресия или неспазване на терапията от страна на пациента. Спиране терапията с КС или калциневринови инхибитори (КНИ) може да се обмисля при наличие на странични ефекти от медикаментите, но крие риск от РО, което налага стриктно мониториране на серумния креатинин. Късната ОРО е с преобладаващ клетъчен елемент, но все повече нарастват данните и за насложена ОХРО. Късната ОРО може да се развие и при субтерапевтични нива на КНИ, особено при стартиране на терапия с медикаменти, понижаващи нивото им (противотуберкулозни средства, антиепилептични средства). Нивото на КНИ в тези случаи трябва да се измерва по-често и да се коригират дозите при стартиране или спиране на терапията с посочените медикаменти.(21)

### **Хронична РО**

Патоанатомичната находка при ХРО е описана по-горе. Патоанатомичната находка е резултат не само от хронична РО, но и от неимунни фактори – исхемично реперфузионно увреждане на бъбрека, несъвпадение между размера на реципиента и размера на трансплантата, наличие на захарен диабет, тютюнопушене, артериална хипертония, хиперлипидемия,

интерстициално увреждане от ВК-полиомен вирус, калциневринова токсичност и др.

Клиничната картина основно е влошаване на бъбречната функция, протеинурия, влошаване на налична артериална хипертония.

#### *Диференциална диагноза*

1. Преренални обратими причини: дехидратация, застойна сърдечна недостатъчност, увреда от нестероидни противовъзпалителни средства, антихипертензивни медикаменти, стеноза на артерия реналис на графта.

2. Ренални причини: ОРО, късна ОРО, рецидив на основно заболяване, de novo гломерулонефрит, калциневриова токсичност, токсичност на други медикаменти (напр. литиеви препарати), медикаментозен интерстициален нефрит, пиелонефрит, вирусни инфекции (CMV, ВК-вирус), лимфомна инфилтрация.

3. Постренални причини: уретерална стеноза, простатна хипертрофия, обструкция на пикочен мехур от други фактори (калкулроза, карцином), изтичане на урина (уретер, пикочен мехур), уретерална полиомна инфекция.

#### **Профилактика на ХРО**

Използването на подходящи по възраст донори и оптимална съвпадемост по HLA антигени са полезни, но за съжаление невъзможни цели в ерата на дългите списъци на чакащи БТ и хроничният недостиг на донори. Удължаването на студеното исхемично време трябва да се избягва максимално. Усилия трябва да бъдат положени в насока ранна диагноза и лечение на ОРО. Адекватна поддържаща имunosупресия ще доведе до намалена честота на ОРО, съответно намалена интерстициална фиброза и тубулна атрофия. Протоколните биопсии значително подобриха диагностиката на субклиничната ОРО, която е от основните причини за хронична увреда на графта. Адекватното лечение на субклиничната РО води до намаляване хроничната увреда на графта на по-късен етап.(6,8,9)

#### **Лечение**

Поведението се обуславя от находката от ПББ. При данни за активност – късна ОРО или хронична ХРО – лечението е описано по-горе. При хронична ХРО може да се пробват методите за лечение на ОХРО (плазмафереза, IVIG, Rituximab). Според някои автори обаче използването на плазмафереза няма

убедителен ефект при хронична РО. При липса на активност от ПББ има различни протоколи за корекция на поддържащата терапия. Според някои проучвания се отчита положителен ефект от замяна на КНИ с микофенолови препарати и/или mTOR-инхибитори, които повлияват положително преживяемостта на графта. Използването на микофенолати с или без редукция на КНИ се свързва с подобрена функция на графта. От значение за преживяемостта на графта са и други мерки като корекция на АН, спиране на тютюнопушенето, добър контрол на захарен диабет, дислипидемия, редуциране на протеинурия (използване на ACE- инхибитори, блокери на рецепторите за ангиотензин II).

Както инициращата, така и поддържащата имunosупресия имат за цел минимизиране на реакциите на отхвърляне – остри и хронични, с цел удължаване преживяемостта на трансплантата. Бъбречно трансплантираните пациенти подлежат на непрекъсната имunosупресивна терапия. Използват се имunosупресори от следните основни групи: кортикостероиди, антиметаболити, калциневринови инхибитори, mTOR-инхибитори, поликлонални и моноклонални антитела. Тяхната характеристика на приложение беше описана по-горе. Освен тях се използват и допълнителни терапевтични възможности, особено при лечението на реакции на отхвърляне.(1,,2,3,5,6,9,138,259,260)

### ***Плазмафереза***

Плазмаферезата е метод на лечение чрез разделяне на плазма от формени елементи на кръвта и така се отстраняват антитела, автоантитела, циркулиращи имунни комплекси, анти-ДНК антитела и други фактори на възпалителния и имунологичния процес, също така и бактериални причинители, моноклонални протеини, някои от факторите на комплемента и неспецифични медиатори на възпалителния процес. При провеждането само на една процедура могат да се отстранят близо 60% от наличните антитела и приблизително половината от циркулиращите имунни комплекси.

Плазмаферезата се използва за лечение на:

-антитяломедирана реакция на отхвърляне в комбинация с Циклофосфамид или IVIG или антитимоцитен глобулин. Води до намаляване на

циркулиращите антитела и до обратимост на хуморалната реакция на отхвърляне. Повлиява преживяемостта на графта като в последните години се наблюдават все повече данни за това;

-при HLA сенсбилизация – преди и след БТ с цел намаляване нивата на антитела. Обикновено се цели негативизиране на кросмач реакцията непосредствено преди операцията. Провежда се заедно с имunosупресия. Необходими са около 5 процедури;

-трансплантация при несъвместимост по ABO показатели за елиминирането на естествени анти-A и анти-B антитела от реципиента преди ABO несъвместима трансплантация от живи родствени донори.

Налице са различни протоколи, най-често се провеждат няколко процедури в рамките на една седмица преди БТ, придружени от стандартната имunosупресивна терапия, вкл. Ритуксимаб и интравенозно приложение на имуноглобулин. Провеждат се още 1-3 курса след оперативната интервенция или при прояви на остро отхвърляне. Значително подобрява прогнозата на графта, но честотата на острите реакции на отхвърляне е по-висока в сравнение с тази при ABO съвместимите трансплантации./174/

### ***Имуноабсорбция***

Имуносорбцията представлява метод за очистване на имунологично активни субстанции от кръвта на реципиента чрез сорбция върху повърхности с антитела към тези активни субстанции. Това прави метода по-прецизен и по-ефективен от плазмаферезата. Прилага се по различни протоколи в комбинация с моноклонални антитела. Особено ефективна е при трансплантации с ABO-несъвместимост, налични антидонорни антитела, тежки антитяло медирирани реакции на отхвърляне, при комбиниране на реакции на отхвърляне при пациенти с активирано основно заболяване гломерулонефрит при системни имунни заболявания и др.(9,19)

### **III. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ**

#### **1. ЦЕЛ**

Целта на дисертационния труд е да се определи честотата на остри реакции на отхвърляне при бъбречно трансплантираните пациенти и значимостта на приеманата имуносупресия.

#### **2. ЗАДАЧИ**

За постигане на целта е необходимо решаването на следните шест задачи:

2.1 Да се определи честотата на остри реакции на отхвърляне в популацията на бъбречно трансплантираните пациенти у нас

2.2 Да се определи значимостта на микофенолат за честотата на остри реакции на отхвърляне.

2.3 Да се определи значимостта за честотата на остри реакции на отхвърляне на такролимус.

2.4 Да се определи значимостта за честотата на остри реакции на отхвърляне на mTOR-инхибитори.

2.5 Да се определи значимостта за честотата на остри реакции на отхвърляне при приложението на поликлонални и моноклонални антитела.

2.6 Да се определи значимостта за честотата на остри реакции на отхвърляне на различни имуносупресивни комбинации.

#### IV.МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

##### 1. МАТЕРИАЛ

В проучванията на настоящия дисертационен труд са включени бъбречно трансплантирани български граждани у нас и в чужбина до края на месец март 2017 г. – общо 510, наблюдавани и лекувани в Клиника по нефрология и трансплантация на УМБАЛ «Александровска», ЕАД. Основните характеристики на трансплантираните пациенти са представени на таблица 1:

**Табл. 1.** Основни характеристики на бъбречно трансплантираните пациенти.

брой болни	съотношение М : Ж	съотношение жив : трупен донор
510	1,7:1	1.3: 1

Основен момент при работата с бъбречно трансплантираните пациенти е наблюдението, което се осъществява периодично и редовно според протокола на клиниката. Това основно зависи от времето, изминало след бъбречната трансплантация - от ежеседмично след първия месец до един път на три месеца след третата година от трансплантацията. Тези контролни прегледи са редовни при стабилна функция на трансплантата. При наличие на усложнения те се осъществяват по-честото в зависимост от усложненията или се осъществява хоспитализация на пациента. Редовният контрол включва измерване на телесно тегло, височина – на по-големи интервали, измерване на кръвно налягане, провеждане на конвенционална ехография, при необходимост или на по-редки интервали се прави Doppler ехография, лабораторен контрол. Лабораторният контрол включва определяне на кръвна картина, СУЕ, урея, ензимен креатинин, кръвна захар, общ белтък, албумин, натрий, калий, калций, фосфор, желязо, желязо-свързващ капацитет с определяне на процент на насищане, чернодробни ензими, общ билирубин, холестерол, 3-глицериди и пикочна киселина. Важен момент при проследяването на пациентите е изследване на урината –

микробиологично, прясна урина – общо и седимент, протеин/креатинин съотношение в прясна урина, 24 часова урина за количество белтък, както и екскреция на креатинин, урея, калций, фосфор при необходимост, както и за определяне на ГФ. Чрез този широк набор на контроли е възможно да се направи скрининг на почти всички възможни усложнения при тези пациенти.

Друг важен момент от наблюдението на пациентите е осъществяването на лекарствен мониторинг, касаещ имunosупресивните медикаменти. Той е регулярен и практически съвпада с честотата на редовните контролни прегледи при пациентите. Лекарствен мониторинг се осъществява при лечение с ЦА, ТАК, СИР, еверолимус. Възможен е и такъв при лечение с микофенолат, но той не се е наложил в клиничната практика. Най-масово прилаганият мониторинг е този на ЦА, ТАК, СИР, ЕВЕ.

Наред с посочените до тук методи на изследване се използват и други при съответни показания – диференциално броене, имуноен статус (клетъчен и хуморален), определяне на алоантитела и тяхното специфициране, определяне на антигени за тъканна съвместимост по HLA с-ма.

В съображение идват и всички необходими допълнителни образ-ни и лабораторни диагностички, които са наложителни при съответните усложнения.

Характеристиките на използваните методи на изследване са представени подробно при всяко едно от проучванията, включени в настоящия труд.

## **2.МЕТОДИ**

Статистическата обработка е осъществена на персонален компютър с използване на програмите Microsoft Excel и Microsoft Word, вариационен и корелационен анализ, рангов анализ за рязко отличаващите се случаи, нечифтни тестове, Kaplan-Meier анализ като подходящ за определяне на разликите между групите, Соx-пропорционален хазартен анализ за определяне на релативен риск. Прие се, че дадена причинно-следствена връзка е практически значима при стойности на коефициента за корелация  $r$  най-малко  $\pm 3$ .

Срезово проучване на бъбречно трансплантираните пациенти с функциониращ графт на диспансерно наблюдение в Клиника по нефрология и трансплантация – общо 503 БТ пациенти с функциониращ графт на диспансерно

наблюдение до 31.03.2017г. Отчитани са характеристики на пациентите преди бъбречната трансплантация – пол, възраст, основно заболяване, време на предхождащо диализно лечение, поредна бъбречна трансплантация, предхождащо диализно лечение – хемодиализа и перитонеална диализа, остатъчна диуреза към момента на трансплантацията, холестерол, 3-глицериди, АН преди БТ. Включени са още характеристики на донора – тип (трупен/жив), пол, години, съвместимост по HLA – A, B, DR, наличие на антидонорни антитела преди трансплантацията. Проблеми след БТ – отложена функция на графта, реакции на отхвърляне, рецидив на гломерулонефрит, уроинфекции, урологични усложнения. Характеристики по време на редовното проследяване в ДБТ – ПББ, месеци след БТ, АН, индекс на телесната маса, кръвна картина, биохимия, урина, урокултура, протеинурия, имunosупресивна терапия, кръвни нива на имunosупресори, антихипертензивна терапия, антихиперлипемична терапия, лечение на ХПТ, вирусология, новопоявил се ЗД, вид на имunosупресия и имunosупресивни комбинации. Проследени са бъбречната функция (ГФ), протеинурията и други показатели на определени времеви интервали при всеки пациент – 1, 3, 6, 12 месеца, 2-ра, 3-та, 5-та година.

Ретроспективно лонгитудинално проуване на влиянието на имunosупресията на шести и дванадесети месец върху бъбречната функция (N 540) с цел да се установи наличие на епизод на остра реакция на отхвърляне, честотата на острите реакции на отхвърляне, значимостта на поддържащата имunosупресия, както и степента на увреда на бъбречната функция на трансплантата след проведеното лечение.

Ретроспективно лонгитудинално проучване на ефекта от прило-женото лечение на остро отхвърляне по ниво на изчислената гломерулна филтрация. Статистически анализ - IBM SPSS Statistics 2010 and Microsoft Excel 2010. За сравнение на категорийни данни е използван chi-square test, количествени данни за нормално разпределение - с paired sample t-test, или Mann-Whitney U-test при разпределение различно от нормалното, ROC анализ за определяне на предиктивна стойост, Kaplan Meier log rank test за определяне на преживяемост, както и унифакторен и мултифакторен Cox regression анализ за определяне на риска.

Доказването на остра реакция на отхвърляне е по клинични и/или лабораторни и/или имунологични и/или патохистологични данни. Основна цел на наблюдението са епизодите на реакция на остро отхвърляне. Пациентите са наблюдавани за прояви на остра реакция на отхвърляне. Нейното доказване се осъществява на база клинични и особено лабораторни данни - рязко покачване на стойностите на серумния креатинин с над 15% на фона на стабилни такива в предходния период. В подкрепа на ОРО са данните от конвенционалната и особено Doppler ехографията - промяна в дебелината на паренхима, ехогенността на паренхима, резистентния и пулсативен индекси. Най-точното диагностициране с възможност за ясна прогноза и правилен подход при лечението е биопсията на трансплантирания бъбрек. Друг важен параметър за ОРО е доказването на алоантитела при пациентите в комбинация с посочените други характеристики за ОРО. Клиничните прояви са субфебрилитет, тежест в областта на трансплантата, при палпация на трансплантата той е твърд и чувствителен, намаляване на диурезата. Епизодите на реакция на отхвърляне са наблюдавани основно през първата година след трансплантацията, но и в по-късен период, когато се касае за първо увеличаване на серумния креатинин, особено с наличие на поява на алоантитела.

Определянето на бъбречната функция на трансплантата е на база изчислена скорост на гломерулна филтрация – eGFR по формула MDRD или на база на 24ч. креатининов клирънс.

#### IV. СОБСТВЕНИ ПРОУЧВАНИЯ

##### **1. Определяне на честота на острите реакции на отхвърляне в популацията на бъбречно трансплантираните пациенти у нас.**

Епизодите на остро отхвърляне са основен фактор, който повлиява неблагоприятно дългосрочната преживяемост на трансплантирания бъбрек/175/. През последните две десетилетия се отчита значително подобрене на резултатите от бъбречна трансплантация. Това до голяма степен се дължи на прогресивното намаляване на честотата и тежестта на острите реакции на отхвърляне като през последните години се стабилизира до между 10% и 25% в рамките на една година след трансплантацията, в зависимост от нивото на имунологичния риск и в резултат на употребата на съвременни имunosупресивни протоколи. По-нови проучвания подчертават, че остро отхвърляне може да няма вредно въздействие върху дългосрочната преживяемост на присадката ако се постигне пълно възстановяване на функцията на графта/ > 85% спрямо изходното ниво/ Познаването на рисковите фактори и определянето на имунологичния риск по време на трансплантацията е важно за определянето на индивидуален подход в терапевтичното поведение и превенцията на острите реакции на отхвърляне./57,59,63,110,240/

Установени са няколко рискови фактора за остро отхвърляне и те включват: ретрансплантация; възраст на донора над 50 години; повече несъвпадения по клас I антигени, особено по DR антигените на HLA; процент реактивни алоантитела; по-млада възраст на реципиента; хипоимunosупресия; неколаборативност на пациентите; вирусни инфекции; етническа принадлежност; затлъстяване; хиперлипидемия

##### ***Характеристики на донора***

В началото на 90-те години едногодишната честота на остро отхвърляне е била приблизително 10% по-ниска при реципиентите на бъбрек от жив донор, отколкото от трупен донор. В последните проучвания от САЩ разликата е

намаляла само до 1-2% ,поради фактори като подобрена имуносупресия и по-добра съвместимост. Не се описва разлика в честотата на остро отхвърляне между трансплантираните от жив родствен и жив неродствен донори, въпреки значително по-голямото HLA несъответствие във втория случай.

Има много доказателства,че присадката от по-възрастен донор има по-голяма имуногенност и

повишава риска от остри реакции на отхвърляне. В големия анализ на данните от UNOS, Tullius убедително демонстрира, че има значителна връзка между увеличаващата се възраст на донора и остро отхвърляне. Например, честотата на остро отхвърляне е 18,2% спрямо 24,5% при донори на възраст 18-29 години спрямо 60-69 години. За разлика от това, несъответствието на пола на донор-реципиент не е от значение за риска от остро отхвърляне./20,40,204/

По-продължителното време на студена исхемия може потенциално да допринесе за риска от отхвърляне като предизвиква исхемично-реперфузионното увреждане и увеличаване на риска от отложена функция на графта.Установено е, че студената исхемия е  $\geq 24$  часа, повишава риска от остро отхвърляне . И схемично-реперфузионното увреждане е по-често при присадки от трупен донор в сравнение с присадки от жив донор и се асоциира с повишена експресия на донорни HLA антигени, повишен алоимунен отговор и риск от остро отхвърляне./20.40,171,205,242,257/

### ***Клинични характеристики на реципиентите***

Един от най-утвърдените рискови фактори за остро отхвърляне е степента на HLA несъответствие. Значимостта на HLA съвпадането е ясно установена при бъбречна трансплантация и степента на несъответствията на HLA в локусите A, B и DR представлява важна част от оценката на имунологичния риск. Увеличаването на броя на несъответствията на HLA е свързано с по-лоша преживяемост на присадката и пациента и е важен рисков фактор за остро отхвърляне при реципиенти на бъбречна трансплантация.

Наличието на предварително формирани антидонорни специфични анти-HLA антитела е рисков фактор и контраиндикация за трансплантация,т.к участват в

свърхоострата и акцелерирана антитяло-медиирани реакции на отхвърляне. Някои проучвания докладват за до 31 % де ново образувани след трансплантацията донор-специфични алоантитела. Пациентите с антидонорни антитела и АВО несъвместими трансплантации са изложени на висок риск от остра антитяло медирана реакция на отхвърляне/АМР/. Тя се доказва в 12 до 37 % от ПББ и е все по-честа причина за дисфункция на графта./18,25,30,44,63,237/

Установено е, че дори субклиничните АМР значително понижават преживяемостта на графта.

Ретрансплантацията е свързана с наличие на патологични реактивни антитела (ПРА), HLA несъответствия и наличие на донор специфични антитела (ДСА). Пациентите с предшестваща неуспешна трансплантация имат по-висок риск от остро отхвърляне и по-ниска преживяемост на присадката в сравнение с първата трансплантация. С използването на съвременните имunosупресивни протоколи значително е намляла честотата на остри реакции след ретрансплантация. Международни проучвания представят данни за остри реакции през първата година след ретрансплантация до 7% . /17,22,26,100,141,145,146,147,278/

От различните демографски характеристики на реципиентите на бъбречна трансплантация, които могат да повлияят на риска за остро отхвърляне, най-убедителните данни са свързани с по-младата възраст. Различните проучвания установяват, че възрастта около 45-50 е се асоциира с висок риск от отхвърляне, което се дължи до някъде на свързаните с възрастта промени в ефекторния Т-клетъчен имунен отговор при по-възрастни пациенти. Един анализ на Регистъра на общата мрежа за споделяне на органи (UNOS) през периода 1995-2008 г. установява, че всяко последователно десетилетие на възраст над 39 години е свързано със значително намаляване на острото отхвърляне през първата година след трансплантацията. /210/

Има съобщения, че жените имат по-голяма склонност към остри реакции на отхвърляне, когато са сенсibiliзирани от предишни бременности./103/

Затлъстяването може потенциално да предразположи към остро отхвърляне, като изследванията върху индекса на телесна маса установяват, че само най-високата категория на ИТМ ( $\geq 35$  kg / m<sup>2</sup>) е свързана с остро отхвърляне през първата година, в сравнение с нормалното тегло . Затлъстяването е идентифицирано като един от основните рискови фактори на NODAT. Установена е сигнификантно по-висока честота на отложена функция на присадката при пациенти с ИТМ >30, както и на доказано с биопсия остро отхвърляне при пациенти с ИТМ  $\geq 35$ , както и по-висока честота на усложненията на раните и меките тъкани след операцията, по-висока честота и сърдечно съдови усложнения след трансплантацията, инфекции и неоплазми. Тези фактори, както и хиперфилтрацията в резултат на затлъстяването са свързани с неблагоприятен ефект върху дългосрочната преживяемост на присадката. Въпреки това, бъбречно трансплантираните пациенти имат по-добра преживяемост отколкото пациентите с наднормено тегло на хемодиализно лечение. /89,170/

Големи регистърни анализа на популациите на Съединените щати убедително са доказали, че афро-американците имат 22-25% по-висок риск от отхвърляне т.к. имат по-висока честота на CYP 3 A5 ,което е свързано с ниска експозиция на такролимус ./224/

Неколаборативност на пациента

Неспазването на имunosупресивния режим неизбежно повишава риска от остри реакции на отхвърляне и се наблюдава при една пета от реципиентите на бъбречна трансплантация. Свързва се с юношеска възраст, негативно отношение към лечението, психични отклонения, психо-социални и битови фактори. /37,108/

Хиперлипидемията е честа констатация сред реципиентите на бъбречна трансплантация и значимо повишава риска от сърдечно съдови инциденти. Увеличаването на общия холестерол , нивата на LDL и повишени нива на триглицеридите са са най-често срещаната констатация. Разпространението на хиперлипидемията, се оценява на 80% при пациентите с бъбречна трансплантация. Многобройни фактори допринасят за развитието на дислипидемия, като имunosупресивната терапия играе важна

роля.Имуносупресивните агенти, особено кортикостероидите, калциневриновите инхибитори и mTOR инхибиторите имат известни дозозависими ефекти върху нивата на серумните липиди. Други вторични причини при тази популация пациенти могат да включват нефротичен синдром, хипотиреоидизъм, захарен диабет, прекомерен прием на алкохол и хронично, чернодробно заболяване. Някои ретроспективни проучвания показват, че повишеният холестерол и триглицериди също са независими рискови фактори за отхвърляне на алотрансплантата при реципенти на бъбречна трансплантация. Препоръките са за индивидуализиране на терапевтичните стратегии ,за да се сведе до минимум риска от отхвърляне и сърдечно-съдови заболявания./89/

Към настоящия момент има доказателства,че терапията със статини може да намали сериозните сърдечно-съдови събития и сърдечно-съдовата смъртност при реципиентите на бъбречна трансплантация.Лечението с статин ясно намалява серумните нива на холестерола, но има несигурни ефекти върху бъбречната функция и рисковете за остро отхвърляне .

Захарният диабет и остроото отхвърляне са основни причини за заболяемостта и смъртността при бъбречно трансплантирани пациенти.Имуносупресорите намаляват риска за остроото отхвърляне, но увеличават честотата на новопоявили се диабет след трансплантация.

Диабетната нефропатия се развива при 30 до 35% от пациентите със ЗД.При пациенти с основно заболяване ЗД и диабетна нефропатия след бъбречна трансплантация се постига стабилизиране на диабета,както и добро повлияване на новопоявилите се усложнения.ЗД има увреждащо действие върху трансплантирания бъбрек. Проучванията представят 80-100% риск от възвръщане на диабетната нефропатия в трансплантирания бъбрек,като още на втората година от трансплантацията се описват хистологични находки като мезангиална експанзия и задебелена ГБМ. Прогресията е много бавна и въздействието върху бъбречната функция е по-слабо, отколкото отхвърлянето на алографта. Въпреки рецидивирането на диабетната нефропатия в трансплантирания бъбрек,преживяемостта на пациентите и присадката след

бъбречна трансплантация е значително по-добра отколкото при пациенти на диализа. Лечението продължава така, както и преди трансплантацията. Поддържането на добър гликемичен контрол при тези пациенти увеличава значително тяхната преживяемост.

Новопоявилите се ЗД след БТ сигнификантно намалява функцията и преживяемостта на трансплантата. За появата му съществуват много рискови фактори-фамилна анамнеза за диабет, нарушен глюкозен толеранс, затлъстяване, възраст, имunosупресивна терапия, HLA принадлежност, вирусен хепатит тип С, етническа принадлежност. Основният рисков фактор е имunosупресивната терапия, която е задължителна и има малки възможности за моделиране. Дозозависим диabetогенен ефект имат кортикостероидите, калциневриновите инхибитори, mTOR инхибиторите. Редуцирането на дозата на имunosупресорите може да доведе до намаляване риска от диабет, но това е свързано с повишаване риска от реакции на отхвърляне. /208,247/

Редица проучвания показват повишен риск от реакции на отхвърляне, инфекции на трансплантата и намалена преживяемост при пациенти с посттрансплантационен диабет. При едно проучване от 2002 г честотата на остро отхвърляне при пациенти с посттрансплантационен диабет е била 50% срещу 30 % при недиабетици. Установена е и преживяемост на трансплантата на първата година с 79,3% при диabetици срещу 91,3% при недиабетици. Много проучвания демонстрират и намаляване преживяемостта на пациента при посттрансплантационин ЗД. Заболеваемостта от сърдечно –съдови заболявания при тези пациенти е сигнификантно по-висока. Посттрансплантационният диabet се определя като голям рисков фактор за преживяемостта на трансплантата и пациента. /134,136//

Редица заболявания са способни да компроментират бъбречната функция при бъбречно трансплантирани пациенти. Най-честите причини за бъбречно заболяване, водещи до бъбречна трансплантация в регистъра на САЩ, са следните:

Диабет - 31%,хроничен гломерулонефрит - 28%,бъбречна поликистоза - 12%,нефросклероза (хипертония) - 9%,системен лупус еритематозус (СЛЕ) - 3%,интерстициален нефрит - 3%.

Разбирането на етиологията на бъбречното заболяване е важно, тъй като първичната бъбречна патология може да повлияе преживяемостта на присадката и пациента чрез рецидив на заболяването и съпътстващата коморбидност.ПББ е златен стандарт в диагностиката на рекурентните и de novo заболявания на бъбречния трансплантат,които могат да бъдат класифицирани според клинични или хистологични критерии

Повтарянето на гломерулонефрита ГН и появата на де ново ГН (de novo GN) в трансплантирания бъбрек се проявяват в рания посттрансплантационен период. Развитието на нови имunosупресивни лекарства е насочено към контролиране на острите и хронични отхвърляния, но не повлиява появата и изхода на повтарящи се и de novo GN след бъбречна трансплантация .Установено е, че приблизително 10 до 20% от пациентите с ГН развиват рецидив в алографта и 50% от тях губят присадката си при дългосрочно проследяване . /90/

От различни анализи на регистрите рецидивирването на ГН в трансплантирания бъбрек варира от 2,9 до 12,1% и е обратно пропорционално на възрастта на получателя.

Като цяло FSGS се възвръща след трансплантация в приблизително 20 до 30% от случаите. Обикновено, рецидив на първична FSGS настъпва в рано след трансплантацията - първите 6-12 месеца и се проявява с тежка протеинурия,нефротичен синдром и влошаване функцията на присадката. Фамилните форми на FSGS не се повтарят и могат да бъдат лекувани ефективно чрез бъбречна трансплантация.

#### IGAN

Морфологичното повтаряне на IgAN след трансплантация се наблюдава при 20 до 60% от пациентите при ретроспективни анализи.

Прогресията на IgAN в трансплантирания бъбрек обикновено е бавно, но при продължително проследяване със сигурност повлиява негативно дългосрочната

преживяемост на присадката. Загубата на алотрансплантат варира от 45 до 70% от пациентите с документиран рецидив на IgAN .

MN рецидивира в 10 до 30% от бъбречните алографти . Пациентите с рецидив рано след трансплантацията и тези с масивна протеинурия влошават по-бързо функцията на присадката. Хепатит В и С и автоимунни заболявания като СЛЕ могат да бъдат причина за рецидивираща MN при малка част от пациентите.

MPGN тип I се повтаря в 20 до 30% от алографтите. MPGN тип II възниква в 50 до 100% от алографтите и по-често води до загуба на присадката.

HUS / TTP Прегледът на честотата на рецидивите на HUS / TTP показва висока честота на повторение при пациенти с мутации на фактор Н(60%), в сравнение с по-ниска честота (0,8%) при тези с постдиариен HUS.

#### Системни заболявания

Степента на повторяемост на различните системни заболявания се различава в зависимост от конкретната болест. Рецидивиращият лупусен нефрит може да се наблюдава при 2 до 10% от алографтите. Ниската честотата на рецидивите се обяснява с използването на различни имunosупресивни средства след бъбречна трансплантация. Анализи върху Грануломатоза на Wegener предполагат повторение в 17%. Позитивността на ANCA по време на трансплантацията се описва като рисков фактор за рецидив в някои доклади. Анти-GBM болест също може да се повтори след трансплантацията, а De novo анти-GBM заболяване може да възникне в резултат на развитието на анти-GBM антитела при пациенти със синдром на Alport .

Установена е честотата на рецидиране на AA амилоидоза в присадката в 14%. Многостранен анализ показва значителна връзка между рецидив на амилоидоза в трансплантирания бъбрек и риска от смъртен изход и загуба на присадката

Рецидивиращият GN се определя като четвъртата най-честа причина за загуба на алографта след остро отхвърляне, хронична алографтна нефропатия и смърт с функционираща присадка. Съвременната имunosупресия значително е намалила честотата на острите реакции на отхвърляне и в резултат на това

рецидивирацията в трансплантата ГН става все по значима причина за загуба на алографта./200/

Познаването на факторите,които повлияват честотата на острата реакция на отхвърляне е важно ,т.к. те влияят върху преживяемостта на присадката и предопределят изхода от трансплантацията.

### **1.1. ЦЕЛ**

Целта на настоящото проучване е да се определи честотата на острите реакции на отхвърляне в популацията на бъбречно трансплантираните пациенти у нас.

### **1.2МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ**

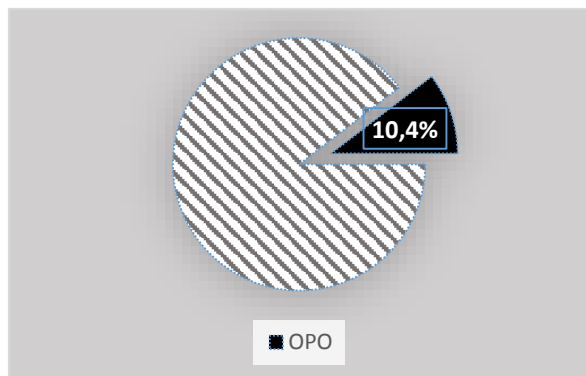
В проучването са включени общо 510 бъбречно трансплантирани пациенти, наблюдавани за 10г. период до м.03.2017г, съотношение: 323 мъже и 187 жени (1.7:1), на възраст между 15 и 79г., 297 трансплантирани от жив донор, 213от трупен донор или съотношение 1,3:1. Основните данни са представени на таблица №2:

**Табл. 2.** Основни данни на проучваната група пациенти.

<b>брой пациенти</b>	<b>възраст</b>	<b>мъже:жени</b>	<b>жив:трупен донор</b>
<b>510</b>	<b>15-79г</b>	<b>1,7:1</b>	<b>1,3:1</b>

Данните са обработени на персонален компютър с програмите Microsoft Word и Exell.

Установена е обща честота на ОРО, които са възникнали в рамките на една година след БТ и са доказани с ПББ - 10,4%.



Фиг.1.Честота на ОРО в популацията на бъбречнотрансплантираните пациенти

### 1.Оценка на влиянието на характеристиките на донора върху честотата на острите реакции на отхвърляне.

#### Вид на донора

Табл. 3 Честота на ОРО според вида на на донора

вид донор	трупен	жив
брой трансплантирани	213	297
честота на ОРО %	10%	10,7%

Не се установи значима разлика в честотата на ОРО при пациенти трансплантирани от жив и трупен донор.

Фиг. 2 Честота на ОРО при пациенти ,трансплантирани от жив и трупен донор



### **Възраст на донора**

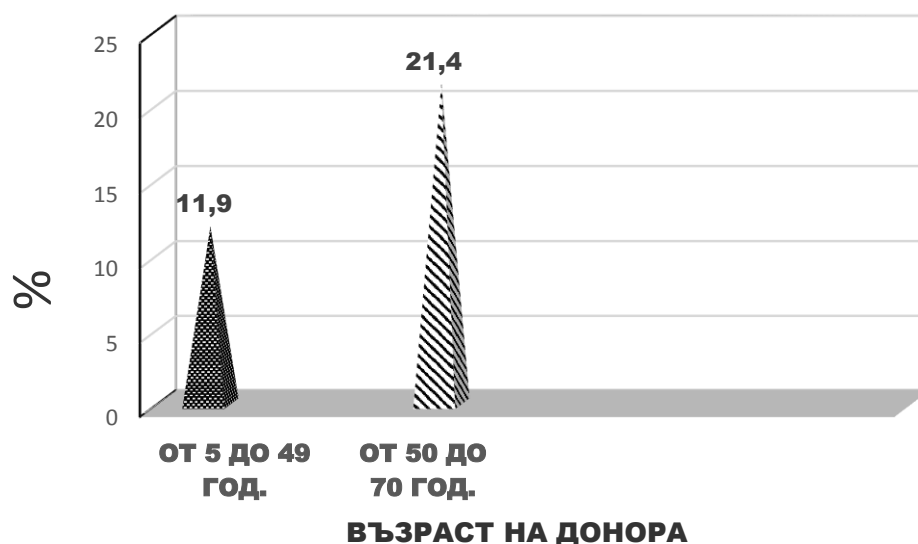
Бяха проучени 401 трансплантирани пациенти, 252 трансплантирани от донор на възраст до 49 години и 149 трансплантирани от донор на възраст  $\geq 50$  години. В първата група се установиха остри реакции на отхвърляне при 30 пациенти, или 11,9%, а във втората 32 остри реакции, т.е. 21,4%.

При пациентите, трансплантирани от по-възрастен донор се установява по-висока честота на острите реакции на отхвърляне.

**Табл. 4.** Честота на ОРО при различни възрастови характеристики на донора.

Възрастова граница	От 5 до 49 години	От 50 до 70 години
Брой трансплантирани	252	149
Честота на ОРО	11,9%	21,4%

**Фиг.3** Честота на ОРО според възрастта на донора



Наблюдението върху бъбречната функция е протеинурията показват сходни промени на първата, петата и петнадесетата година от проследяването

**Табл. 5.** Проследяване на бъбречна функция и протенурия при наблюдаваните групи пациенти.

Възраст на донора	От 5 до 49 години	От 50 до 70 години
GFR-MDRD ml/min/1.73/m <sup>2</sup>		
1 г. след БТ	62	62
5 г. след БТ	60	60
15 г. след БТ	56	55
Протеинурия г/24ч		
1г.след БТ	0,450	0,450
5г.след БТ	0,344	0,345
15г.след БТ	0,568	0,572

#### Отложена функция на графта

При 106 бъбречно трансплантирани пациенти е документирана отложена функция на графта по различни причини. При 17 от тях се доказват ОРО през първата година след трансплантацията, т.е. 16,3%.

**Табл. 6** Честота на ОРО при пациенти с отложена функция на графта.

	С отложена функция на графта	С първично функционираща присадка
Брой пациенти	106	404
Честота на ОРО	16,3%	9,09%

**Фиг. 4** Честота на ОРО при наблюдаваните групи



## 2.Характеристики на реципиента

### Възраст на реципиента

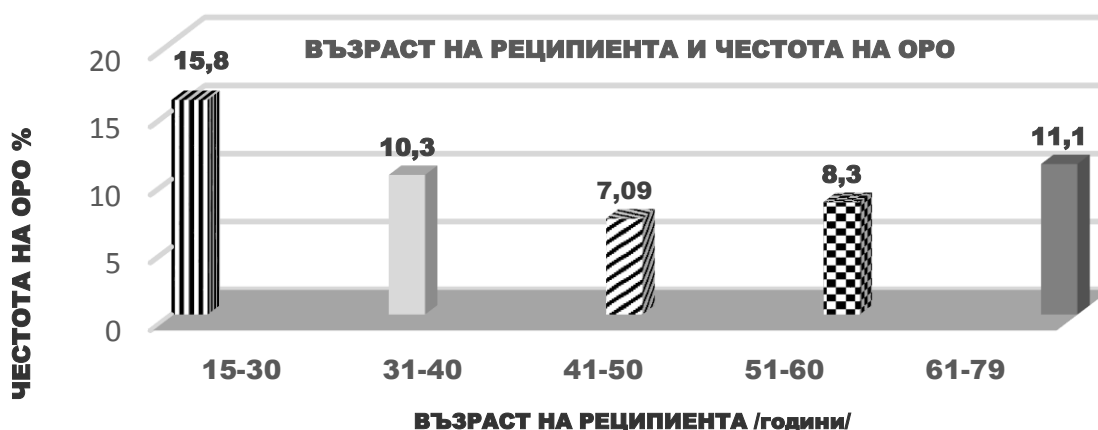
Проучваните реципиенти(n=498) на възраст от 15 до 39 години,разпрадалени по възрастови групи представят следните характеристики:

**Таблица 7.** Честота на ОРО при реципиенти от раличнични възрастови групи.

Възрастова граница	15-30г	31-40г	41-50г	51-60г	61-79г
Брой пациенти	83	137	123	126	29
Честота на ОРО %	15,8	10,3	7,09	8,3	11,1

По-младата възраст на реципиента е свързана с по-висок процент на остри реакции на отхвърляне.

**Фигура 5.**Възраст на реципиентите и честота на ОРО



### **Наличие на анти HLA антитела.**

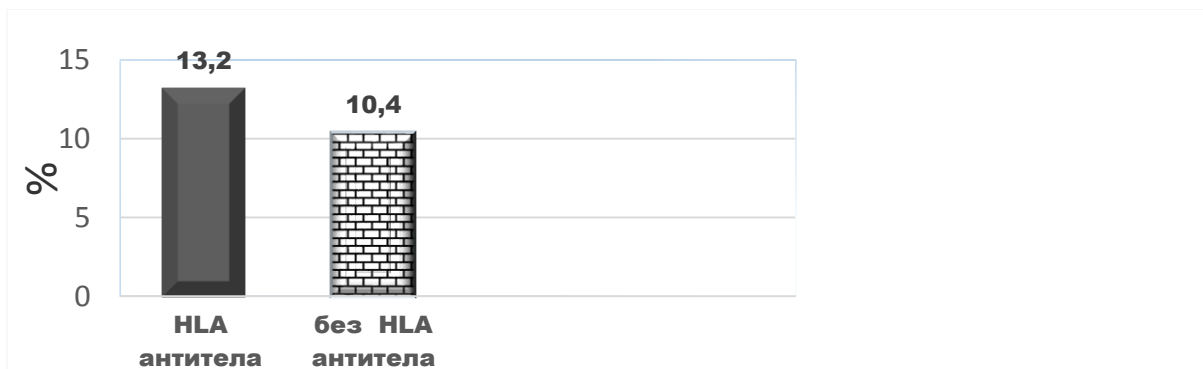
При проследяване на 510 бъбречно трансплантирани пациенти при 52 (10,1% ) от тях се установи наличие на алоантитела към клас I и II HLA).Честотата на ОРО в тази група пациенти е 13,2%.

**Табл. 8** Връзка между наличието на алоантитела и честотата на ОРО.

	<b>С алоантитела</b>	<b>Без алоантитела</b>
<b>Брой пациенти</b>	<b>52</b>	<b>458</b>
<b>Честота на ОРО %</b>	<b>13,2%</b>	<b>10,4%</b>

От таблицата се вижда,че наличието на алоантитела е свързано с по –висока честота на ОРО.

**Фигура 6.** Честота на ОРО и наличие на алоантитела



При проследяване на бъбречната функция между двете групи се установяват сходни показатели на 1-ва,5-та,15-та година след БТ.

**Табл9** Проследяване на протеинурия и бъбречна функция при проучваните пациенти.

GFR-MDRD ml/min/1.73/m <sup>2</sup>	С наличие на алоантитела	Без наличие на алоантитела
1г. След БТ	62	62
5г.след БТ	61	60
15г след БТ	55	56
Протеинурия		
1г.след БТ	0,450	0,450
5г.след БТ	0,345	0,344
15г.след БТ	0,575	0,568

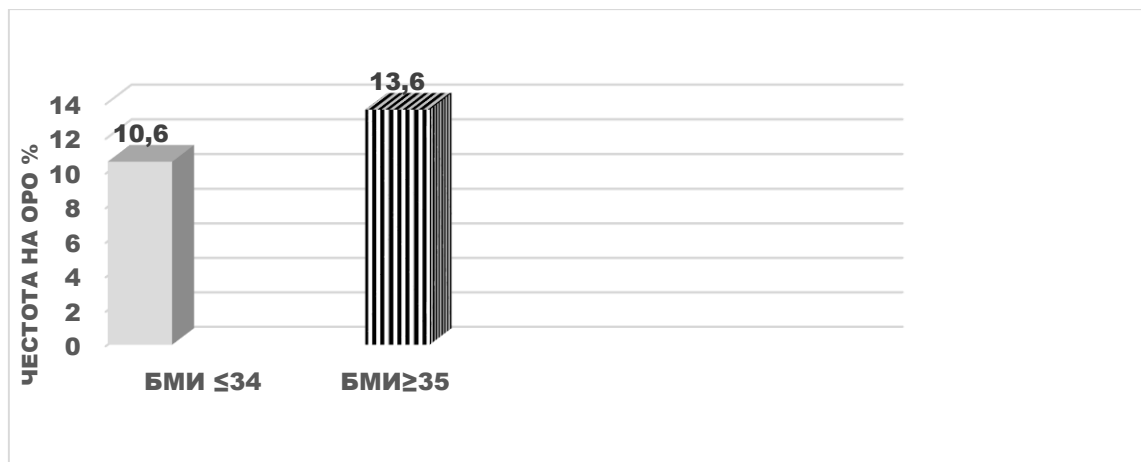
**Влияние на затлъстяването върху честотата на ОРО**

При 22 бъбречно трансплантирани пациенти се установи БМИ  $\geq 35$  kg/m<sup>2</sup> се установиха 3 ОРО/ 13,6%/.За сравнение пациентите с БМИ  $\leq 34$ kg/m<sup>2</sup> които са 182 на брой , се представят с честота на ОРО 10,6%.

**Таблица 10.** Връзка между BMI и честота на ОРО

BMI kg/m <sup>2</sup>	<34	$\geq 35$
Брой пациенти	482	22
Честота на ОРО %	10,6%	13,6

**Фигура 7** Честота на ОРО и БМИ



**Табл. 11** Бъбречна функция и протеинурия при наблюдаваните пациенти

БМИ	≤34кг/м <sup>2</sup>	≥35кг/м <sup>2</sup>
GFR-MDRD ml/min/1 Таблица.73/м <sup>2</sup>		
1 год.след БТ	62	63
5 год.след БТ	61	61
15 год.след БТ	56	54
протеинурия		
1 год.след БТ	0.299	0.296
5 год.след БТ	0.309	0.296
15 год.след БТ	0.401	0.601

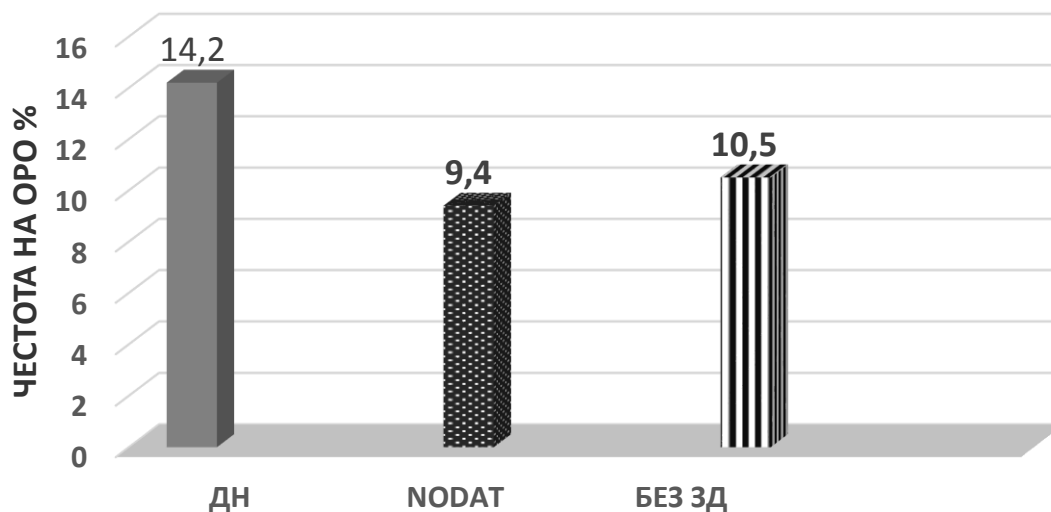
**Захарен диабет при бъбречно трансплантирани пациенти и честота на ОРО.**

Пациентите със ЗД са 74, т.е. 12,2% от всички наблюдавани бъбречно трансплантирани пациенти. 21 от тях са с първично заболяване диабетна нефропатия, а при 53 пациенти се открива новопоявил се след БТ захарен диабет. В първата група се установиха 3 доказани с ПББ остри реакции на отхвърляне/14,2%/, а групата с пострасплантационен диабет-5 остри реакции/9,4%/.

**Таблица 12** Честота на ОРО при бъбречно трансплантирани пациенти със ЗД

Тип ЗД	Диабетна нефропатия като първична диагноза	Посттрансплантационен ЗД	Без ЗД
Брой пациенти	21	53	436
Честота на ОРО %	14,2%	9,4%	10,5

**Фигура 8.**Честота на ОРО при ЗД



Проследяването на бъбречната функция и протеинурията е представено в следващата таблица.

**Таблица 13.** Бъбречна функция и протеинурия при бъбречно трансплантирани пациенти със ЗД и без ЗД.

GFR-MDRD ml/min/1.73/m <sup>2</sup>	Диабетна нефропатия	NODAT	Без ЗД
1г. След БТ	61	62	60
5г.след БТ	60	61	60
15г след БТ	55	55	56
Протеинурия			
1г.след БТ	0,320	0,440	0,304
5г.след БТ	0,351	0,301	0,344
15г.след БТ	0,590	0,566	0,508

**Значимост на първичното заболяване ,довело до ХБЗ за честотата на острите реакции.**

Заболяванията,които са причинили ХБЗ V степен преди бъбречната трансплантация са разделени според етиологията на имунни и неимунни нефропатии,и такива,които са останали недиагностицирани .

Неимунните нефропатии са причина за ХБЗ при 218(42,7%) бъбречно трансплантирани пациенти,като най-чести са,вродените аномалии на бъбреците –при и пикочните пътища-45% от случаите,,АДБПК-33%,ХПН,нефролитиаза и ХТИН-54%,ДН-18%.

Имунните нефропатии са причина за ХБЗ при 255(50%) бъбречно трнсплантирани пациенти,като най-висока е честотата на гломерулонефритите-доказани с ПББ при 136 пациенти/53,3%/и установени по клинични и лабораторни показатели/без ПББ поради авансирала ХБН/-при 106 пациенти - 41%.Най висока е честотата на ИгА ГН-33%,мезангиопролиферативен ГН 19%,ОСГСХ-14%,мезангиокапилярен ГН 8,8%, мембранозен ГН -5,1%АНКА позитивни гломерулонефрити 5,8%,ЛЕД-2,9%.

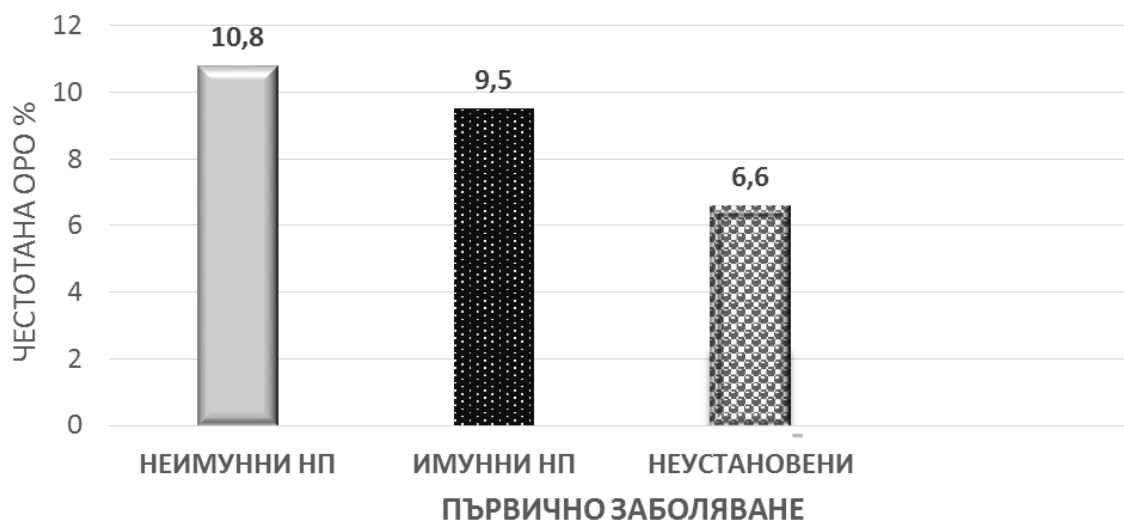
39(7,6%) от пациентите имат неустановени първични заболявания.

Честотата на острите реакции в наблюдаваните групи е представена на следващата таблица.

**Таблица 14** Връзка между първичното бъбречно заболяване и ОРО.

Първично бъбречно заболяване	Имунни нефропатии	Неимунни нефропатии	Неустановени
Брой пациенти	294	257	39
Честота на ОРО	9,5%	10,8%	6,6%

**Фигура 8** Честота на ОРО при различните първични заболявания



Бъбречната функция и протеинурията при тези групи представят идентични промени на 1,5,15 година от проследяването.

Рецидиви на първичното заболяване в трансплантирания бъбрек са доказани с ПББ при 22 от пациентите, като в 16 от случаите се касае за ИгА ГН, три случая с рецидив на мезангиокапилярен ГН, при 2 пациенти – мезангиопролиферативен ГН, ОСГСХ при 1 пациент. При тази група пациенти се установиха 6 ОРО-26%.

**Табл. 15.** Рецидив на първично бъбречно заболяване трансплантирания бъбрек.

Рецидив на ГН в трансплантиран бъбрек-ПББ	22 пациенти
ИгА ГН	15
Мезангиопролиферативен	2
ОСГСХ	1
Мембанозен ГН	1
Мезангиокапилярен	3
Честота на ОРО в тази група пациенти	26%

### 1.3.ИЗВОДИ

- 1. Разликата в честотата на ОРО при трансплантирани от жив и трупен донор е под 1%,което съответства на данни от международни проучвания и отразява подобрена имуносупресия и по-добра съвместимост.
- 2.ОРО се повлияват от фактори като възраст на донора и реципиента и отложена функция на графта
- 3.Имунологичните фактори имат съществено значение за протичането на посттрансплантационния период.Наличието на HLA антитела е свързано с увеличена честота на острите реакции на отхвърляне
- 4.Налице е по-висока честота на ОРО при БМИ над 35кг/м.<sup>2</sup>
- 5.Не се установи по –висока честота на ОРО при пациенти с посттрансплантационен ЗД,което говори за оптимална имуносупресия по отношение превенция на ОРО.
- 6.Познаването на факторите,повлияващи честотата на ОРО е важно за оценката на риска за ОРО и оптимизиране на имуносупресивната терапия.

## **2.ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ЗНАЧИМОСТТА НА МИКОФЕНОЛАТ ЗА ЧЕСТОТАТА НА ОСТРИТЕ РЕАКЦИИ НА ОТХВЪРЛЯНЕ.**

Микофенолат (МФ) - мофетил (ММФ) и содиум (ММС) представлява морфолиноетилов естер съответно сол на активната микофеноловата киселина – оригинални препарати CellCept и Myfortic, както и техните генеричти варианти. Микофенолатът е сравнително нов имunosупресивен агент, който намери сериозно приложение в трансплантологията през последните петнадесет години. Той е в една група имunosупресори заедно с азатиоприн като има много предимства пред него. МФ блокира de novo синтезата на гуанинови нуклеотиди и по този начин постига таргетно действие върху пуриновата синтеза при лимфоцитите - както на Т, така и на В лимфоцитите. Блокиращият ефект е насочен предимно върху лимфоцитната популация. МФ има, разбира се въздействие и върху други клетъчни популации, но е слаб по отношение на тези клетъчни популации. МФ има значим период на неговото клинично приложение в органната трансплантация и особено бъбречната. Това е достатъчно за да имаме възможността да определим с достоверност неговата значимост като имunosупресор, предимствата му, страничните ефекти, както и сравнение с други имunosупресори – азатиоприн и значимостта му в имunosупресивни комбинации с имunosупресори от други групи. Сега МФ е доказан имunosупресор, който в съответните имunosупресивни комбинации има ефект върху понижаването на честотата на остро отхвърляне при бѐб-речна трансплантация. Както при всички имunosупресори, така и при ММФ се търси клиничния ефект, а именно повлияване продължителността на преживяемостта на бѐб-речния трансплантат. Това е таргет, който трудно може да бѐде демонстриран, защото има необходимост от дълъг период на проследяване и задължително многоцентрово проучване за верифициране на клиничните резултати. Хроничната нефропатия на бѐб-речния трансплантат представлява мултиетиологично усложнение при бѐб-речно трансплантираните пациенти, което значимо влияе върху преживяемостта на графта, като я редуцира. Една от причините за това е ОРО респ. нейната честотата. Има достатъчно даннидоказващи, че МФ намалява епизодите на ОРО. В този аспект има проведени доста клиничните проучвания, които демонстрират изразен антипролиферативен ефект на МФ, както и ефект

върху редуциране на протеинурията при пациентите на лечение с МФ. Това води до позитивен ефект върху преживяемостта на графта. Проучванията за ефекта на МФ върху преживяемостта потвърждават тези данни. Съществуват достатъчно клинични проучвания и за други нови имunosупресори като такролимус, сиролимус, еверолимус, белатасепт и интерлевкин-2 рецепторни блокери, които демонстрират резултати за намаляване намаляват честотата на остро отхвърляне. Проучванията за тях относно повлияване преживяемостта на трансплантата и пациента са не толкова много и акцентът върху тях продължава. Основен лимитиращ фактор наред с по-голям брой пациенти е необходимостта от продължителен период от време за тяхното наблюдение и проучване. Според European Mycophenolate Mofetil Cooperative Study Group, обхващащо време на наблюдение само три години, плацебо контролирано, показва статистически несигнификантно повишение на преживяемостта на графта за три години при пациенти, лекувани с 2-3 г/дневно МФ – 84.8% сравнено с 78% при контролната група ( $p=0.12$ ). За тези три години период на наблюдение е доказана честота на загуба на трансплантата от 15.2% при лечение с МФ срещу 22% за контролната група ( $p=0.03$ ). По данни на US Renal Transplant Mycophenolate Mofetil Study Group от 1999г., както и на Tricontinental Mycophenolate Mofetil Renal Transplantation Study Group не се показва сигнификантно подобрене на преживяемостта на бъбречния графт за три годишен период. Друго проучване, основаващо се на 66774 бъбречно трансплантирани пациенти от US Renal Transplant Scientific Registry за период от 1988г. до 1997г. доказва, че МФ намалява релативния риск за развитие на хронична недостатъчност на бъбречния трансплант с 27% -  $p<0.001$ . Доказва се, че този ефект е независим от остро отхвърляне, но може частично да се дължи на намаляване честотата на епизодите на остро отхвърляне от МФ. Това е резултат, даващ основание, че МФ има ефект върху увеличаване преживяемостта на бъбречния трансплантат. Тези данни дават основание да се активират нови проучвания вкл. и у нас, по отношение ефектите от приложението на МФ./2.3.4.7,16,75/

Клиничният опит с препарата, особено когато е продължителен дава възможност да се установят страничните ефекти и тяхният императивен ефект за ограничаване на приложението на МФ – разстройство, левкопения. При

разстройство се получава влошаване на резорбцията на препарата. Това може да се наблюдава при 8.10% от пациентите. В това отношение препарата Myfortic, представляващ ентérosолвентна форма на mesopphenolate sodium (МС) има известно предимство. Това предимство води до по-добро гастроинтестинално понасяне и съответно по-малки странични ефекти в това отношение. Това осигурява възможност при наличие на гастроинтестинален страничен ефект на МФ да се използва с голяма сигурност МС. По този начин не се променя характеристиката на комплексната имunosупресия и се избягва страничният ефект т. е. запазва се сигурността на лечението. Приложението на МС в клиничната практика идва по-късно от МФ, което предопределя по-малкия клиничен опит с него – за последните 7-8 години в сравнение с над 15г. опит с МФ. Начинът на действие на двата препарата е еднакъв. Тяхната еквивалентност в дозово отношение е 180 мг МС еквивалентна на 250 мг МФ, което практически означава, че в двата случая се получава еднакво съдържание/ниво на микофенолова киселина в организма. Клиничните проучвания доказват терапевтична еквивалентност на двата препарата. Върху 423 новотрансплантирани пациенти е установена честота на биопсично доказани случаи на ОРО - 26.3% за МС и 28.1% за МФ. По отношение на гастроинтестиналните ефекти е установено, че те имат честота 15% при пациентите на лечение с МС и 19.5% при те-зи на лечение с МФ, но без да има статистическа разлика между получените резултати. Наши данни от клинично проучване доказва възможността при наличие на диаричен синдром, свързан с някой от двата препарата, той да бъде преодолян чрез преминаване на другия препарат. За клиничната практика това има голяма значимост./123,126,212,246/

## **2.1.ЦЕЛ**

Целта е да се определи значимостта на микофенолат за честотата на острият реакции на отхвърляне при бъбречно трансплантирани пациенти.

## **2.2.МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ**

Проучването включва 349 бъбречно трансплантирани пациенти, от които 208 на МФ и 141 на МС. Съотношението жив:трупен донор в изследваната популация е 1.1:1. Лечението и наблюдението на пациентите е осъществено в Клиника по нефрология и трансплантация на УМБАЛ „Александровска“, София за последните седем години. Основните данни за популацията са представени

на следващата таблица 16:

**Табл16.** Основни данни на проучваната група пациенти.

брой (n)	средна възраст (год.)	мъже : жени	жив : трупен	време на наблюдение (месеци)
349				
208-ММФ	43±9	1,2 : 1	1,1 : 1	>12-76
141-МС	41±8	1,2 : 1	1,1 : 1	>12-76

Имуносупресивната терапия на пациентите включва МФ или МС в различни комбинации с кортикостероид и/или циклоспорин А, и/или такролимус, и/или сиролимус, и/или еверолимус. Микофенолат е прилаган с различни индикации: като първична индукция при 95% от пациентите, вторично индуктивно включване най-често като замяна на азатиоприн – при 5% от пациентите и в случаи на нефротоксичен ефект на циклоспорин А – при 5% от пациенти. При вторична индукция замяната на азатиоприн с микофенолат се налага при странични действие на АЗА – хепатотоксичност, тежко костномозъчно потискане или при поява или нарастваща протеинурия. Дневната доза на ММФ е 1.0 г - 2.0 г., а на МС е 720 до 1440 мг, разделена и в двата случая на два приема през равен интервал.

В проучването е включена за сравнение на резултатите контролна група пациенти – 40, при лечението на които не е използвана имуносупресия с МФ, а вместо него е използван АЗА или имуносупресия без МФ. Средната възраст в тази група е 43±7 години, мъже:жени – 1:1 и отношение жив:трупен донор – 1.1:1. Те са проучени ретроспективно, а времето на наблюдението им е >12 – 36 месеца.

Обект на проследяване са били основни параметри за функцията на бъбречния трансплантат – лабораторни (серумен креатинин, урея, клирънс на ендогенен креатинин, протеинурия – количествено за 24 часа, кръвна картина, кръвна захар, общ белтък, албумин, холестерол, 3-глицериди, пикочна киселина, показатели за чернодробна функция – ГОТ, ГПТ, АФ, ГГТ, билирубин, урина – 24 часова за креатинин и определяне на креатининов клирънс, количество белтък и микробиология), а също и инструментални методи за наблюдение и диагностика

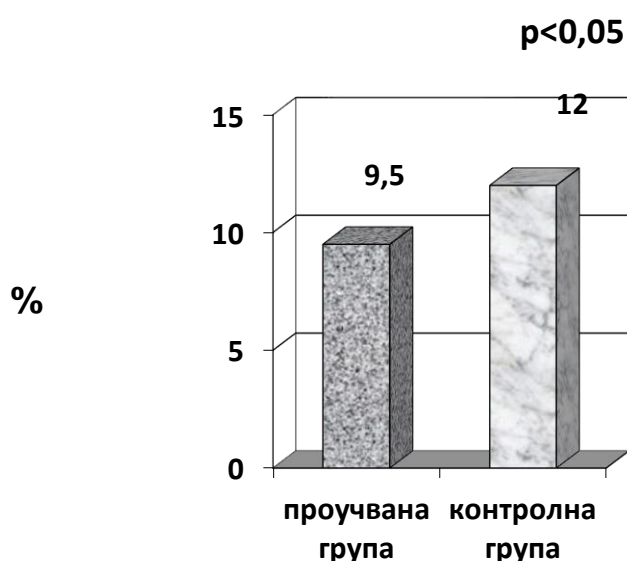
– конвенционална и доплер сонография на трансплантиран бъбрек, пункционна бъбречна биопсия. В проследяването са включени и други органи и системи. Основна цел на наблюдението са епизодите на реакция на остро отхвърляне. Пациентите са наблюдавани за прояви на остра реакция на отхвърляне. Нейното доказване се осъществява на база клинични и особено лабораторни данни - рязко покачване на стойностите на серумния креатинин на фона на стабилни такива в предходния период с над 15%. В подкрепа на ОРО са данните от конвенционалната и особено Doppler ехографията - промяна в дебелината на паренхима, ехогенността на паренхима, резистентния и пулсативен индекси. Най-точното диагностициране с възможност за ясна прогноза и правилен подход при лечението е биопсията на трансплантирания бъбрек. Епизодите на реакция на отхвърляне са наблюдавани основно през първата година след трансплантация, но и в по-късен период, когато се касае за първо увеличаване на серумния креатинин, особено с наличие на поява на алоантитела.

Резултатите са обработени статистически при използване на основни статистически анализи по компютърни програми.

### 2.3.РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

В проучваната група се установи честота на ОРО – 9,5%, а в контролната група – 12% -  $p < 0.05$ . Това е представено на следната фигура:

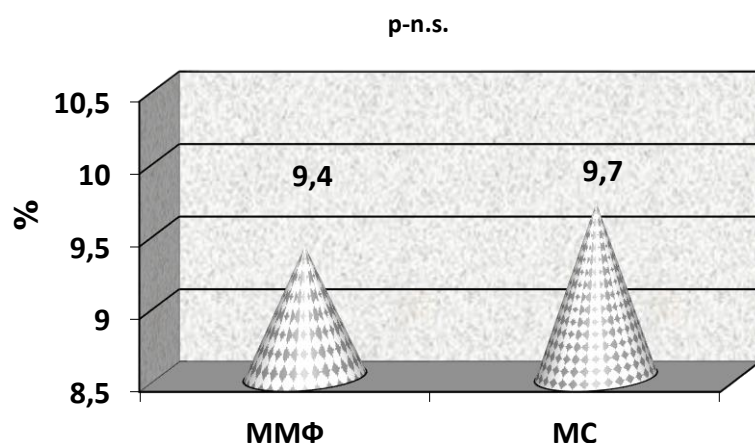
Фиг.9. Честота на ОРО в двете изследвани групи.



При определяне честотата на ОРО в двете подгрупи съответно на лечение с ММФ и на лечение с МС се получиха резултати за първата – 9,4%, а за втората

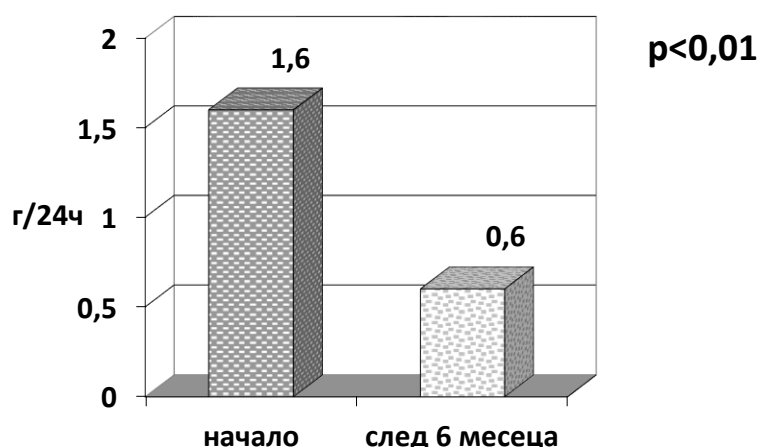
– 9,7%. Няма статистическа достоверност между честотите. Това е представено на следващата графика.

**Фиг. 10** . Честота на ОРО в двете подгрупи



При характеризиране на функцията на трансплантирания бъбрек основен параметър на наблюдение беше протеинурията – количествено за 24 часа. При изследването и проследяването и по време на периода за наблюдение ние установихме сигнификантно понижение в наблюдаваната група при пациентите, при които МФ се включва по-късно като заместване на азатиоприна. Шест месеца след началото на приложение на микофенолат протеинурията намалява от средна стойност за изследваните пациенти  $1.6 \pm 0.6$  г/24 часа на  $0.6 \pm 0.2$  г/24 часа ( $p < 0.01$ ). Промените в протеинурията са представени образно на фигурата:

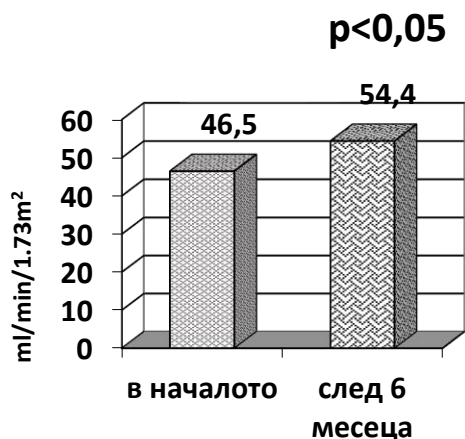
**Фиг. 11**. Промени в нивото на протеинурията.



Проследяването на промените в креатининовия клирънс на тези пациенти, при които МФ се включва като преминаване от азатиоприн, се характеризира с

повишение на нивото му респективно подобряване на бъбречната функция от  $46 \pm 5$  мл/мин/ $1.73 \text{ m}^2$  на  $54 \pm 4$  мл/мин/ $1.73 \text{ m}^2$  ( $p < 0.05$ ) след период от шест месеца след промяната. Тези резултати са представени на фигура 9:

**Фиг. 12** . Промяна в креатининовия клирънс.



Имайки предвид резултатите от проучванията и данните за промените в двата основни параметъра – протеинурия количествено за 24 ч. и клирънс на ендогенен креатинин, представляващи основни характеристики на функцията на бъбречния трансплантат, може да се направи извода, че основният положителен резултат е подобряване състоянието на бъбречната функция. Полученият резултат с понижение нивото на протеинурията е категоричен ефект, дължащ се основно на лечението с MMF и MC. Това потвърждава терапевтичния ефект на МФ върху протеинурията. Това всъщност се явява едно от важните показания за приложението на микофенолата наред с понижаване честотата на ОРО.

С не по-малко значение като резултат от лечението на МФ, е подобрението на бъбречната функция, изразено с повишаването на креатининовия клирънс.

Има много проучвания, които доказват благоприятният ефект от приложението на МФ като елемент от имunosупресивната терапия при бъбречно трансплантирани пациенти. Най-важният ефект е, че той намалява честотата на остроото отхвърляне през първата и следващите години след трансплантацията в сравнение с имunosупресия, която не включва МФ. Това е категоричен благоприятен ефект, който позитивно повлиява като удължава пре-живяемостта

на бъбречния трансплантат. Последното е основна и непрекъсната цел на всяка трансплантация.

#### **2.4. ИЗВОДИ**

От направените изследвания и получените резултати могат да се направят следните основни изводи:

- 1.Лечението с МФ води до значимо редуциране честотата на остро отхвърляне –  $p < 0,05$ .
- 2.Лечението с МФ води до статистически достоверно намаление на протеинурия –  $p < 0,01$ .

### 3. ЗНАЧИМОСТ ЗА ЧЕСТОТАТА НА ОСТРИТЕ РЕАКЦИИ НА ОТХВЪРЛЯНЕ НА ПРИЛОЖЕНИЕТО НА ТАКРОЛИМУС.

Циклоспорин А (ЦА) и такролимус (ТАК) са мощни имunosупресивни медикаменти, широко използвани за намаляване на честотата на кризите на остро отхвърляне след органна трансплантация. Те потискат калциневриновата активност и калций зависимата Т-клетъчна активация, имат идентични клетъчни и молекулни механизми, въпреки разликата в структурата им. Интерес представляват редица нови проучвания, които показват разликите в ефикасността и механизмите на действие между ЦА и такролимус. /7,10,15/

Двата медикамента принадлежат към семейството на имунофилин свързаните лекарства, всяко едно от които се свързва със специфичен имунофилин. Лекарство-имунофилиновият комплекс се свързва към калций /калмодулин зависима фосфатаза - калциневрин, водещ до инхибиция на активацията и ядрената транслокация на нуклеарни фактори на активирани Т-клетки /NF-AT/ и последваща интерлевкин-2 /IL-2 / гена транскрипция.

Данни от проучвания представят нови доказателства от експериментален характер, както и данни от клинични наблюдения, които ясно показват, че имunosупресивните ефекти на тези два медикамента не са еднакви и, че такролимус индуцираната имunosупресия не се дължи изключително на прекъсването на NF-AT път. Такролимус отчасти въздейства върху други механизми на Т-клетъчната активация - блокиране на експресията на цитокинови рецептори и цитокиновото въздействие върху таргетните клетки. Различията между супресивните ефекти на ЦА и такролимус са добре демонстрирани от данните на проучвания, че такролимус, но не и ЦА, блокира продукцията на IL-5 от човешки CD4+ Т-клетки, индуцирана от IL-2, както и клетъчната пролиферация, стимулирана от IL-2 и IL-7. ЦА има подобен на такролимус ефект върху цитокиновата продукция, но недостатъчен ефект върху цитокин стимулираната клетъчна активация. Такролимус е също отговорен за инхибиране на експресията на високочувствителния рецептор на IL-7, за разлика от ЦА, който не е ефективен върху този рецептор. В заключение, може да се посочи, че такролимус е по-ефективен от ЦА в

понижаване честотата на IL-2 индуцираната Т-клетъчна продукция при бъбречно трансплантирани пациенти със стабилна функция на присадката. Доказва се, че ЦА, но не и такролимус, инхибира експресията на NO синтеза, което причинява хипертония и нефротоксичност, което е добре установено при продължително прилагане на ЦА.

Противоположно на ЦА, такролимус въздейства посттранскрипционно и инхибира отговора към цитокини, най-вероятно чрез модулиране на експресията на техните високо чувствителни рецептори и/или чрез прекъсване на сигналите през рецепторите на цитокините. Точните таргетни посттранскрипционни въздействия на такролимус се нуждаят от допълнителни проучвания.

Въпреки, че главният компонент на имunosупресивния ефект на двата медикамента се смята антагонизма към активността на калциневрина, очевидно е, че такролимус инхибира етапите дистално от калциневриновата активация в Т-клетъчната активираща система. Това е доказано с демонстрация на монотерапия с такролимус и възможността да се възвърнат стероидно резистентни епизоди на кризи на отхвърляне на присадката. Това е много важна разлика между такролимус и ЦА, последният от които е неефективен в лечението при тези реакции на отхвърляне.

Приложението на нови имunosупресори в бъбречната трансплантация има за цел подобряване на функцията и удължаване преживяемостта на трансплантата, както и намаляване на страничните ефекти на медикаментите, основно на тяхната нефротоксичност. Такъв имunosупресор е такролимус. Показан е за превенция и лечение на отхвърляне при органна трансплантация в комбинация с имunosупресори от други групи.

Такролимус има макролидна структура, по механизъм на действие е имunosупресор от групата на калциневриновите инхибитори. Неговият дял в Европа сред имunosупресорите от тази група е около две трети т.е той е достатъчно проучен и доказан в клинично отношение. За първи път е изолиран през 1984г от *Streptomyces tsukubaensis* в Япония и е наречен FK 506. Той действа чрез инхибиране на калциневрина - регулаторен протеин, който дефосфорилира и активира нуклеарния фактор на активните Т-клетки, последващо блокиране синтеза на интерлевкин-2 /IL-2/ от Т-хелперните

клетки. Има доказана по-добра протекция по отношение на остро отхвърляне и епизодите на хронично отхвърляне, както и подобрена преживяемост на графта в сравнение с циклоспорин А. Такролимус, но не и циклоспорин А инхибира IL-2 индуцираната IL-5 продукция от CD4+ T-клетките, T-клетъчната пролиферация, стимулирана от IL-2 и IL-7, както и експресията на IL-7 рецептора.

Терапевтичният режим на такролимус се осъществява на базата на мониторинг на кръвното му ниво. Има много клинични проучвания, които доказват възможността за постигане на ефективна имunosупресия при пониски кръвни нива респ. дози на медикамента и по този начин се минимизират страничните му ефекти.

Има проучвания, които демонстрират възможността на такролимус да осъществява антитромботичен ефект, като редуцира тромботичната агрегация, докато циклоспорин А има обратната характеристика - увеличава тромбоцитната агрегация. Това различие между двата медикамента посочва предимството на такролимус и възможността за превенция на алогографтната васкулопатия и атеросклерозата и стои в основата на съвременното приложение на такролимус при лечение на хронични гломерулопатии.

При бъбречно трансплантирани пациенти остеопатията, водеща до остеопороза, може да причини спонтанни фрактури с последващи имобилизации и да влоши качеството на живот на пациентите. Има достатъчно данни, че ЦА води до сериозна редукция или загуба на костно вещество. Клиничното приложение на такролимус е доказано свързано с пониска честота на инциденти, респ. загуба на костна тъкан в сравнение с ЦА. Тези данни потвърждават различния ефект на двата медикамента в полза на такролимус върху посттрансплантационната остеопения.

TGB- $\beta$  представлява мултифункционален цитокин, продуциран от много видове клетки, вкл. моноцити и лимфоцити, бъбречни тубулни клетки, съдови ендотелни клетки и епителни клетки на респираторните пътища. В ниски концентрации TGB- $\beta$  представлява хемиатрактант с проинфламаторни възможности, както и супресира лимфоцитната активация и по този начин проявява имunosупресивно действие. В по-високи концентрации TGB- $\beta$  предизвиква фиброза, чрез стимулиране на фибробластната миграция,

повишено отлагане на матрикс, инхибиране на матриксната деградация и стимулиране на клетъчната пролиферация. Множесво проведени проучвания показват, че ЦА повишава концентрацията на TGB- $\beta$ , докато такролимус не показва такова действие и ефект. Има доказателства, че такролимус потиска активирането на TGB- $\beta$  рецептор тип 1. В подкрепа на това е фактът, че при преминаване от ЦА на такролимус, експресията на TGB- $\beta$  рецептор тип 1 е сигнификантно редуцирана. Отличителният ефект на такролимус и ЦА върху TGB- $\beta$  се изразява в последващо развитие на фиброза и атеросклероза - причини за развитие на хронична алогографтна дисфункция.

Хроничното отхвърляне включва съдови и инфламаторни компоненти и в резултат настъпване на фиброза и облитерация на съдовия лумен. Инициалните промени при съдовите лезии ангажират съдовия ендотел в резултат на хуморални механизми – комплемент индуцирана лиза и/или отлагане на имунни комплекси, както и от директна клетъчно-медирана цитотоксичност. Тромбоцитите адхезират върху увредения ендотел и активират коагулационната каскада, освобождавайки растежен фактор, тромбокساني, левкотриени, които активират моноцити и макрофаги. Последните на ниво лезии повишават продукцията на цитокини, най-много на TNF  $\alpha$  и IL-1. Те нарушават структурата на съдовата стена, като водят до хипертрофия на интимата и медията. Увредените ендотелни клетки освобождават допълнително цитокини-инсулин свързан растежен фактор-1, фибробластен растежен фактор, IL-6 TGF- $\beta$ . Освобождаването на TGF- $\beta$  е есенциално различно при процесите на остро и хронично отхвърляне, резултиращо в нарушения на гладкомускулните клетки с развитие на облитерация на съдовия лумен и съдова атеросклероза.

Острото отхвърляне е доказан предиктор за по-късното развитие на хронично отхвърляне. Клиничните данни доказват, че такролимус осигурява ефективна профилактика на острото отхвърляне, вкл. от съдов произход и е асоцииран с редукция на неимунологични рискови фактори за развитие на хронично отхвърляне. В резултат на тези ефекти такролимус повлиява благоприятно преживяемостта на бъбречния трансплантат./23,26,43,28,35,37,4

### 3.1. ЦЕЛ

Целта на настоящото проучване е да се оцени значимостта за честотата на острите реакции на отхвърляне на приложението на Такролимус.

### 3.2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Проучени са 256 бъбречно трансплантирани пациенти на лечение с такролимус /Prograf, Advagraf/ при съотношение М:Ж -1,1:1, средна възраст  $41 \pm 6$  г. и средна продължителност на приложение на медикамента  $18 \pm 3$  месеца /минимум 6 месеца/. Съотношението според вида на донора - трупен:жив, е 1,2:1. Освен такролимус в имunosупресивните протоколи са включени още цитостатик и кортикостероид при всички пациенти в обичайните им дози. Дозирането на такролимус се осъществява на база мониторинг на кръвното му ниво. Пациентите са разделени на две групи: група А, включваща 116 пациенти с приложение на такролимус от самата трансплантация и група Б, включваща 140 пациенти на първично лечение с ЦА. При 96 пациенти от група Б е осъществено преминаване на такролимус от предшестващо лечение с ЦА по повод на необходимост от понижение на дозата на ЦА, свързано с риск от ЦА-интоксикация, което води до повишен риск от развитие на реакция на отхвърляне. Основни критерии за промените в бъбречната функция са серумният креатинин, креатининов клирънс и степента на протеинурията.

Използвани са допълнителни показатели от лабораторни изследвания на кръв и урина, както и от инструментални, имунологични и клинични изследвания за оценка на функцията на бъбречния трансплантат, както и на другите органи - черен дроб, бял дроб, сърце.

Данните от резултатите са обработени статистически на персонален компютър при използване на програмите Excel и Word.

**Таблица 17.** Основни характеристики на изследваните пациенти.

Брой пациенти на лечение с ТАК	М:Ж	ВЪЗРАСТ /ГОД/	ТРУПЕН/ЖИВ ДОНОР	ВРЕМЕ НА НАБЛЮДЕНИЕ /МЕС./
256	1,1:1	41±6	1,2:1	18±3

**Таблица18.**Разпределение на пациентите.

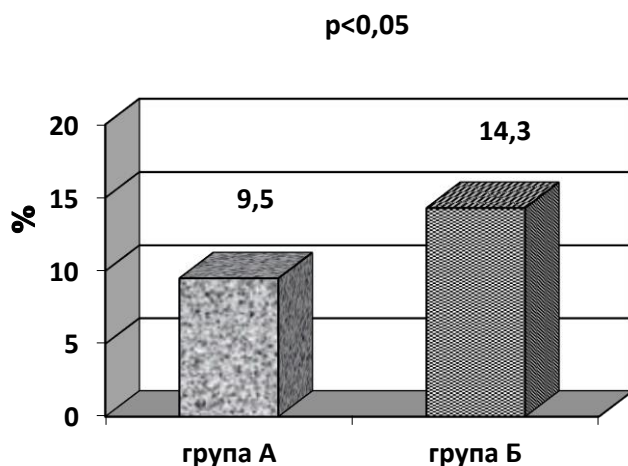
Групи	А-ТАК от началото на БТ	В-първично с ЦА
Брой пациенти	116	140 96 преминали на ТАК

### 3.РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Резултатите от проведеното проучване показват, че в група А са установени 11 случая на остро отхвърляне – 9,5%. При пациентите от тази група е определена средна стойност на серумния креатинин  $112 \pm 11 \mu\text{mol/l}$  на третия месец от трансплантацията. Той се запазва от същия порядък в края на наблюдението т.е. средно след  $10 \pm 2$  месеца -  $116 \pm 14 \mu\text{mol/l}$  (p-n.s). Протеинурията остава с много ниска средна стойност -  $<0,55 \text{ g/24ч.}$  за целия период на наблюдение и без сериозни флуктуации (p-n.s.).

В група Б се доказва ОРО при 20 пациенти – 14,3%. В тази група се установява тенденция към подобрение на бъбречната функция при преминаване на такролимус – серумен креатинин  $154 \pm 12 \mu\text{mol/l}$  на третия месец след промяната на медикамента при средна стойност на креатинина преди промяната на ЦА от  $161 \pm 12 \mu\text{mol/l}$  -  $p < 0,05$ . Резултатите за честотата на ОО са представени на фигура 13:

**Фиг13** .Честота на ОРО в двете групи.

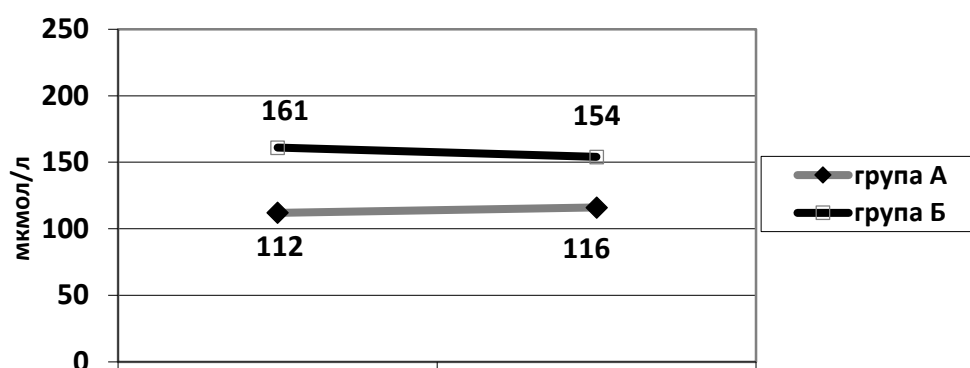


Резултатите  
относно

честотата на ОРО в двете групи показват статистически достоверна разлика в полза на групата на лечение с такролимус. Това е категорична подкрепа на подобря терапевтичен ефект, свързан с приложение на такролимус.

Резултатите характеризиращи състоянието на бъбречната функция – в група А на 3-я и 10-я месец, в група Б – преди замяна на ЦА с такролимус и на 10-я месец след това, показват стабилност на функцията в група А и лека подобрение на функцията в група Б. Тези промените на функцията в двете групи, изразени по средни стойности на серумния креатинин са представени на следващата фигура:

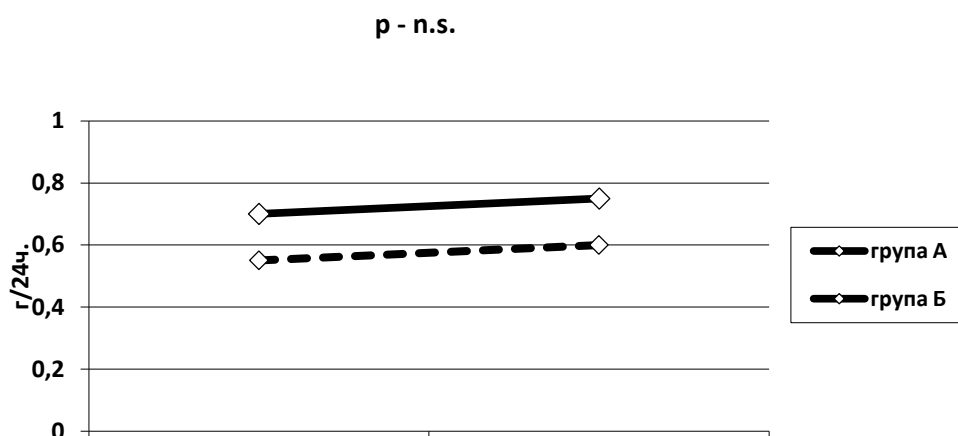
**Фиг. 14.** Промени на серумния креатинин в двете групи.



Резултатите по отношение на промените във функцията на трансплантата доказват стабилност на функцията при имunosупресивното лечение с такролимус в група А. В група Б има промяна на серумния креатинин в посока на понижение без това да има статистическа значимост.

Характеристиката на промените в бъбречната функция се подкрепя и от данните за протеинурията при проучените групи пациенти. Те са представени на фигура №:15.

**Фиг. 15** .Промени в нивото на протеинурията в двете групи пациенти.



Използването на такролимус като първична индукция е свързано с по-ниска честота на ОРО в сравнение с имunosупресия без такролимус. След преминаване на лечение с такролимус в резултат на замяната на ЦА, бъбречната функция се подобрява, изразено с намаляване на серумния креатинин. В края на наблюдението стойностите на серумния креатинин се стабилизират на по-ниски нива независимо от липсата на статистическа достоверност. Промените на протеинурията са в подкрепа на горепосочните промени. Тези резултати доказват терапевтичния ефект на такролимус.

### **3.4.ИЗВОДИ**

В резултат на проведеното лечение и наблюдение върху използване на такролимус при бъбречно трансплантирани пациенти могат да бъдат направени следните изводи:

1. Такролимус е по-ефективен по отношение превенцията на остро отхвърляне след бъбречна трансплантация в сравнение с циклоспорин А.
2. Лечението с такролимус постига стабилна бъбречна функция при заместване на циклоспорин А в резултат на установени рискове от циклоспоринова интоксикация или повишен риск за отхвърляне при

необходимост от намаляване дозата на ЦА поради калциевринова токсичност.

3. Лечението с такролимус постига стабилност на протеинурията при бъбречно трансплантирани пациенти водещо до стабилност на бъбречната функция.

#### **4.ОПРЕДЕЛЯНЕ ЗНАЧИМОСТТА ЗА ЧЕСТОТАТА НА ОСТРИТЕ РЕАКЦИИ НА ОТХВЪРЛЯНЕ НА m-TOR-ИНХИБИТОРИ.**

Големите успехите в областта на органната трансплантация през последните две десетилетия се дължат преди всичко на постиженията в имunosупресивната терапия. Това доведе до значително удължаване преживяемостта на транспланта и на пациента. Успоредно с това мощната имunosупресия е важна причина за повишаване честотата на някои усложнения при пациентите с органна трансплантация, а именно инфекциите и малигнените заболявания. В резултат на това се наложи необходимостта от въвеждане в клиничната практика на нови имunosупресивни агенти с редуцирани странични действия и в същото време оптимален имunosупресивен ефект. В този аспект значителен успех е въвеждането на m-TOR инхибитори. Те са Sirolimus (СИР) и Everolimus (ЕВЕ) в бъбречната трансплантация. Първите клинични проучвания с m-TOR инхибитори при бъбречнотрансплантирани пациенти са направени през 1996 г. със СИР.

СИР е показан за профилактика на ОРО при бъбречно трансплантирани пациенти с нисък и умерен имунологичен риск. По кратка характеристика се препоръчва се СИР да бъде използван инициално в комбинация с ЦА и КС за два до три месеца, след което може да бъде продължен като поддържаща терапия само с КС при прогресивно спиране на ЦА. СИР е индициран за ранно елиминиране ЦА т. е. елиминиране на нефротоксичните имunosупресори с оглед предпазване на трансплнтата от токсичност.

СИР влияе върху имунния отговор като възпрепятства пострецепторните IL-2 сигнали, което води до блокиране на Т-клетъчния цикъл при фаза G<sub>1</sub> към фаза S и по този начин инхибира Т-клетъч-ната пролиферация. Той блокира както IL-2 рецепторите, така и IL-4 и IL-6 рецепторите.

Има много данни от клиничното приложение на СИР върху неговата ефективност. Резултатите от клиничните проучвания за СИР в комбинация с други имunosупресори без ЦА показват сигнификантно по-добра функция на присадката, отколкото при използването на ЦА в комбинация с други имunosупресори. Направени са проучвания върху възможността за спиране на ЦА от комбинацията СИР/ЦА/КС, използвана в ранния постоперативен период.

При едно проучване са изследвани са 525 бъбречно трансплантирани пациенти като при анализ на бъбречната функция за повече от 24 месеца, определена чрез серумен креатинин, при пациенти на имunosупресия със СИР без ЦА и пациенти с ЦА без СИР се установява сигнификантна разлика в полза на тези с СИР. Пациентите, на лечение със СИР имат статистически достоверен по-нисък риск и честота на хипертензивни инциденти (хипертонични кризи), отколкото лекуваните с ЦА - 30% при лечение със СИР срещу 48% при лечение с ЦА –  $p < 0.05$ .

Има значимо проучване, при което е осъществено сравняване на резултатите от лечението със СИР с тези при лечението с АЗА за 6 и 12 месеца конкретизирано за честота на ОРО и състояние на бъбречна функция. Резултатите са статистически по-добри при пациентите на лечение със СИР.

Чест страничен ефект при лечение със СИР е тромбоцитопения, както хипертриглицеридемията и хиперхолестеролемията включително и протеинурия. Поседният е особено важен от нефрологична гледна точка и оказва влияние върху функцията на трансплантата. Те са наблюдавани основно в началния период, когато се прилагат по-високи дози СИР. Установена е по-висока честота на инфекции на белите дробове (пневмонии) при лечението със СИР, а в същото време цитомегаловирусните инфекции на дихателните пътища са по-чести при лечението с ЦА.

Особено важен резултат от приложението на СИР, съобщен от клинични проучвания за последните три-пет години, е намаляването на честотата на малигнените заболявания при трансплантирани пациенти. Това определя изключителната значимост на СИР - неговото противотуморно действие. Има клинични проучвания, които посочват наличието на супресивен ефект на СИР върху рецепторите на туморните растежни фактори, както и данни за това, че той блокира туморната прогресия т.е. проявява антитуморна активност, свързана с потискане на m-TOR молекулите.

Друг важен резултат от последните няколко години е използването на СИР за успешно лечение на рефрактерен нефрозен синдром, особено при деца.

Около пет години по-късно от иницирането на имunosупресивната терапия с m-TOR инхибитори в лицето на СИР се въведе в клиничната практика на бъбречната трансплантация нов m-TOR инхибитор – еверолимус (ЕВЕ). На

практика той притежава същите характеристики и показания за терапевтично приложение както СИР. Има едно по-изразено и по-добре представено от клиничните проучвания действие – изразен ефект от инхибиция на пролиферативните сигнали и свързано с това ремоделиране на съдовите промени. Това оказва допълнителен положителен ефект върху функцията на бъбречния трансплантат и респективно неговата преживяемост./7,10,15,184,254/

#### **4.1.ЦЕЛ**

Целта на проучването е да се характеризира ефекта от приложението на m-TOR инхибиторите върху честотата на остри реакции на отхвърляне при бъбречно трансплантирани пациенти.

#### **4.2.МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ**

В проучването са включени 128 бъбречно трансплантирани пациенти, наблюдавани и лекувани в Клиниката по нефрология и трансплантация. От тях 76 са на лечение със СИР и 52 с ЕВЕ. При използване на m-TOR инхибитори са използвани следните основни показания: първична индукция, наличие на токсичност при лечение с калциневринови инхибитори, превенция на посттрансплантационни злокачествени заболявания. Пациентите са наблюдавани за поява на остри реакции на отхвърляне след иницирането на терапия с m-TOR инхибитори. Нейното доказване се осъществява на база клинични и особено лабораторни данни - рязко покачване на стойностите на серумния креатинин на фона на стабилни такива в предходния период с над 15%. В подкрепа на ОРО са данните от конвенционалната и особено Doppler ехографията - промяна в дебелината на паренхима, ехогенността на паренхима, резистентния и пулсативен индекси. Най-точното диагностициране с възможност за ясна прогноза и правилен подход при лечението е биопсията на трансплантирания бъбрек. Епизодите на реакция на отхвърляне са наблюдавани основно през първата година след трансплантация, но и в по-късен период, когато се касае за първо увеличаване на серумния креатинин, особено с наличие на поява на алоантитела.

Имуносупресивните медикаменти са приемани в дози според кратките им характеристики. Терапевтичните дози са определяни и наблюдавани на база системно мониториране на кръвното им ниво с таргетни стойности от 4 до 12

нг/мл. m-TOR инхибиторите са

прилагани най-често в комбинация с микофенолат (ММФ, МС), както и кортикостероид.

При лечението са проследявани основни параметри за бъбречна функция – клирънс на ендogenous креатинин (24 часов или изчислен по уравнение - MDRD), серумен креатинин, урея, пикочна киселина, общ белтък, албумин, електролити, кръвна картина, кръвна захар, чернодробни показатели, холестерол, трилицериди, протеинурия, микробиология на урина.

Основните характеристики на пациентите от изследваната група са представени на следната таблица 19:

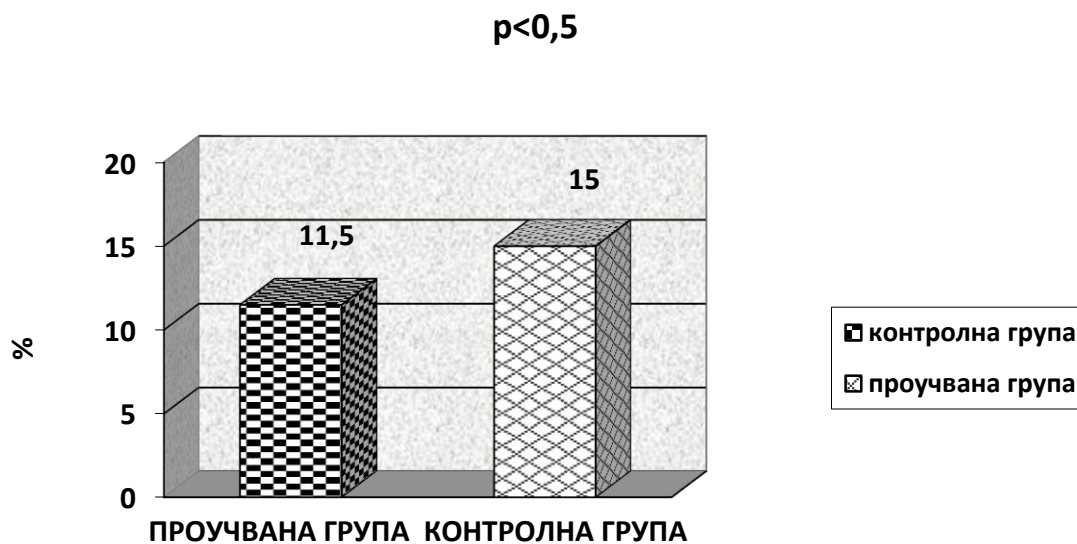
**Табл. 19.** Основни характеристики на изследваните пациенти.

<b>n</b>	<b>М : Ж</b>	<b>възраст (год.)</b>	<b>жив/трупен</b>	<b>време на наблюдение (месеци)</b>
<b>76</b> <b>СИР</b>	<b>1 : 1,1</b>	<b>39±7</b>	<b>1,1 :1</b>	<b>39±8</b>
<b>52</b> <b>ЕВЕ</b>	<b>1 : 1,1</b>	<b>44.±9</b>	<b>1.2 :1</b>	<b>21±10</b>

#### **4.3.РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ**

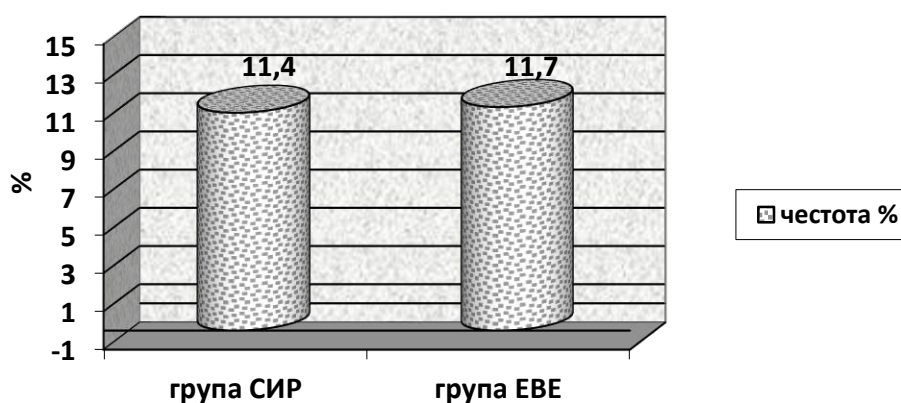
Средната продължителност на наблюдението на групата пациенти на терапия със СИР е достатъчно дълга – над три години, за да може да бъде обхванат епизод на отхвърляне и в по-късен етап на това лечение. Същото може да се установи и за групата на лечение с ЕВЕ – приблизително две години. Данните за честотата на ОРО в групата пациенти на лечение с m-TOR инхибитори показват честота 11,5% при честота в останалата популация, която няма в имunosупресията си m-TOR инхибитори – 15%. Данните са представени образна на следната графика :

**Фиг.16.** Честота на ОРО в групата на лечение с m-TOR инхибитори .



Резултатите не показаха значима разлика в честотата на ОРО между двете подгрупи – на лечение със СИР и на лечение с ЕВЕ. Данните са представени на фигура 17 :

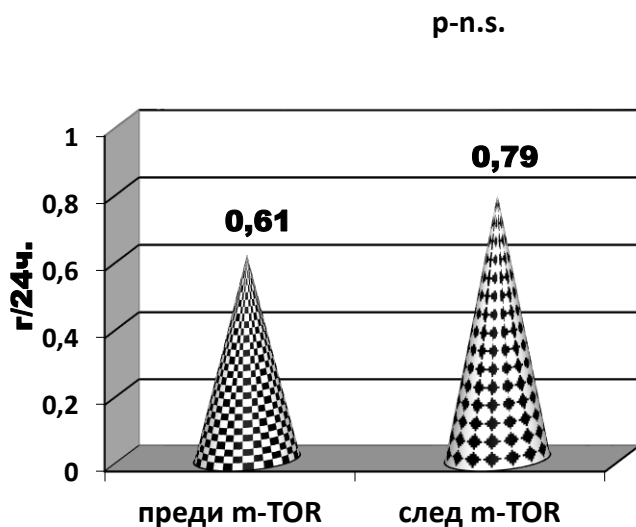
**Фиг.17 .** Честота на ОРО в двете подгрупи.



Данните относно честотата на ОРО при бъбречно трансплантирани пациенти на лечение с m-TOR инхибитори доказват ефективността на терапията изразена с по-ниската честота на острите реакции в сравнение с общата група включително и много добър резултат по отношение на странични ефекти.

Обект на наблюдение при всички пациенти на лечение с m-TOR инхибитори е протеинурията. Промените в средното ниво на протеинурията за 24 часа са особено значими поради факта, че протеинурията е много точен показател за състоянието на бъбречния трансплантат и има особено голямо значение за неговата прогноза. Промяната в протеинурията се изразява в леко повишение на същата по средна стойност в сравнение с нивото на протеинурията преди започване на терапията с m-TOR инхибитори за пациентите с по-късна инициация на терапия с m-TOR инхибитори (общо 81 пациенти) т.е. без статистическа достоверност. Необходимо е обаче да се разгледат по-подробно промените при отделните пациенти. При малко на брой пациенти – шест, се получава протеинурия без да е била налична преди това, която обаче е значима – над 1 г/24 часа. При десет наличната протеинурия се повишава леко без статистическа достоверност, при четирима протеинурията преустановява. Промените в нивата на протеинурията са представени обазно на графика :

**Фиг18.** Промяна в протеинурията.



Промяната в нивото на триглицеридите в началото и края на проучвания период не дава статистическа достоверност – те остават леко по-високи от изходните преди започване на лечение с m-TOR инхибитори. Повишението е без статистическа значимост. Това потвърждава наличието на странични ефекти на m-TOR инхибиторите и задължителното съобразяване с тях. Практически това означава и необходимост от прилагането на допълнителна терапия.

При проследяване на броя на томбоцитите се установява, че той показва тенденция към понижениe, въпреки че те остават в границите на нормата.

При проучваната група пациенти не са наблюдавани значими странични ефекти на m-TOR инхибиторите, които да доведат до тяхното преустановяване.

Постиженията в последните години в областта на органната трансплантация са значително свързани с приложението на нови съвременни имunosупресивни средства - m-TOR инхибитори. Крайна цел на тази тенденция е постигане на по-голяма преживяемост на трансплантирания орган респективно на пациента в съчетание с по-малко странични ефекти от лечението. Голяма предимство на новата имunosупресия с m-TOR инхибитори се изразява в това, че те не притежават нефротоксичен ефект и в същото време запазват добра имunosупресивна активност. По този начин се избягва една значима причина за развитието на хронична нефропатия на трансплантата – хроничната калциневринова нефротоксичност. Най-значимият ефект от приложението на m-TOR инхибитори е достатъчният имunosупресивен ефект – честотата на ОРО остава по-ниска. Това са два важни резултата, които имат голямо значение - удължават преживяемостта на трансплантата и респективно на пациента.

#### **4.4.ИЗВОДИ**

Въз основа на проведените за пръв път у нас изследвания и получените резултати от приложението на m-TOR инхибитори при бъбречно трансплантирани пациенти могат да се направят следните основни изводи:

1. m-TOR инхибиторите могат да се използват успешно като ефективна имunosупресия, която намалява честотата на ОРО.
2. Приложението на m-TOR инхибитори не е свързано с поява на значими странични ефекти, които да налагат неговото преустановяване.

## **5.ЗНАЧИМОСТ ЗА ЧЕСТОТАТА НА ОСТРИТЕ РЕАКЦИИ НА ОТХВЪРЛЯНЕ НА ПРИЛОЖЕНИЕТО НА ПОЛИКЛОНАЛНИ И МОНОКЛОНАЛНИ АНТИТЕЛА.**

### **5.1. ПОЛИКЛОНАЛНИ АНТИТЕЛА.**

Поликлоналните антитела се използват широко в органната трансплантация. Лечението с поликлонални антитела в клиничната практика при пациенти с органна трансплантация поставя нови възможности в имunosупресията. С тяхното приложение се свързва значимо намаляване на честотата на ОРО, дължащо се на техните значителни терапевтични възможности особено при пациентите с повишен имунологичен риск. Първите използвани поликлонални антитела съдържат антитела срещу повърхностните CD2, CD3, CD4, CD8, CD11, CD18, CD25, CD30, CD35, CD40, CD80, както и други антигени на Т-лимфоцитите, както и към HLA class I, HLA DR. Те оказват ефект върху адхезията и клетъчното придвижване на CD11 $\alpha$ /CD18 (LFA-1), CD49/CD29 (VLA-4), CD50(ICAM-3), CD54 (ICAM-1), CD102(ICAM-1), CD184(CXCR4) $\rho$ , както и върху много други антигени и различни пътища на имунния отговор при органна трансплантация. Поликлоналните антитела водят до ефективно изчерпване на таргентните клетки с настъпващи функционални промени в същите клетки чрез потискане на пролиферацията им. Тези промени се осъществяват посредством комплемент зависимо лизиране, опсонизация и фагоцитоза от макрофаги, антитяло замисима Т-клетъчно медирана цитотоксичност (апоптоза) и имуномодулация.

В бъбречната трансплантация за първи път е използван като поликлонално антитяло антилимфоцитен глобулин (АЛГ) от конски серум през 1974г., а от 1985г. се използва антитимоцитен глобулин (АТГ) от заешки серум. Поликлоналните антитела имат две основни показания на приложение: индуктивно като първична и вторична индукция и терапевтично при лечението на остро или обострено хронично отхвърляне. Ефектът от приложението на поликлонални антитела се изразява в редуциране честотата на ОРО и удължаване на преживяемостта на трансплантата. Този резултат е особено изразено при пациенти с повишен риск. Едно ранно за трансплантологията клинично проучване с 278 бъбречно трансплантирани пациенти демонстрира петгодишна преживяемост без епизоди на остро отхвърляне от порядъка на 73%

срещу 33% при пациенти без лечение с поликлонални антитела ( $p < 0.001$ ), както и преживяемост на трансплантата от 77% срещу 55% ( $p < 0.047$ ). Резултатите са неуспорими в подкрепа на приложението на поликлонални антитела като допълнена терапия към основната поддържаща имunosупресия. При използването на антиядробазирани терапия е много важно да се познават и идентифицират възможните странични ефекти. Те са значими и са два основни вида - може да са свързани непосредствено с приложението на препарата и да окажат лимитиращо влияние върху лечението или късно настъпващи ефекти. Към първите се отнасят пирексии, фебрилитет, артралгии, инфекции, левкопении, тромбоцитопении. Към втория вид се отнасят повишения риск от инфекции и по-чести случаи на малигнени заболявания, особено лимфопролиферативни. /7,10,15,179,271/

#### **5.1.1. ЦЕЛ**

Целта на проучването е да се проследи ефекта от индуктивното лечение с поликлонални и моноклонални антитела върху честотата на острите реакции на отхвърляне и състоянието на бъбречната функция при бъбречно трансплантирани пациенти.

#### **5.1.2. ИНДУКТИВНА ТЕРАПИЯ С ПОЛИКЛОНАЛНИ АНТИТЕЛА**

##### **МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ**

В проучването са включени 27 бъбречно трансплантирани пациенти – 12 мъже и 15 жени на средна възраст  $41 \pm 6$  г. При тях е прилаган Thymoglobuline (заешки античовешки тимоцитен имуноглобулин). Той е използван като първична индукция при 22 болни, за късна индукция е прилаган при 5 болни. Дозата на приложение на препарата за профилактика т. е. индуктивно е 1.5 – 2.0 мг/кг т.т. дневно в продължение на 5 до 15 дни. Целта на лечението е да се постигне абсолютен брой на лимфоцити от 0.3 до  $0.7 \cdot 10^9/l$ . Срокът на наблюдение на пациентите с проведена такава терапия е от 3 месеца до 4 години в зависимост от вида на индукцията – първична или вторична.

За целта на изследването е направено проспективно и ретроспективно проучване на функцията на трансплантата при използване на креатининов клирънс, серумен креатинин и протеинурия. Терапията с тимоглобулин е

проследявана и контролирана чрез ежедневно изследване на абсолютен брой на левкоцити, тромбоцити, лимфоцити, еритроцити, както и имунен статус - клетъчен и хуморален, преди и в края на лечението. Данните са обработени чрез алтарнативен, вариационен и карелационен анализи.

### 5.1.3.РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

При обследване на основното бъбречно заболяване, довело до бъбречна недостатъчност и необходимост от диализно лечение респ. бъбречна трансплантация при пациентите се установи следната характеристика: хроничен гломерулонефрит – при 12 болни, хроничен пиелонефрит – при 10 болни, диабетна нефропатия – при 4 болни и хипертензивна нефропатия – при 1 пациент.

При 20 болни лечението с тимоглобулин е по повод трансплантация от трупен донор, а при 7 – от жив донор.

Лечението с тимоглобуин е провеждано по следните причини:

Първична индукция:

- ☞ захарен диабет
- ☞ язвена болест
- ☞ повторна трансплантация
- ☞ по-ниска съвместимост по HLA система – под 50%
- ☞

Вторична индукция:

- ☞ при абсолютен брой на лимфоцити над  $3.5 \cdot 10^9$
- ☞ при наличие на алоантитела

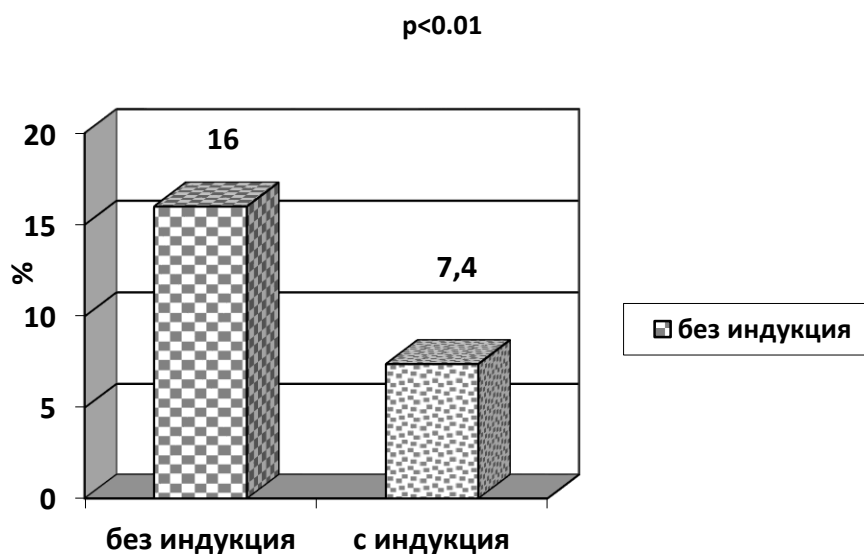
Средната продължителност на лечението е  $8 \pm 2$  дни.

Антитяло базираната терапия с тимоглобулин е провеждана успоредно с поддържащата терапия на пациентите.

При пациентите на първична индукция с поликлонално антитяло е определена честотата на ОРО. За наличие на ОРО се приемат случаите с нарастване на серумния креатинин с над 15% от постигнатото стабилно и постоянно ниво при предшестващи контроли. Повишението на серумния

креатинин е за период не по-дълъг от един месец в продължение на първата година след трансплантацията и/или при данни от проведена ПББ по повод съмнение за ОРО. Направено е сравнение с честотата в общата популация на бъбречно трансплантираните при които не е използвана индукционна терапия с поликлонални или мноклонални антитела, която е 16%. От общо 27 бъбречно трансплантирани пациенти с проведена ранна индукционна терапия с поликлонално антитяло, проява на ОРО е наблюдавана при 2 души – 7,4%. Разликата между честотата в двете групи има статистическа достоверност –  $p < 0,01$ . Резултатите за честотата на ОРО е показана образно на следващата графика №:19.

**Фиг. 19.** Честота на ОРО в двете изследвани групи.



Резултатите от проведеното индукционно лечение на пациентите по отношение на серумен креатинин, креатининов клирънс, протеинурия и брой на левкоцити и лимфоцити е представен на таблица 19:

**Табл. 19.** Проследяване на основни параметри при лекуваните болни.

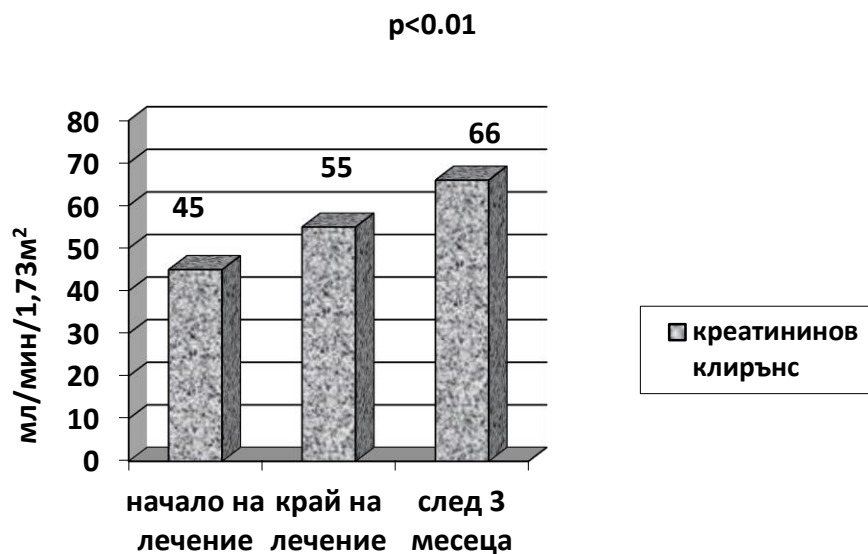
показатели	преди лечението	в края на лечението	три месеца след лечението
креатининов клирънс мл/мин.1.73 м2	45±7	45±10**	66±9**
серумен креатинин мкмол/л	195±22	154±14**	142±10*
протеинурия г/24 ч.	1.94±0.32	0.84±0.19**	0.39±0.11**
левкоцити .10 <sup>9</sup>	8.4±2.3	5.9±2.2**	6.2±2.1
лимфоцити .10 <sup>9</sup>	3.3±0.7	0.75±0.4**	0.81±0.29*

\* -  $p < 0.05$       \*\* -  $p < 0.01$

При тези основни параметри, проследявани в хода на проучването има сигнификантна разлика в промените при всеки един от тях. Понижението на серумния креатинин в края на лечението е значително и сигнификантно в сравнение с този в началото. Това понижение е налице като тенденция и в следващите три месеца след приключване на лечението. Този резултат потвърждава добрия т. е. таргетния ефект от проведената антилялобазирана терапия, както и извода, че е необходимо по-дълъг период на проследяване за постигане на оптималния резултат.

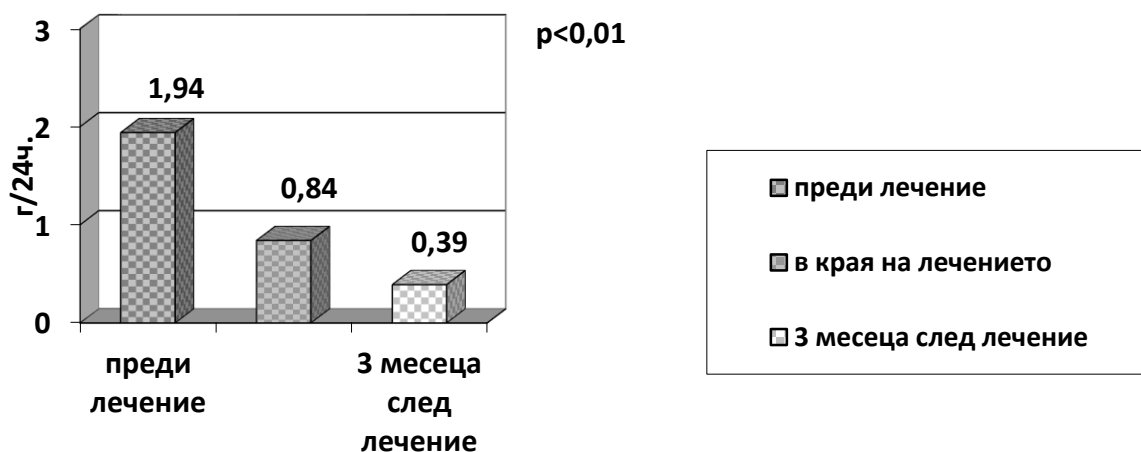
Еквивалентни промени се установяват и при проследяване на промените в креатининовия клирънс. Като много по-точен показател за бъбречната функция той показва истинските промени, изразени чрез непрекъснатата тенденция за увеличение и през следващите три месеца след лечението. Вероятно това се дължи на необходимостта от достатъчно дълго време за да се постигнат възстановителните процеси в бъбречните структури. Образно резултатите за промените на креатининовия клирънс са представени на фигура 20:

**Фиг. 20** . Промени в нивото на креатининовия клирънс.



Особено важно значение за характеризирание състоянието на функцията на трансплантирания бъбрек е изследването на протеинурията. При нейното проследяване се установи значителна редукция с голяма статистическа значимост –  $p < 0.01$ . Намаляването на протеинурията се доказва като продължителен процес. Продължаването на нейното понижаване три месеца след преустановяване на лечението потвърждава значимостта на ефекта от това лечение, както и необходимостта от продължително време след приложението на медикамента за постигане на оптимално подобрене. Промените в нивото на протеинурията са представени образно на фиг.21 :

**Фиг. 21** . Промяна в нивото на протеинурията при индукционно лечение с поликлонало антитяло.



Антитялобазираната индукционна терапия чрез приложение на поликлонално антитяло – тимоглобулин, постига много добър терапевтичен резултат, което се доказва от посочените резултати. В подкрепа на този терапевтичен ефект е още един важен резултат – за осъществен период на наблюдение относно странични ефекти от 3 месеца до 4 години не е установен нито един сериозен такъв от индуктивното приложение на тимоглобулина – анемия, посттрансплантационно лимфопролиферативно заболяване, поява или влошаване на вирусни инфекции – CMV, EBV и BKV. Наред с тези добри резултати се установиха и някои странични леки ефекти на лечението с тимоглобулин. Такива са втрисане и/или субфебрилитет и/или артралгии през първите три дни на курса на лечение. Това обичайно се свързва с първоначалното вливане на разтвора на антитялоо и отзвучава през следващите дни. Това е установено при 6 пациенти или при 22,2% като при всички е напълно преодоляно след третия ден. Може да се приеме като очаквано развитие през първите дни от лечението.

Като се имат пред вид постигнатите резултати може да се приеме, че индуктивното лечение с тимоглобулин постига оптимален и траен терапевтичен ефект като представлява много добра алтернатива на конвенционалното имunosупресивно поддържащо лечение с комбинации, чиято цел е превенция на ОРО. Това е дстатъчно основание лечението да се използва рутинно в клиничнта практика за профилактика на ОРО.

#### **5.1.4.ИЗВОДИ**

Въз основа на получените резултати в представеното изследване могат да се направят следните важни изводи:

1. При индуктивното антитяло базирано лечение с приложение на тимоглобулин се постигат оптимални резултати – статистически достоверно се намалява значимо честотата на ОРО в сравнение с тази в общата популация без такава терапия и не се допускат реакции на остро отхвърляне при рисковите пациенти.
2. При първично индуктивно приложение на тимоглобулин не се наблюдават сериозни страничните ефекти от лечението - анемия, посттрансплантационно лимфопролиферативно заболяване, поява или влошаване на вирусни инфекции – CMV, EBV и BKV

## 5.2.ИНДУКТИВНА ТЕРАПИЯ С МОНОКЛОНАЛНИ АНТИТЕЛА

Моноклоналните антитела се използват рутинно в клиничната практика при бъбречна трансплантация през последните две-три десетилетия. Изключение прави препаратът ОКТ-3, който се използва с по-голяма давност, но не се е наложил при бъбречната трансплантация. Основен представител на моноклоналните антитела е Daclizumab (Zenarax). Той е продукт на генно инженерство и представлява IgG<sub>1</sub> моноклонално антитяло, което се свързва със субструктури (p55, CD25) на интерлевкин-2 (IL-2) рецептора, експресиран от активирани човешки Т-лимфоцити. Daclizumab блокира свързването на IL-2 към високо афинитетния IL-2 рецептор и последващата активация. Това води до селективна инактивация и деструкция на алоантиген стимулираните лимфоцити. Daclizumab е показан за профилактика на ОРО при пациенти с БТ. Деветдесет процента от последователностите, изграждащи Daclizumab са човешки, което осигурява категорични предимства в сравнение с поликлоналните антитела – дълъг циркулиращ полуживот и значително редуцирана имуногенност.

Интересни данни могат да се видят при разглеждане на две широки проучвания за ефективността на Daclizumab имащи дизайн на мултицентрови, рандомизирани, двойно слепи, плацебо контролирани проучвания с категорични резултати за препарата. Едното проучване (А) сравнява Daclizumab в комбинация с тройна имunosупресивна терапия (ЦА, АЗА, КС) с приложение само на тройна имunosупресия при 260 пациента – 126 с приложение на Daclizumab и 134 без Zenarax. Второто проучване (В) сравнява Daclizumab плюс двойна имunosупресивна комбинация (ЦА и КС) с двойна имunosупресивна терапия само при 275 пациента, от които 141 с приложение на Daclizumab и 134 без Daclizumab. Лечението с Daclizumab сигнификантно редуцира броя на инцидентите с биопсично доказано ОРО през първите 6 месеца след БТ. При проучване А честотата на биопсично доказаната ОРО е 22% при лекуваните с Daclizumab пациенти срещу 35% при плацебо групата т. е. без Daclizumab ( $p=0.03$ ). В същото време при проучване В честотата е съответно 28% и 47% ( $p=0.001$ ). И друг категоричен резултат – средното време на поява на първото остро отхвърляне е по-дълго при пациентите на лечение с Daclizumab. От обобщението на резултатите в тези две проучвания се правят следните основни изводи:

Daclizumab намалява честотата на ОРО с над 40%, подобрява преживяемостта на трансплантата, редуцира нуждата от допълнително имunosупресивно лечение, намалява кумулативната доза на използваните КС, подобрява преживяемостта на пациента.

Друга възможност на антицелобазирания индукционна имunosупресия е Basiliximab (Simulect). Той е химерично (човек/мишка) моноклонално антицело, продуцирано чрез генетично построяване на вариабилна част от анти-CD25 моноклонално антицело /RFT5/ от морско свинче и постоянна част от човешки IgG тежки и леки вериги. RFT5 свързва специфично и с висок афинитет IL-2R $\alpha$  в активирани Т-клетки и е мощен инхибитор на IL-2-медираната Т-клетъчна пролиферация. Противоположно на това неактивните Т-клетки, които не произвеждат IL-2R $\alpha$ , са нечувствителни към Basiliximab.

За ефикасността и сигурността на Basiliximab са проведени две независими многоцентрови, рандомизирани, двойно слепи, плацебо контролирани проучвания в Европа/Канада и САЩ. Целта е била да се докаже ефекта от индуктивното лечение с Basiliximab върху честотата на епизоди на ОРО, загуба на трансплантата и смъртност при пациентите за 6 до 12 месеца след БТ. Това е осъществено при пациенти на двойна терапия - ЦА и КС и трансплантация от трупен донор. Европейско/Канадското изследване включва 380 пациенти, а това в САЩ - 346 пациенти. Резултатите показват по-малко епизоди на ОРО по време на първите 6 месеца след БТ. В Европа/Канада проучването има редуция на ОРО с 32%, а в САЩ проучването - 28%. Двете изследвания показват, че няма "rebound" ефект след 45-я ден. Проследяването за 12 месеца доказва запазване на същото намаляване на епизодите на ОРО за периода 6 до 12 месеца след БТ. Особено забележително е, че лечението със Basiliximab не повишава риска от CMV-инфекции. Инцидентите с CMV инфекции са били 14% в групата на лечение със Basiliximab срещу 18.5% в placebo групата. Няма сигнификантност на разликата между двете групи. Друг важен резултат представлява честотата на лимфопролиферативните заболявания след БТ. При лечение със Simulect такова заболяване е установено при 3 пациенти, а в placebo групата - при 2 т.е. без сигнификантна разлика в честотата

### 5.2.1.ЦЕЛ

Целта на проучването е да покаже ефекта от приложението на индуктивна терапия с моноклонални антитела върху честотата на острите реакции на отхвърляне при бъбречно трансплантирани пациенти.

### 5.2.2.МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

В проучването са включени 45 бъбречно трансплантирани пациенти при които е проведено първично индуктивно лечение с моноклонално антитяло - при 34 пациенти е приложен Basiliximab (Simulect) и при 11 - Daclizumab (Zenapax). Основните характеристики на пациентите са представени в следната таблица №20:

**Табл. 20.** Основни характеристики на проучените пациенти.

показатели	брой	възраст (год)	мъже : жени	донор трупен : жив
общо	45	38±7	1.1 : 1	1.6 : 1
Група Daclizumab	11	36±8	1.6 : 1	1.8 : 1
група Basiliximab	34	40±9	1.0 : 1.2	1.4 : 1

Проучването е проведено при бъбречно трансплантирани пациенти, лекувани с моноклонални антитела за период над 15 години, през което време са осъществени трансплантиациите и пациентите са наблюдавани по протокола на клиниката. Освен приложението на моноклонално антитяло е провеждана протоколната тройна имunosупресивна терапия с КС, цитостатик (ММФ или МС) и калциневринов инхибитор - ЦА или ТАК.

Приложението на моноклоналните антитела е осъществено при следните случаи на повишен риск:

- ☞ захарен диабет – поради лимитирано приложение на кортикостероиди
- ☞ язвена болест – поради лимитирано използване на кортикостероиди

- ∞ повторна трансплантация - поради повишен имунологичен риск
- ∞ по-ниска съвместимост по HLA система – под 50% - поради повишен имунологичен риск
- ∞ анамнеза за наличие на алоантитела в миналото – поради повишен имунологичен риск.

Приложението на Daclizumab е по кратката характеристика на продукта – по 1 мг/кг т.т. за една венозна апликация в курс на лечение от пет вливания на интервали от две седмици.

Приложението на Basiliximab е осъществено също по кратката характеристика на продукта – две венозни апликации по 20 мг непосредствено преди и на 5- ден след оперативната интервенция.

Бъбречната функция е наблюдавана чрез определяне на креатининов клирънс, серумен креатинин, серумна урея, урина и протеинурия. Провеждани са имунологични изследвания – имунен статус (клетъчен и хуморален).

При наблюдението на пациентите е използвана конвенционална и Doppler ехография.

Пациентите са наблюдавани за прояви на остра реакция на отхвърляне. Нейното доказване се осъществява на база клинични и особено лабораторни данни - рязко покачване на стойностите на серумния креатинин (на фона на стабилни такива в предходния период) с над 15%. В падкрепа на ОРО са данните от конвенционалната и особено Doppler ехографията (промяна в дебелината на паренхима, ехогенността на паренхима, резистентния и пулсативен индекси). Най-точното диагностициране с възможност за ясна прогноза и правилен подход при лечението е биопсията на трансплантирания бъбрек.

Пациентите са наблюдавани за прояви на инфекции – основно цитомегаловирусна инфекция, ВК инфекция, уроинфекции.

За характеризирание и съпоставимост на получените резултати е използвана като контролна група останалата популация от пациенти, при които не е прилагана индуктивна антитяло базирана терапия, не е имало повишен риск във връзка с БТ, провеждана е стандартна тройна имunosупресия – кортикостероид, цитостатик, калциневринов инхибитор, провеждано е еквивалентно наблюдение

### 5.2.3.РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

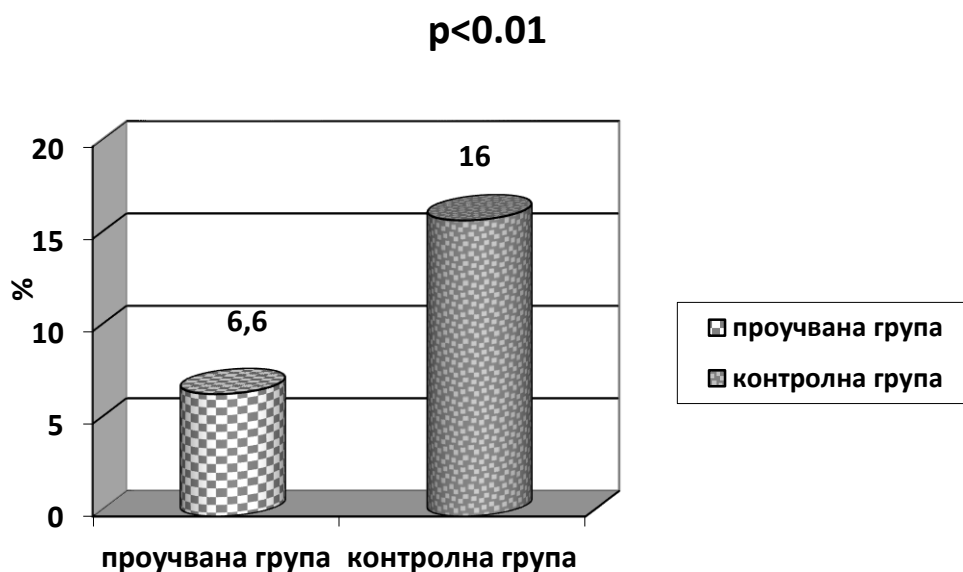
При обследване на проучваната група пациенти на лечение с моноклонално антитяло като индуктивна терапия са установени 3 реакции на ОРО – 1 при пациент на лечение с Daclizumab и 2 при пациенти на лечение с Basiliximab. Това означава 6,6% честота на ОРО на фона на антитялобазирана имunosупресия във връзка с наличие на повишен риск. При пациента с приложен Basiliximab ОРО е установена през 4-я месец след БТ. При пациентите с приложен Daclizumab остроото отхвърляне е било през 7-я и 12-я месец от трансплантацията.

В контролната група, където пациентите са били на стандартна тройна имunosупресия и без наличие на повишен риск във връзка с БТ, честотата на ОРО е 16%.

Диагностиката на ОРО в проучването се базира основно на лабораторните показатели в съчетание с ехографското изследване. При двама пациенти от тримата с ОРО е проведена ПББ. Тава е така във връзка с лимитиране на възможността за подготовка на взетия биопсичен материал в почивните дни.

Прави впечатление голямата разлика в честотата на ОРО в двете групи. Това е представено образно на следната фигура 22:

**Фиг.22** . Честота на ОРО в двете групи.



Всички пациенти от проучваната група има повишен риск във връзка с БТ, поради което е прилагана индукция с моноклонално антитяло. Въпреки повишения риск честотата на ОРО е значително по-ниска от тази в контролната група. Това може да се обясни с мощния и продължителен имunosупресивен ефект от приложението на моноклоналното антитяло. Наред с това се приема и факта, моноклоналното антитяло води до категорично значима редукция на честотата на ОРО потвърдено от получените резултати. При използването на Симулект остроото отхвърляне настъпва преди 6-я месец от БТ за разлика от случаите със Зенапакс – след 7-я месец. Тази разлика се обяснява със значително по-дългия активен период респективно действие на превенцията на Daclizumab – 10 седмици в сравнение с 4 седмици при Basiliximab. Описаните данни са по възможностите на цялата популация на бъбречно трансплантираните в България т. е. целият опит с моноклонални антитела.

За характеризирание на състоянието на бъбречната функция при двете групи е използван серумен креатинин на 12-я месец след трансплантацията

Между средната стойност на серумния креатинин в проучваната група –  $117 \pm 11$  мкмол/л и тази в контролната група –  $148 \pm 12$  мкмол/л е наице статистическа достоверност –  $p < 0.05$ . Това се обяснява напълно логично с добрия ефект от приложеното лечение с цел профилктика на реакциите на отхвърляне в двете групи, но по-добрият резултат е при проучваната група с приложена антитялобазирана индуктивна терапия с моноклонално антитяло.

В проучваната група обследването на случаи на инфекции – основно цитомегаловирусна и ВК инфекция, както и други респираторни инфекции, се установиха резултати, еднакви по честотата на същите инфекции в контролната група. Приложеното индукционно лечение с моноклонални антитела при пациенти с повишен риск във връзка с БТ показва постигане на много добра превенция на ОРО в сравнение с контролната група пациенти, които са без повишен риск за БТ. Това доказва значимостта от използването в рутинната клинична практика при бъбречнотрансплантирани пациенти на индукционната антирежекционна терапия.

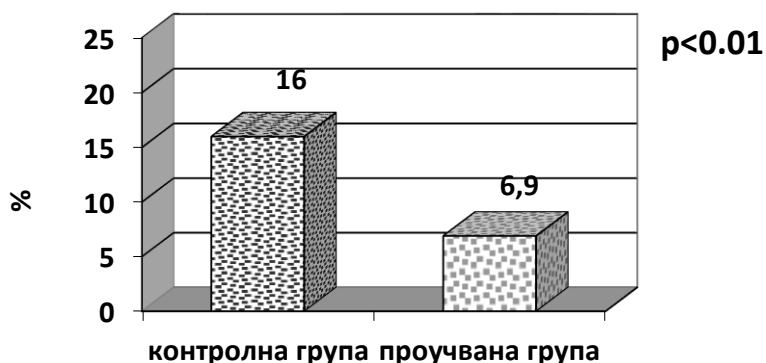
#### 5.2.4.ИЗВОДИ

При обобщаване на получените резултати от това проучване могат да са направят следните основни изводи:

1. Използването на моноклонални антитела като индукционна антирежекционна терапия при бъбречно трансплантирани пациенти води до ефективна превенция на острата реакция на отхвърляне и значимо редуциране на честотата и.
2. Приложението на моноклонални антитела не води до повишаване честотата на респираторни инфекции.

Приложението на антитяло базирана имуносупресия при бъбречна трансплантация осигурява значителни предимства на имуносупресията. При използването на поликлонални и моноклонални антитела при общо 72 бъбречно трансплантирани пациенти се доказва честота на ОР през първата година от трансплантацията 6,9%. При тази проучвана група пациенти индукционната антирежекционна терапия се прилага при пациенти с повишен риск за БТ. За сравнение на този резултат използвахме честотата на ОР в останалата популация от бъбречно трансплантирани пациенти без такава терапия, но и без повишен риск за БТ – 16%. Разликата има статистическа достоверност –  $p < 0.01$ , представена на следващата графика :

**Фиг. 23** . Честота на ОР в проучваната и контролната група бъбречно трансплантирани.



По отношение на появата на инфекции, свързани с антитяло базираната имуносупресия се установява ниска честота и сравнима с тази в контролната група.

Резултатите относно определяне ефекта на антитялобазираната имуносупресия върху честотата на ОРО ни дават основание да направим следните обобщени изводи:

1. При индуктивното приложение на поликлонални и моноклонални антитела се постига статистически значимо редуциране честотата на остро отхвърляне.
2. Индуктивното приложение на поликлонални и моноклонални антитела не е свързано с повишена поява на сериозни странични реакции – анемия, посттрансплантационни лимфопролиферативни заболявания, CMV, EBV, BK.

## **6. ЗНАЧИМОСТ ЗА ЧЕСТОТАТА НА ОСТРИТЕ РЕАКЦИИ НА ОТХВЪРЛЯНЕ НА РАЗЛИЧНИ ИМУНОСУПРЕСИВНИ КОМБИНАЦИИ.**

През последните десетилетия бъбречната трансплантация (БТ) се превърна в рутинен и широко използван метод за оптимално лечение на хронично бъбречно заболяване (ХБЗ-5 ст.). Постигнато е значително удължаване на преживяемостта на присадката и пациента, дължащо се на напредъка в областта на имунологията и имunosупресивната терапия. Независимо от постигнатите успехи и използването на съвременни имunosупресори, острата реакция на отхвърляне (ОРО) на трансплантата остава сериозна причина за намаляване на преживяемостта на трансплантирания бъбрек и пациента. Терапевтичните стратегии включват комбинации от няколко групи имunosупресори с различни механизми на действие и странични ефекти. Най-често това са кортикостероиди, антипролиферативни средства, калциневринови инхибитори. До 1995г. са използвани малък брой имunosупресори за поддържаща терапия след БТ. Те се свеждат до кортикостероид (КС), азатиоприн (АЗА) и циклоспорин А (ЦА). През последните 10 години се наблюдават значителни промени в използването на имunosупресивните медикаменти. Заедно с приложението на ЦА, все по-широко навлиза приложението на такролимус (ТАК), АЗА се измества от микофенолат (МФ), все по-често в имunosупресивните протоколи се включват mTOR-инхибитори, индукционна терапия с базиликсимаб, даклизумаб, антитимоцитен глобулин. Като обективен показател за адекватност на имunosупресивната терапия се използва измерването на кръвните нива на имunosупресорите. Ниските кръвни концентрации са съпроводени с нарастване на честотата на ОРО, докато високите кръвни нива водят до нефротоксичност, инфекциозни усложнения, развитие на неоплазми. Острите реакции на отхвърляне са най-чести през първите месеци след трансплантацията. В ранния посттрансплантационен период е необходимо бързо достигане на терапевтични кръвни концентрации на имunosупресорите за ефективна превенция на острото отхвърляне. Стратегията да се увеличи ефикасността на лекарството, като същевременно се сведе до минимум токсичността налага използване на

комбинации с отнемане, избягване или минимизиране на кортикостероидите или калциневриновите инхибитори ./7,10,15,214,232,245/

### **Кортикостероиди**

Кортикостероидите са компонент на поддържащата имunosупресия при БТ от 60-те години на миналия век. Те имат специфично имunosупресивно действие и неспецифично противовъзпалително действие. Нежеланите им ефекти - новопоявил се захарен диабет, хиперлипидемията, хипертонията, забавянето на растежа, ускорената костна загуба, наддаването на тегло, аваскуларната некроза, катаракта, кожни промени, депресия и други са добре проучени. През последното десетилетие използването на индукционни протоколи с лимфоцитно-изчерпващи агенти или IL-2 рецепторни антагонисти и употребата на по-нови имunosупресивни лекарства са наложили преразглеждането на употребата на стероиди като поддържаща имunosупресия. Приети са различни стратегии за намаляване на използването на КС - стероиди с ниска доза, стероиди на алтерниращ режим, ранно - в края на първата седмица след трансплантацията, и по-късно прекъсване на терапията с КС, неизползване на стероиди. В анни наши проучвания трансплантираните пациенти на поддържаща имunosупресия без КС са 8-12%. По-ранните проучвания са върху намаляване дозата на кортикостероида след третия месец от БТ на поддържаща терапия с АЗА или МФ и ЦА. Те установяват повишени нива на ОРО и намалена преживяемост на присадката. По-новите проучвания включват ранно прекъсване на КС през първата седмица след БТ. Те съобщават за леко увеличение на лесно обратими епизоди на ОРО, особено в ранния посттрансплантационен период и за значително редуциране на усложненията, свързани със стероиди. Не се установява влияние върху преживяемостта на пациента или присадката.

Минимизирането на дозата на КС или пълното им изключване от терапията се прилага само при нисък имунологичен риск, проведена индукционна терапия с антитимоцитен глобулин, базисна терапия с такролимус и микофенолат, стабилна функция на трансплантата, отсъствие на ранни епизоди на ОРО в първите три месеца след трансплантацията. Доказано е ,че оттеглянето на стероиди от терапията до края на първата седмица след

трансплантацията води до по-благоприятно съотношение риск-полза, отколкото по-късното изключване и пълното избягване на стероиди/253,273/.

### **Антипролиферативни средства.**

Практически във всички съвременни имunosупресивни протоколи се използва антипролиферативно средство. В сравнение с азатиоприн, МФ в по-висока степен намалява риска от ОРО и удължава дългосрочната преживяемост на трансплантата. Микофенолатът е заменил АЗА в имunosупресивните схеми в световен мащаб, като неговата по-добра антирежекционна активност е доказана в много проучвания.

Съвременните имunosупресивни схеми след БТ са свързани с много ниски стойности на ОРО през първата година и отлична 1г. преживяемост на присадката и пациента. Обикновено се наблюдава 1-годишно ниво на ОРО между 5 и 15% при терапия на базата на калциневринови инхибитори (КИ) и МФ. Описана е едногодишна преживяемост на пациентите и присадката до 90%. Тези имunosупресивни режими, основани на КНИ и МФ, обаче са свързани със значителни токсични ефекти и други нежелани реакции на медикаментите, като директна нефротоксичност, по-висока честота на сърдечно-съдови събития в сравнение с общата популация, по-висока честота на онкологични заболявания след трансплантация, както и висока честота на вирусни инфекции ./123,126,246,212/.

### **Калциневринови инхибитори**

В много проучвания е доказано преимуществото на ТАК като медикамент на първи избор при БТ, който в сравнение с ЦА в по-голяма степен намалява честотата на ОРО и повлиява положително дългосрочната преживяемост на присадката. Днес комбинацията ТАК и МФ се считат за по-ефективни от ЦА и ММФ. Важен момент в съвременните имunosупресивни стратегии е тенденцията за намаляване броя на пациентите на лечение с калциневринови инхибитори. Медикаментите от тази група (ЦА и ТАК) значително понижават честотата на ОРО, но са нефротоксични и са една от основните причини за хронична нефропатия на трансплантата. Нефротоксичността на КИ се проявява както като остра азотемия, която е до голяма степен обратима след намаляване на

дозата, или като хронично прогресиращо бъбречно заболяване, което обикновено е необратимо. Други бъбречни ефекти на инхибиторите на калциневрина са тубулна дисфункция и рядко хемолитичен уремичен синдром (ХУС), който може да доведе до остра загуба на присадка. Ткролимус има по-малка нефротоксичност при по-ниски дози. Рандомизирани клинични проучвания при пациенти с БТ съобщават за по-малко епизоди на ОРО при ТАК в сравнение с ЦА /23.29/.

### **мTOR инхибитори**

мTOR инхибиторите - сиролимус (СИР) и еверолимус (ЕВЕ) се използват за първи път в комбинация с ЦА през втората половина на 90-те години и през това време са довели до забележимо ниски нива на ОРО. Поради това, че КИ и мTOR-инхибиторите в пълни дози са свързани с редица странични ефекти включително, че мTOR инхибиторите повишават нефротоксичността на ЦА, са разработени различни стратегии на дозиране, включващи намаляване на използваната доза на медикаментите.

Схемите с редуцирана доза на КИ и мTOR инхибитор са имunosупресивен вариант, който може да сведе до минимум риска от дългосрочна загуба на присадката, като същевременно поддържа ниски нива на остро отхвърляне. Основната причина за използването на комбинация е да се избегнат нежеланите събития, свързани с употребата на КИ, по-специално хроничната нефротоксичност. Вече съществуват убедителни доказателства, че имunosупресивните режими, включващи мTOR инхибитори, са свързани с по-малко цитомегаловирусни инфекции и по ниско ниво на развитието на злокачествени заболявания, както и някои посттрансплантационни инфекции. Основните предимства на мTOR инхибиторите са липса на нефротоксичност, постига се ниска честота на ОРО, антитуморен и антипролиферативен ефект. Както КИ така и мTOR инхибиторите имат тесен терапевтичен прозорец и висок риск от странични ефекти. Поради това е необходимо терапевтичното лекарство да се наблюдава на двата медикамента. Особено актуална тенденция на съвременната имunosупресия е увеличаване на използването на мTOR инхибитори при трансплантирани пациенти с неоплазми, тъй като те имат известен антитуморен ефект. В различните проучвания се посочва приложение

на mTOP инхибитори при 5-15% от бъбречнотрансплантантите. Проучването CONVERT и проучването CONCEPT показват намаляване на развитието на злокачествени заболявания след преминаване от КИ в m-TOP инхибитори./1,7,10,183,254/.

### **Индивидуален подход.**

Рискът за ОРО и загуба на алографт е най-висок през първите три месеца след БТ. В резултат на това имunosупресията трябва да е най-висока през този период. Появата на най-сериозните странични ефекти на имunosупресивната терапия (инфекции и злокачествени заболявания) корелира с общото количество имunosупресия. Преживяемостта на присадката варира сред различните имunosупресивни агенти, като се влияе и от специфични за пациента клинични характеристики като напреднала възраст, затлъстяване, етническа принадлежност, хиперлипидемия, забавена функция на алографта и др. Повечето центрове за трансплантация в момента използват поддържаща тройна имunosупресивна комбинация с КИ (ЦА и ТАК), антимераболит (АЗА) и преднизон. Сиролимус или еверолимус също се използват в терапевтични схеми, често на мястото на КИ или на антимераболит в комбинация с ниска доза КИ. Това е в съответствие с насоките за добра клинична практика за KDIGO за бъбречна трансплантация. Този подход се дължи главно на това, че схемите за тройна имunosупресивна терапия са свързани със сравнително ниска честота на остро отхвърляне. Индивидуалният подбор на имunosупресивни медикаменти се базира на определяне степента на риск за ОРО и страничните ефекти на медикамента. Преценката на съотношението полза/риск е в основата на съвременната имunosупресивна терапия при БТ. Протоколите трябва да бъдат индивидуализирани за всеки пациент. Пациентите с висок имунологичен риск или по-младите пациенти изискват по-високи дози имunosупресия, отколкото по-възрастните пациенти. Случаите на посттрансплантационен диабет могат да бъдат предизвикани или да се влошават от прием на КС, ТАК и в по-малка степен на ЦА. При пациенти с нарушен глюкозен толеранс или в случаите на посттрансплантационен диабет е целесъобразно намаляване на дозата или преустановяване на лечението с КС. Ако това не е достатъчно, следва да се разгледа вариант на преминаване от ТАК към лечение с ЦА. Дислипидемия може

да бъде предизвикана от КС, ЦА и ТАК. Във връзка с това контролът на дислипидемията е задължителен, както и приема на статини. Артериална хипертония може да бъде предизвикана или да се влоши от прием на КС, ЦА и ТАК. За пациенти с артериална хипертония независимо от оптималната антихипертензивна терапия, следва да се обмисли и редуциране на дозата или отмяна на лечението с КС и КИ. Миелосупресия може да възникне при лечение с АЗА и МФ. Намаляване на дозата на тези медикаменти е необходима при възникване на анемия или левкопения.

Нито една от прилаганите имunosупресивни комбинации не изключва възникване на ОРО.

Посочените до тук характеристики определят значимостта на различните имunosупресивни терапии за честотата на ОРО. Средната честота на ОРО в азличните проучвания варира от 8% до 15% при клинично значимите реакции с редуциране на бъбречната функция. Това налага по-обстойно проучване на честотата на ОРО при различните терапевтични режими при популацията на бъбречно трансплантираните пациенти у нас с оглед на подобряване на терапевтичните възможности ./1,186,214,245,262,276/

## **6.1. ЦЕЛ**

Целта на настоящото проучване е да се определи значимостта за честотата на острите реакции на отхвърляне на различните имunosупресивни комбинации.

## **6.2. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ**

В проучването са включени общо 510 бъбречно трансплантирани пациенти, наблюдавани за 10г. период до м.03.2017г, съотношение: 323 мъже и 187 жени (1,7:1), на възраст между 15 и 79г., 297 трансплантирани от жив донор, 213 от трупен донор или съотношение 1,3:1. Основните данни са представени на таблица №21:

**Табл.21.** Основни данни на проучваната група пациенти.

брой пациенти	възраст	мъже:жени	жив:трупен донор
510	15-79г	1,7:1	1,3:1

Определяни са вид и комбинации на имunosупресия, наличие на ОРО доказана чрез пункционна бъбречна биопсия (ПББ), състояние на функцията на трансплантата, имунологични изследвания (клетъчен и хуморален имунитет, алоантитела), плазмени нива на имunosупресори.

Средната преживяемост на присадката при обследваната група е 89 месеца или 7,5г. Към настоящия момент на лечение с КС са 459 пациенти, без КС - 122. На лечение с АЗА са 53 пациенти, с МФ - 475, с ЦА - 240, с ТАК -268, с мТОР инхибитори - 77 болни, от които с първично включени на мТОР инхибитор са 8 пациенти. Тези данни са представени в таблица 22:

**Табл. 22.** Разпределение на пациентите според вида на имunosупресор.

КС	АЗА	МФ	ЦА	ТАК	мТОР	първично мТОР	ПА	МА
388	45	402	203	226	65	8	28	33
76,1 %	8,8 %	78,8 %	39,8 %	44,4 %	12,8%	1,3%	4,6%	5,5%

Към настоящият момент основните и най-често използвани имunosупресивни комбинации са КС+АЗА+ЦА при 33 пациенти - 5,4%, КС+МФ+ЦА при 125 пациенти - 21%, КС+МФ+ТАК при 214 пациента - 35,4%, мТОР инхибитор в различни комбинации с МФ, КС, ТАК при 77 пациенти -12,3%., мТОР инхибитор първично при 8 пациенти - 1,3%. Тези данни са представени на таблица №23:

**Табл. 23** Най-често използвани имуносупресивни комбинации

<b>КС+АЗА+ЦА</b>	<b>КС+МФ+ЦА</b>	<b>КС+МФ+ТАК</b>	<b>мТОР+ МФ или КС или ТАК</b>	<b>мТОР първично</b>
<b>8,7%</b>	<b>21 %</b>	<b>35,4%</b>	<b>12,7%</b>	<b>1,3%</b>

От посочените данни се вижда, че най-чести имуносупресори са КС, МФ, ТАК и ЦА. Най-чести имуносупресивни комбинации са тройните, а най-честите компоненти в тях са КС, МФ и ТАК. Изразена е тенденцията към отпадане на КС от имуносупресията при по-голям брой пациенти при налични индикации за това – 24%. Този резултат е добра тенденция в сравнение с периода преди това обследване – 8-12% т.е. двукратно увеличение. Това води до избягване на неприятните усложнения на КС при тяхното продължително приемане, което се отразява върху допълнителна заболяемост – захарен диабет, артериална хипертония, сърдечно съдови усложнения. Друга важна тенденция е тази на увеличаване на пациентите на имуносупресивно лечение включващо мТОР инхибитор – общо 14% при данни от проучвания на други страни от 5% до 15%. Това означава изключително позитивна тенденция към използване на имуносупресори с по-малко странични ефекти, особено нефротоксичност и използване на техните позитивни ефекти, в случая противотуморното действие.

Остри реакции на отхвърляне на трансплантата, доказани с пункционна бъбречна биопсия (ПББ) и възникнали в рамките на 1 година след БТ бяха доказани при 63 пациенти или честота на ОРО 10,4%. Данните за честотата на ОРО в изследваната популация е сравнима с тези в различни публикации от други страни, които са в диапазона 8-15% и дори с тенденция към ниски нива.

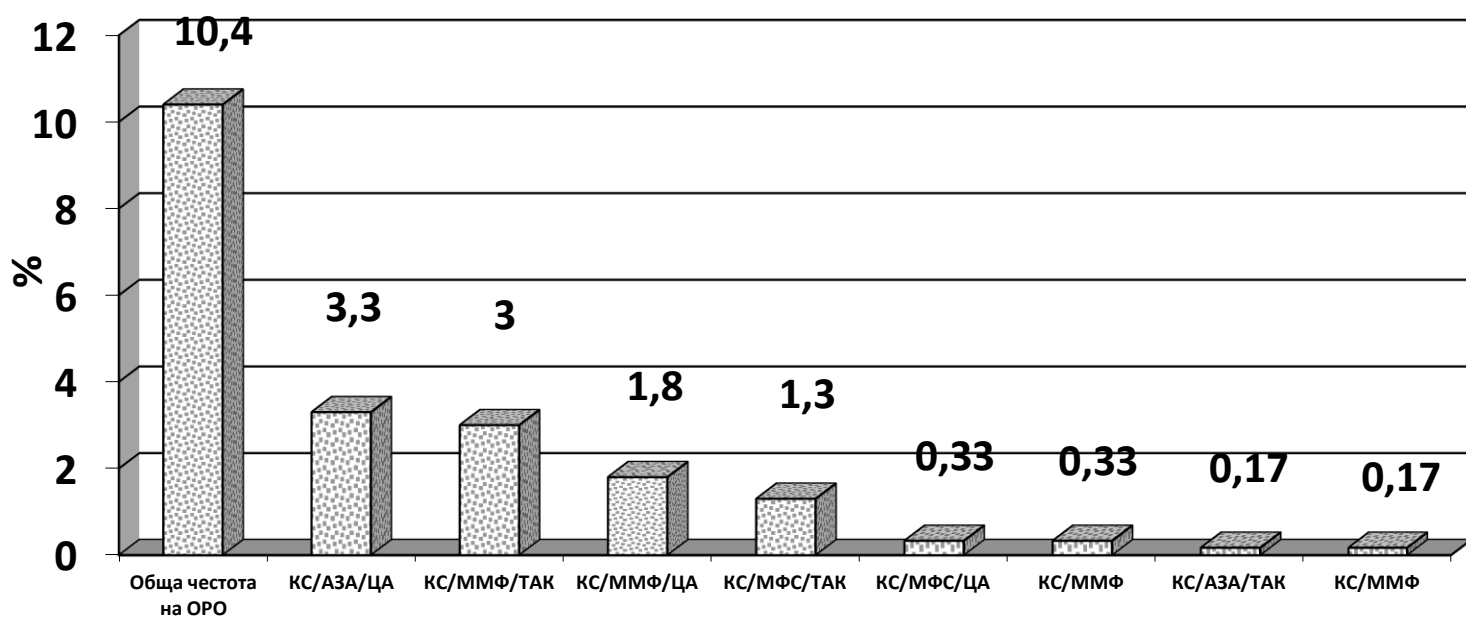
От всички 63 пациенти с доказана ОРО, 20 са били на поддържаща терапия с КС+АЗА+ЦА, 18 - на терапия с

КС+МФмофетил+ТАК, 11 - с КС+МФмофетил+ЦА, 8 - с КС+МФсодиум+ТАК, 2 - с КС+МФсодиум+ЦА, 2 - на МФ+ЦА, 1- с КС+АЗА+ТАК и 1 пациент на терапия с КС+МФмофетил.

Най-висока е честотата на ОРО при пациентите на лечение с КС+АЗА+ЦА.  
Данните са представени сравнително на следващата фигура:

**Фиг24.** Сравнителна характеристика на честотата на ОРО според имunosупресивните комбинации.

### Честота



Честотата на ОРО е най-висока при лечение с комбинациите КС+АЗА+ЦА, КС+ММФ+ТАК, КС+ММФ+ЦА. Това са най-използваните комбинации, което също се отразява на честотата, както и това, че комбинациите са използвани при рискови пациенти.

При пациентите на лечение с mTOR-инхибитор, започнато първично, непосредствено след БТ, които са 8 на брой, остри реакции не се установяват в рамките на първата година от трансплантацията. Пет от тях са на терапия с КС+МФсодиум+ниска дозаТАК+ЕВЕ, като при всички е проведена индукционна терапия с моноклонално антитяло - Basiliximab. Двама пациенти са на лечение КС+ММФ+СИР, един - КС+ТАК+СИР.

При 61 от всички наблюдавани трансплантирани пациенти е провеждана терапия с поликлонално и моноклонално антитяло поради наличие на висок и много висок риск: антитимуцитен глобулин (АТG) – поликлонално антитяло - при 28пациента; моноклонални антитела: Basiliximab - 25, Daclisumab - 7, Altemtusumab - 1. Честотата на ОРО в тази група е 11,4%. Извода е, че въпреки високият и много високият риск при пациентите с антитяло базирана имunosупресия честотата на ОРО остава достатъчно ниска и сравнима с общата честота на ОРО в цялата популация.

При пациентите без КС в терапията се наблюдават следните промени в бъбречната функция, изчислена по серумен креатин и MDRD формула и стойностите на 24ч. протеинурия на 1, 2, 3, 5 и 10 година от БТ, представени на табл. 24:

**Табл. 24.** Бъбречна функция при пациенти на лечение без КС в имunosупресията.

Години след БТ	1 година	2 година	3 година	5 година	10 година
Сер. Креатинин мкмол/л	120	122	123	122	129
GFR-MDRD ml/min/1.73/m <sup>2</sup>	61	62	61	60	56
Протеинурия г/24ч	0,45	0,300	0,309	0,352	0,434

Посочените данни можем да сравним със същите данни при пациенти на лечение с КС, представени на следващата таблица 25:

**Табл. 25** Бъбречна функция при пациенти на лечение с КС в имуносупресията

Години след БТ	1 година	2 година	3 година	5 година	10 година
Сер. Креатинин мкмол/л	120	122	122	124	127
GFR-MDRD ml/min/1.73/m <sup>2</sup>	62	62	61	60	57
Протеинурия г/24ч	0,445	0,302	0,304	0,344	0,404

Данните показват идентични в клинично отношение резултати, които налагат извода, че подбора на пациентите с преустановяване на лечението с КС е правилен и постига подобни резултати, како при пациенти на лечение с КС в имуносупресията.

Данните за бъбречна функция в групата на лечение с КС+АЗА+ЦА са представени на следващата таблица №26:

**Табл. 26.** Бъбречна функция при пациенти на лечение с КС+АЗА+ЦА.

Години след БТ	1 година	2 година	3 година	5 година	10 година
Сер. Креатинин мкмол/л	121	122	123	123	129
GFR-MDRD ml/min/1.73/m <sup>2</sup>	61	62	61	60	57
Протеинурия г/24ч	0,547	0,302	0,313	0,356	0,426

Данните за бъбречна функция в групата на лечение с КС+МФ+ЦА са представени на таблица №27:

**Табл. 27.** Бъбречна функция в групата на лечение с КС+МФ+ЦА.

Години след БТ	1 година	2 година	3 година	5 година	10 година
Сер. Креатинин мкмол/л	121	122	122	122	127
GFR-MDRD ml/min/1.73/m <sup>2</sup>	62	62	61	60	57
Протеинурия г/24ч	0,310	0,302	0,304	0,344	0,407

Данните за бъбречна функция в групата на лечение с КС+МФ+ТАК са представени на таблица №28:

**Табл. 28.** Бъбречна функция в групата на лечение с КС+МФ+ТАК.

Години след БТ	1 година	2 година	3 година	5 година	10 година
Сер. Креатинин мкмол/л	121	122	122	122	128
GFR-MDRD ml/min/1.73/m <sup>2</sup>	62	62	61	60	56
Протеинурия г/24ч	0,327	0,295	0,3	0,349	0,404

Значими резултати са получени в групата с първично включен мТОР инхибитор. Това са 8 пациенти, при които е започнато лечение с мТОР инхибитор веднага след БТ. Пет от тях са на лечение с КС+ниска доза ТАК +ЕВЕ, като при тях е проведена индукционна терапия с Basiliximab. Тази група пациенти са трансплантирани през 2015г. и поради това бъбречната функция е проследена в рамките на 12 месеца. Другите трима пациенти с първично включен мТОР инхибитор са на лечение със СИР от 2011-2013 година, 1 пациент е с имunosупресивна комбинация включваща КС+ТАК+СИР и двама с КС+МФ+СИР. Резултатите за бъбречна функция са представени на следната таблица №29:

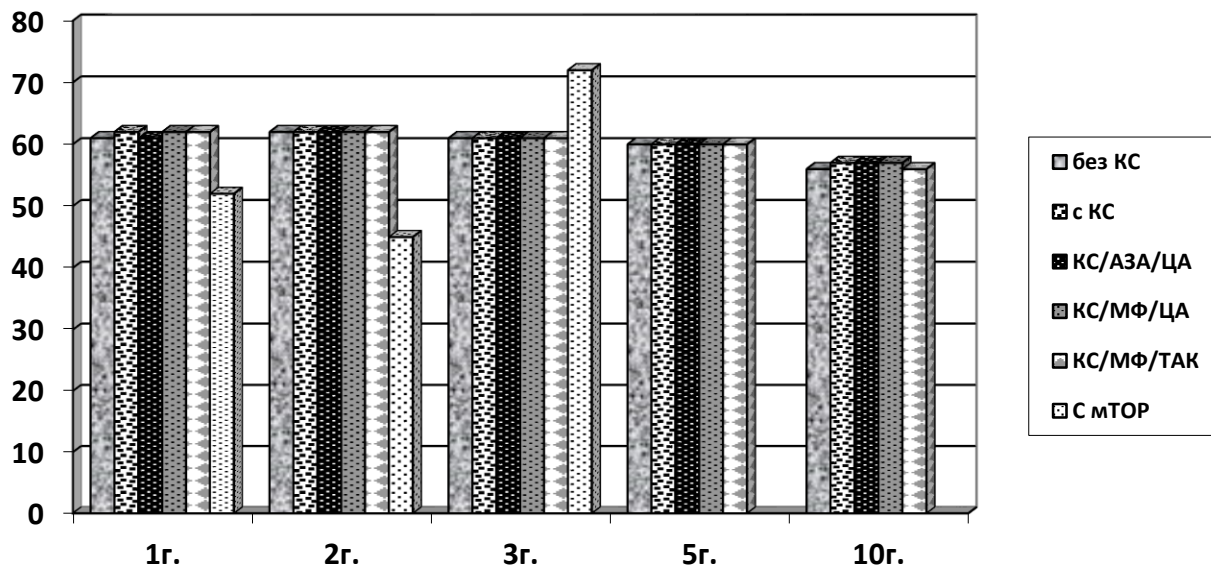
**Табл. 29.** Бъбречна функция при пациенти с мТОР инхибитор в имunosупресията.

Период след БТ	1-ви месец	1 година	3 година
Сер. Креатинин мкмол/л	145	169	98
GFR-MDRD ml/min/1.73/m <sup>2</sup>	52	45	72
Протеинурия г/24ч	1,07	0,99	0,45

Използването на м-ТОР инхибитор в имunosупресията при бъбречно трансплантираните пациенти има за резултат подобряване на бъбречната функция през първата година след трансплантацията.

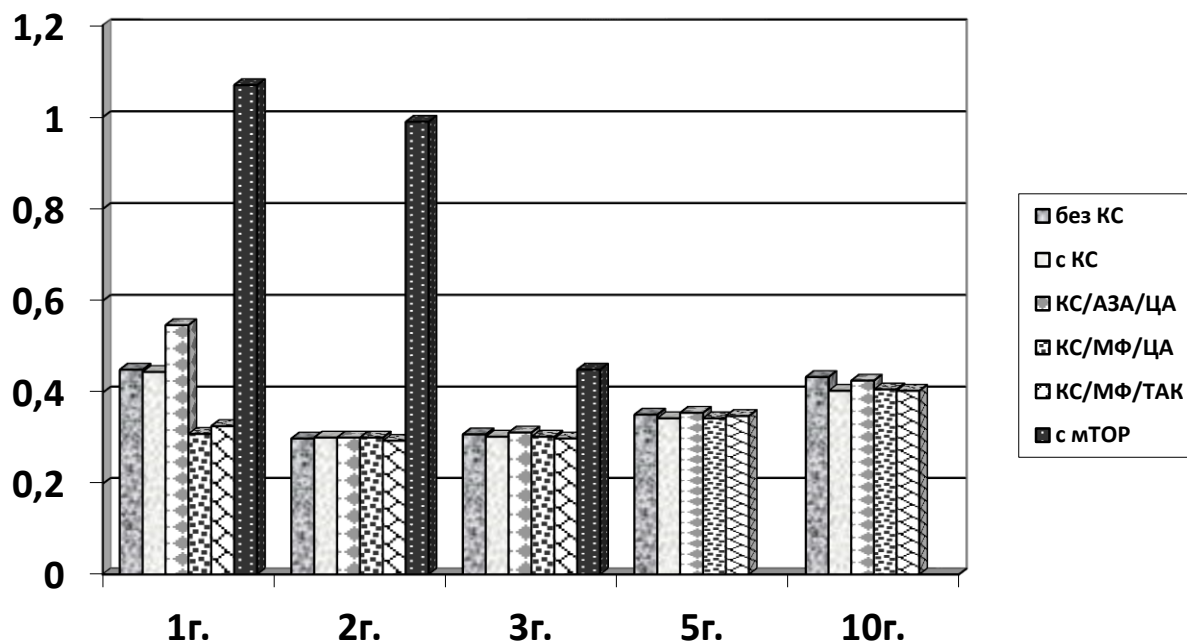
Представените резултати за състоянието на бъбречната функция при пациенти с различни имunosупресивни комбинации доказва правилната преценка за имunosупресивен ефект при тях, което се отразява на честотата на ОРО, както и върху състоянието на функцията на графта. Данните за това са представени бразно на фигура №25 и фигура №26:

**Фиг25.** Бъбречна функция по креатининов клирънс (мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>) в различните имunosупресивни комбинации.



На фигура 26 са представени състояние на функцията на трансплантата по степен на протеинурията. На тази фигура е изразена разликата в протеинурията при пациенти на лечение с мТОР инхибитор в имunosупресивната комбинация. С течение на времето тази по-голяма протеинурия намалява като в същото време бъбречната функция се подобрява, изразено по креатининов клирънс видно в предходната фигура.

Фиг. 26. Степен на протеинурията (г/л).



### 6.3.ИЗВОДИ

1. Честотата на острите реакции на отхвърляне при бъбречно трансплантирани пациенти у нас е сравнително ниска.-10,4% и е напълно сравнима с честотата на други центрове,представена в публикации.
2. При бъбречно трансплантирани пациенти се следва индивидуален подход в имunosупресията с цел постигане на оптимален имunosупресивен ефект.
3. При бъбречно трансплантираните пациенти е постигната много добра бъбречна функция,основно свързано с оптималната имunosупресия.

## 7. ОСНОВНИ ИЗВОДИ

Въз основа на получените данни при обследване на почти цялата популация от бъбречно трансплантирани пациенти можем да направим следните основни изводи:

1. Честотата на острите реакции на отхвърляне при бъбречно трансплантирани пациенти у нас е сравнително ниска – 10,4% и е напълно сравнима с честотата в други трансплантационни центрове по данни на различни публикации.
2. Познаването на факторит, повлияващи честотата на ОРО е важно за определяне риска за ОРО и оптимизиране на имunosупресивната терапия.
3. Лечението с МФ води до значимо редуциране на честотата на остроото отхвърляне и статистически достоверно намаляване на протеинурията.
4. Такролимус е по-ефективен по отношение превенцията на остроото отхвърляне след БТ в сравнение с циклоспорин А. Лечението с такролимус постига стабилна бъбречна функция и стабилност на протеинурията при бъбречнотрансплантирани пациенти.
5. mTOR инхибиторите могат да се използват успешно като ефективна имunosупресия ,която намалява честотата на ОРО и тяхното приложение не е свързано с поява на значими странични ефекти.
6. Индуктивното лечение с поликлонални и моноклонални антитела води до статистически значимо редуциране на честотата на остроото отхвърляне и не е свързано с повишена поява на сериозни странични реакции.
7. При бъбречно трнсплантираните пациенти се постига индивидуален подход в имunosупресията им с цел постигане на оптимален имunosупресивен ефект.
8. От посочените данни се вижда, че най-често използвани имunosупресори са КС, МФ, ТАК и ЦА, най-чести имunosупресивни комбинации са тройните, а най-честите компоненти в тях са КС, МФ и ТАК.
9. Налице е тенденцията към отпадане на КС – при 24%, което е двукратно увеличение в сравнение с предходния период, водещо до избягване на

страничните им действия – стероиден захарен диабет, артериална хипертония, сърдечно съдови усложнения, които рязко влошават преживяемостта на трансплантата и пациента.

10. Установява се важна тенденция на увеличаване на пациентите с имunosупресивна терапия, включваща mTOR инхибитор-общо 14%, при данни от проучвания в други страни от 5 до 15%. Това е позитивна тенденция към използване на имunosупресори с по-малко странични ефекти, особено нефротоксичност и използване на техните позитивни ефекти, в случая противотуморно и антипролиферативно действие.
11. Налице е тенденция към увеличаване на използването на антицитокинова базирана имunosупресия в сравнение с предходен период при високо и много високо рискови пациенти като въпреки риска е постигната сравнително ниска честота на ОРО (11,4%) подобна на общата честота (10,4%). Това потвърждава необходимостта от прилагането на антицитокинова базирана имunosупресия при рискови пациенти за да се намали честотата на ОРО и да достигне средната честота при пациенти без рискове.
12. При бъбречно трансплантираните пациенти е постигната много добра бъбречна функция, основно свързано с оптималната имunosупресия.

## 8.ПРИНОСИ

1.За първи път в България се прави всеобхватно проучване върху честотата на острите реакции на отхвърляне при бъбречно трансплантираните пациенти, което се налага от необходимостта да има точна яснота по въпроса за по-добра стратегия в имunosупресивното лечение и съответно по-добри резултати.

2.За първи път в България се прави проучване върху значимостта за честотата на ОРО на микофенолат.

3.За първи път в България се прави оценка на значимостта за честотата на острите реакции на отхвърляне на такролимус.

4. За първи път в България се прави оценка на честотата на острите реакции на отхвърляне при приложение на m-TOР инхибитори.

5.За първи път в България се прави проучване върху значимостта за честотата на острите реакции на отхвърляне на приложението на поликлонални и моноклонални антитела.

6.За първи път в България се прави проучване върху честотата на острите реакции на отхвърляне при различните имunosупресивни комбинации.

7.За първи път в България се прави оценка на честотата на острите реакции на отхвърляне при различни възрастови групи на донори и реципиенти.

8 За първи път в България се прави оценка на честотата на острите реакции на отхвърляне при пациенти с имунологични рискови фактори –

9.За първи път в България се прави оценка на честотата на острите реакции на отхвърляне при диабетици и пациенти със затлъстяване.

10.За първи път в България се прави оценка на честотата на острите реакции на отхвърляне в зависимост от вида на първичното заболяване, довело до терминална ХБН, респективно бъбречна трансплантация.

## 9. БИБЛИОГРАФИЯ

1. Е. Наумова, М. Иванова, А. Михайлова, С. Михайлова. Имунологични аспекти на бъбречната трансплантация.  
В :Нефрология.Първо издание, под редакцията на проф. д-р Е. Паскалев,д.м.н. София,БУЛГАРРЕСУРС, 2015, 913-922.
1. Е. Паскалев, П. Симеонов. Имуносупресивна терапия със Sirolimus. Нефрология 2004, под редакция на проф. Д. Димитраков, София, 2004, 57-62.
2. Е. Паскалев. Индивидуален подход при имуносупресивното лечение след бъбречна трансплантация. Медицински преглед, 2011, 47(4), 12-17.
3. Е.Паскалев.Съвременно имуносупресивно лечение при бъбречна трансплантация.Списание MD 01/8/2011.
4. Е. Паскалев. Приложение на Мусорphenolate при бъбречна трансплантация. Медицински преглед, 2009, XLV, 3, 40-45.
5. Е. Паскалев. Превенция на острата реакция на отхвърляне при бъбречна трансплантация с моноклонални антитела - Daclizumab/ Zenapax. УРОНЕТ, 2004 1, 10-14.
6. Е. Паскалев, Б. Златков, Ж. Филипов, М. Димитров, М. Ортова, Д. Генов, М. Петрова, Л. Христова, Т. Методиева. Бъбречна трансплантация - характеристика, показания, противопоказания, видове, осъществяване. В :Нефрология.Първо издание, под редакцията на проф. д-р Е. Паскалев,д.м.н. София,БУЛГАРРЕСУРС, 2015, 805-807.
7. Е. Паскалев, Б. Златков, Ж. Филипов, М. Ортова, М. Димитров, Д. Генов, Л. Христова, М. Петрова, Т. Методиева. Имуносупресия при бъбречна трансплантация. В :Нефрология.Първо издание, под редакцията на проф. д-р Е. Паскалев,д.м.н. София,БУЛГАРРЕСУРС, 2015, 813-819.
8. Е. Паскалев, Б. Златков, Ж. Филипов. Бъбречната трансплантация -оптимално лечение на бъбречната недостатъчност. МедикАрт, 2012, 1, 19-24.
9. Ж. Филипов, Б. Златков, Е. Паскалев. Реакции на отхвърляне на трансплантата. . В :Нефрология.Първо издание, под редакцията на проф. д-р Е. Паскалев,д.м.н. София,БУЛГАРРЕСУРС 2015, 825-834.

10. Р. Робева, Д. Монова, С. Монов. Лечение с имуносупресори в нефрологията. В :Нефрология.Първо издание, под редакцията на проф. д-р Е. Паскалев,д.м.н. София,БУЛГАРРЕСУРС 2015, 949-952.
11. Abramowicz D, Del Carmen Rial M, Vitko S, et al. Cyclosporine withdrawal from a mycophenolate mofetil-containing immunosuppressive regimen: results of a five-year, prospective, randomized study. *J Am Soc Nephrol* 2005,16(7), 2234-2240.
12. Abu Jawdeh BG, Cuffy MC, Alloway RR et al. Desensitization in kidney transplantation: review and future perspectives. *Clin Transplant* 2014, 28(4), 494–507.
13. A. Nicholas R. Barnett, Vassilis G. Hadjianastassiou and Nizam Mamode. Rituximab in renal transplantation. *Transplant International*, 2013, 26(6), 563–575.
14. Al-Awwa IA, Hariharan S, First MR. Importance of allograft biopsy in renal transplant recipients: correlation between clinical and histological diagnosis. *Am J Kidney Dis.*, 1998,31(6), S15-18.
15. Albano L, Banas B, Klempnauer JL et al. Optimising immunosuppression After Kidney transplantation with ADVAGRAF Study Group. OSAKA trial: A randomized, controlled trial comparing tacrolimus QD and BD in kidney transplantation. *Transplantation*, 2013, 96(10), 897–903.
16. Almeida CC, Silveira MR, de Araujo VE, et al. Safety of immunosuppressive drugs used as maintenance therapy in kidney transplantation: a systematic review and meta-analysis. *Pharmaceuticals* ,2013, 6(10), 1170-1194.
17. A. Djamali, D. B. Kaufman, T. M. Ellis et al. Diagnosis and Management of Antibody-Mediated Rejection: Current Status and Novel Approaches. *American Journal of Transplantation* , 2014,14(2), 255–271.
18. Banasik M, Boratyńska M, Kościelska-Kasprzak K et al. Long-term follow-up of non-HLA and anti-HLA antibodies: incidence and importance in renal transplantation. *Transplant Proc.* 2013 ,45(4),1462-1465.
19. Bartel G, Wahrmann M, Regele H, et al. Peritransplant immunoadsorption for positive crossmatch deceased donor kidney transplantation. *Am J Transplant* 2010; 10 (9), 2033–2042 .
20. Bekir Tanriover, Vishal Jaikaransingh, Malcolm P. MacConmara et al. Acute Rejection Rates and Graft Outcomes According to Induction Regimen among Recipients of Kidneys from Deceased Donors Treated with Tacrolimus and Mycophenolate. *CJASN* ,2016 ,11 ( 9) ,1650-1661.

21. Benaya Rozen-Zvi, Shira Schneider, Shelly Lichtenberg et al. Association of the combination of time-weighted variability of tacrolimus blood level and exposure to low drug levels with graft survival after kidney transplantation. *Nephrol Dial Transplant*, 2017, 32 (2), 393-399.
22. B. J. Orandi, N. Alachkar, E. S. Kraus et al. Presentation and Outcomes of C4d-Negative Antibody-Mediated Rejection After Kidney Transplantation. *American Journal of Transplantation*, 2016, 16(1), 213–220.
23. Borobia AM, Romero I, Jimenez C, et al. Trough tacrolimus concentrations in the first week after kidney transplantation are related to acute rejection. *Ther Drug Monit* 2009, 31(4), 436–442.
24. Brennan DC, Daller JA, Lake KD, Cibrik D, Del Castillo D, Group Thymoglobulin Induction Study. Rabbit antithymocyte globulin versus basiliximab in renal transplantation. *N Engl J Med* 2006, 355(19), 1967–1977.
25. Bostock IC, Alberú J, Arvizu A et al. Probability of deceased donor kidney transplantation based on % PRA. *Transpl Immunol.*, 2013, 28(4), 154-158.
26. Böhmig GA, Farkas AM, Eskandary F, Wekerle T. Strategies to overcome the ABO barrier in kidney transplantation. *Nat Rev Nephrol*, 2015, 11, 732–747.
27. Budde K, Becker T, Arns W. Everolimus-based, calcineurin-inhibitor-free regimen in recipients of de-novo kidney transplants: an open-label, randomised, controlled trial. *Lancet*, 2011, 377, 837–847.
28. Budde K, Bunnapradist S, Grinyo JM, et al. Novel once-daily extended-release tacrolimus (LCPT) versus twice-daily tacrolimus in de novo kidney transplants: one-year results of Phase III, double-blind, randomized trial. *Am J Transplant* 2014, 14, 2796-2806.
29. Budde K, Durr M, Liefeldt L, Neumayer HH, Glander P. Enteric-coated mycophenolate sodium. *Expert Opin Drug Saf*, 2010, 9(6), 981-984.
30. Budde K, Dürr M. About incidence and timing of donorspecific antibodies after graft nephrectomy. *Transplantation*, 2012, 93 (9), 865–866.
31. Budde K, Rath T, Sommerer C, Haller H, Reinke P, Witzke O, Suwelack B, Baeumer D, May C, Porstner M, Arns W. Renal, efficacy and safety outcomes following late conversion of kidney transplant patients from calcineurin inhibitor therapy to everolimus: the randomized APOLLO study. *Clin Nephrol.* 2015, 83(1), 11-21.

31. Budde K, Lehner F, Sommerer C, Reinke P et al. Five-year outcomes in kidney transplant patients converted from cyclosporine to everolimus: the randomized ZEUS study. *Am J Transplant.*,2015, 15(1),119-128.
32. Budde K, Lehner F, Sommerer C, Arns W, Reinke P, Eisenberger U, et al. Conversion from cyclosporine to everolimus at 4.5 months posttransplant: 3-year results from the randomized ZEUS study. *Am J Transplant* ,2012,12,1528–1540.
33. Budde K, Matz M, Durr M, et al. Biomarkers of overimmunosuppression. *Clin Pharmacol Ther* 2011, 90 (2), 316–322.
34. Bunnapradist S, Ciechanowski K, West-Thielke P, et al. Conversion from twice-daily tacrolimus to once-daily extended release tacrolimus (LCPT): the phase III randomized MELT trial. *Am J Transplant*, 2013, 13(3), 760-769.
35. Burns JM, Cornell LD, Perry DK, et al. Alloantibody levels and acute humoral rejection early after positive crossmatch kidney transplantation. *Am J Transplant.* 2008, 8, 2684-2694.
36. Butler JA, Roderick P, Mullee M, Mason JC, Peveler RC. Frequency and impact of nonadherence to immunosuppressants after renal transplantation: a systematic review. *Transplantation*, 2004, 77, 769.
37. Cai J, Terasaki PI. Current trend of induction and maintenance treatment in positive panel-reactive antibody patients: a report on OPTN/UNOS kidney transplant registry data. *Chin Med J (Engl)*, 2011, 124 (5), 649–654.
38. Calp-Inal S, Ajaimy M, Melamed ML, et al. The prevalence and clinical significance of C1q-binding donor-specific anti-HLA antibodies early and late after kidney transplantation. *Kidney Int*, 2016, 89, 209–216.
39. Campbell SB, Hothersall E, Preston J et al. Frequency and severity of acute rejection in live- versus cadaveric-donor renal transplants. *Transplantation*, 2003 76(10),1452-1457.
40. Cantarovich D, Rostaing L, Kamar N, et al. Early corticosteroid avoidance in kidney transplant recipients receiving ATG-F induction: 5-year actual results of a prospective and randomized study. *Am J Transplant* ,2014, 14(11), 2556-2564.
41. Chadban SJ, Eris JM, Kanellis J et al. A randomized, controlled trial of everolimus-based dual immunosuppression versus standard of care in de novo kidney transplant recipients. *Transpl Int.*, 2014,27,302–311.

42. Chapman JR. Chronic calcineurin inhibitor nephrotoxicity-lest we forget. *Am J Transplant*, 2011, 11(4), 693-697.
43. Chandraker A, Arscott R, Murphy GF, et al. The management of antibody-mediated rejection in the first presensitized recipient of a full-face allotransplant. *Am J Transplant* ,2014, 14,1446–1452.
44. Chhabra D, Skaro AI, Leventhal JRet al. Long-term kidney allograft function and survival in prednisone-free regimens: tacrolimus/mycophenolate mofetil versus tacrolimus/sirolimus. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2012;7(3),504-512.
45. Chkhotua AB, Klein T, Shabtai E, et al. Kidney transplantation from living-unrelated donors: comparison of outcome with living-related and cadaveric transplants under current immunosuppressive protocols. *Urology* 2003,62,1002–1006.
46. Chehade, Hassib MD,Pascual, Manuel MD. The Challenge of Acute Antibody-Mediated Rejection in Kidney Transplantation.*Transplantation*, 2016,100(2), 264–265.
47. Claudia Sommerer, Barbara Suwelack, Duska Dragun, et al. Design and rationale of the ATHENA study – A 12-month, multicentre, prospective study evaluating the outcomes of a de novo everolimus-based regimen in combination with reduced cyclosporine or tacrolimus versus a standard regimen in kidney transplant patients: study protocol for a randomised controlled trial, *Trials*, 2016, 17, 1.
48. Claudio Ponticelli. Ischaemia-reperfusion injury: a major protagonist in kidney transplantation .*Nephrol Dial Transplant* ,2014, 29 (6), 1134-1140.
49. Cole E, Landsberg D, Russell D et al.A pilot study of steroid-free immunosuppression in the prevention of acute rejection in renal allograft recipients. *Transplantation*,2001,72(5),845-50.
50. Cole E, Tinckam KJ. Densesensitization outomes: quantifying and questioning. *Am J. Transplant* 2014;14,1475–14766.
51. Cooper M, Salvadori M, Budde K, Oppenheimer F, Sollinger H, Zeier M. Enteric-coated mycophenolate sodium immunosuppression in renal transplant patients: efficacy and dosing. *Transplant Rev (Orlando)* ,2012, 26, 233-240.
52. D. Sawinski, J. Trofe-Clark, B. Leas et al. Calcineurin Inhibitor Minimization, Conversion, Withdrawal, and Avoidance Strategies in Renal Transplantation: A Systematic Review and Meta-Analysis, *American Journal of Transplantation*, 2016,16 (7),2117-2138.

53. Debout A, Foucher Y, Trébern-Launay K, et al. Each additional hour of cold ischemia time significantly increases the risk of graft failure and mortality following renal transplantation. *Kidney Int* 2015;87:343–9.
54. Dominigues EM, Matuck T, Graciano ML, et al. Panel reactive HLA antibodies, soluble CD30 level, and acute rejection six months following renal transplant. *Clin Transplant*, 2010, 24(6), 821-829.
55. Doshi MD, Garg N, Reese PP, Parikh CR. Recipient risk factors associated with delayed graft function: a paired kidney analysis. *Transplantation* 2011,91(6), 666–671.
56. El Ters M, Grande JP, Keddiss MT, Rodrigo E, Chopra B, Dean PG et al Kidney allograft survival after acute rejection, the value of follow-up biopsies. *Am J Transplant* 2013,13(9), 2334–2341.
57. Ergbruegger U, Scheffner I, Mengel M, et al. Impact of CMV infection on acute rejection and long-term renal allograft function: a systematic analysis in patients with protocol biopsies and indicated biopsies. *Nephrol Dial Transplant* 2012; 27, 435–43
58. Diet C, Audard V, Roudot-Thoraval F, Matignon M, Lang P, Grimbert P. Immunological risk in recipients of kidney transplants from extended criteria donors. *Nephrol Dial Transplant*, 2010; 25, 2745–2753.
59. Dorje C, Midtvedt K, Holdaas H, et al. Early versus late acute antibody-mediated rejection in renal transplant recipients. *Transplantation* 2013, 96(1), 79-84.
60. Dragun D, Catar R, Philippe A. Non-HLA antibodies in solid organ transplantation: recent concepts and clinical relevance. *Curr Opin Organ Transpl* 2013,18,430–435.
61. Dragun D, Muller DN, Brasen JH, et al. Angiotensin II type 1-receptor activating antibodies in renal-allograft rejection. *N Eng J Med*, 2005, 352 (6), 558–569.
62. Dunn TB, Noreen H, Gillingham K, et al. Revisiting traditional risk factors for rejection and graft loss after kidney transplantation. *Am J Transplant* 2011, 11 (10): 2132–2143.
63. Ekberg H, Tedesco-Silva H, Demirbas A, et al. Reduced exposure to calcineurin inhibitors in renal transplantation. *N Engl J Med* ,2007, 357, 2562-2575.
64. Ekberg H, Bernasconi C, Tedesco-Silva H, et al. Calcineurin inhibitor minimization in the Symphony study: observational results 3 years after transplantation. *Am J Transplant* 2009, 9(8), 1876-1875.

65. El-Awar N, Terasaki P, Lazda V, et al. Almost all patients who are waiting for a regraft of a kidney transplant have anti-HLA antibodies. *Transplant Proc*, 2002, 34 (7), 2531–2532.
66. Euvrard S, Morelon E, Rostaing L, et al. Sirolimus and secondary skin-cancer prevention in kidney transplantation. *N Engl J Med* ,2012, 367(4),329-339.
67. Fidler SJ, Irish AB, Lim W et al. Pre-transplant donor specific anti-HLA antibody is associated with antibody-mediated rejection, progressive graft dysfunction and patient death. *Transpl Immunol.* ,2013 ,28(4),148-53.
68. Gatault P, Lebranchu Y. Conversion to mTOR-inhibitor-based immunosuppression: which patients and when? *Transplant Res* 2013; 2(1) S1-3.
69. Gebel HM, Bray RA, Nickerson P. Pre-transplant assessment of donor-reactive, HLA-specific antibodies in renal transplantation: contraindication vs. risk. *Am J Transplant.* 2003 ,3(12),1488–1500.
70. Ghisdal L, Bouchta NB, Broeders N, et al. Conversion from tacrolimus to cyclosporine A for new-onset diabetes after transplantation: a single-centre experience in renal transplanted patients and review of the literature. *Transpl Int*, 2008, 21(2), 146-151.
71. Gilles Benichou, Bruno Gonzalez, Jose Marino, Katayoun Ayasoufi, and Anna Valujskikh. Role of Memory T Cells in Allograft Rejection and Tolerance *Front Immunol.* 2017; 8: 170.
72. Gloor JM, Cohen AJ, Lager DJ, Grande JP, Fidler ME, Velosa JA, Larson TS, Schwab TR, Griffin MD, Prieto M, Nyberg SL, Sterioff S, Kremers WK, Stegall MD. Subclinical rejection in tacrolimus-treated renal transplant recipients. *Transplantation.* 2002 , 73(12):1965-1968.
73. Gonwa T, Mendez R, Yang HC, Weinstein S, Jensik S, Steinberg S. Randomized trial of tacrolimus in combination with sirolimus or mycophenolate mofetil in kidney transplantation: results at 6 months. *Transplantation* 2003,75,1213–1220.
74. Gralla J, Wiseman AC. The impact of IL2ra induction therapy in kidney transplantation using tacrolimus- and mycophenolate-based immunosuppression. *Transplantation* 2010,90, 639–644.

75. Greg, A. K., M. B. Kokolo, R. Mallick, et al. Effect of sirolimus on malignancy and survival after kidney transplantation: systematic review and meta-analysis of individual patient data. *BMJ*, 2011, 343, g6679.
76. Guillaume Canaud, Vincent Audard, Tomek Kofman et al. Recurrence from primary and secondary glomerulopathy after renal transplant. *Transplant International*, 2012, 25 (8), 812-824.
- 77..
78. Faguer S, Kamar N, Guilbeaud-Frugier C, et al. Rituximab therapy for acute humoral rejection after kidney transplantation. *Transplantation*, 2007, 83, 1277–1280.
79. Fehr T, Gaspert A. Antibody-mediated kidney allograft rejection: therapeutic options and their experimental rationale. *Transpl Int.*, 2012, 25, 623–632.
80. Fidler S, Swaminathan R, Lim W, et al. Peri-operative third party red blood cell transfusion in renal transplantation and the risk of antibody-mediated rejection and graft loss. *Transpl Immunol* 2013, 29(1-4), 22-27.
81. Flecher, S. M., D. Goldfarb, C. Modlin et al. Kidney transplantation without calcineurin inhibitor drugs: a prospective, randomized trial of sirolimus versus cyclosporine. *Transplantation*, 2002, 74, 1070-1076.
82. Foster BJ, Dahhou M, Zhang X, et al. Impact of HLA mismatch at first kidney transplant on lifetime with graft function in young recipients. *Am J Transplant*, 2014, 14, 876–85.
83. Gallon LG, Winoto J, Leventhal JR, Parker MA, Kaufman DB. Effect of prednisone versus no prednisone as part of maintenance immunosuppression on long-term renal transplant function. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2006 1(5), 1029-1038.
84. Gheorghian A, Schnitzler MA, Axelrod DA, Kalsekar A, L'Italien G, Lentine KL. The implications of acute rejection and reduced allograft function on health care expenditures in contemporary US kidney transplantation. *Transplantation*, 2012, 94(3), 241–249.
85. Gloor, J.M., A. J. Kohen, J. P. Grande, et al. Subclinical rejection in tacrolimus-treated renal transplant recipients. *Transplantation*. 2002, 73(12), 1965-1968.
86. Gloor, J. M., S. R. DeGoey, A. A. Pineda et al. Overcoming a positive cross-match in living-donor kidney transplantation. *Am J Transplantation*, 2003, 3, 1017-1023.

87. Gloor J. M., D. J. Lager, S. B. Moore et al. ABO-incompatible kidney transplantation using both A2 and nonA2 living donors. *Transplantation*, 2003, 75, 971-977.
88. Gloor JM, Winters JL, Cornell LD, et al. Baseline donorspecific antibody levels and outcomes in positive crossmatch kidney transplantation. *Am J Transplant* ,2010, 10 (3), 582–589.
89. Golgert WA, Appel GB, Hariharan S. Recurrent glomerulonephritis after renal transplantation: an unsolved problem. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2008,3(3),800-807.
90. Gore JL, Pham PT, Danovitch GM, et al. Obesity and outcome following renal transplantation. *Am J Transplant*, 2006, 6(2), 357-363.
91. H. Juna , C.W. Junga, S. Limb , and M.G. Kim .Kidney Donor Risk Index as the Predictor for the Short-term Clinical Outcomes After Kidney Transplant From Deceased Donor With Acute Kidney Injury.*Transplantation proceedings* ,2017, 49(7),1513-1688.
92. Haas M, Rahman MH, Racusen LC, Kraus ES, Bagnasco SM, Segev DL, et al. C4d and C3d staining in biopsies of ABO- and HLA-incompatible renal allografts: correlation with histologic findings. *Am J Transplant*, 2006, 6(8), 1829–1840.
93. Haas M, Kraus ES, Samaniego-Picota M, Racusen LC, Ni W, Eustace JA. Acute renal allograft rejection with intimal arteritis: Histologic predictors of response to therapy and graft survival. *Kidney Int* ,2002; 61, 1516–1526.
94. Halleck F, Budde K. Transplantation: Sirolimus for secondary SCC prevention in renal transplantation. *Nat Rev Nephrol* 2012, 8(12), 687-689.
95. Halleck F ,Friedersdorff F, Fuller TF, Budde K et al. New perspectives of immunosuppression. *Transplant Proc*. 2013 ,45(3),1224-1231.
96. Halloran PF. Immunosuppressive drugs for kidney transplantation. *N Engl J Med* 2004, 351: 2715-2729.
97. Hardinger KL, Brennan DC, Klein CL (2013) Selection of induction therapy in kidney transplantation. *Transpl Int*, 26(7), 662–672.
98. Hari Varun Kalluri, Karen L Hardinger. Current state of renal transplant immunosuppression: Present and future. *World J Transplant*. 2012, 2(4), 51-68.
99. Haririan A, Nogueira J, Kukuruga D, et al. Positive crossmatch living donor kidney transplantation: longer-term outcomes. *Am J Transplant* 2009; 9 (3), 536–42.

100. Heaphy E, Poggio E, Flechner S, Goldfarb D, Askar M, Fatica R, et al. Risk factors for retransplant kidney recipients: Relisting and outcomes from patients' primary transplant. *Am J Transp.*, 2014, 14, 1356–1367.
101. Herzenberg AM, Gill JS, Djurdjev O, Magil AB. C4d deposition in acute rejection: An independent long-term prognostic factor. *J Am Soc Nephrol* 2002, 13, 234–240.
102. Hidalgo LG, Sis B, Sellares J, et al. NK cell transcripts and NK cells in kidney biopsies from patients with donor-specific antibodies: Evidence for NK cell involvement in antibody-mediated rejection. *Am J Transplant* 2010,10, 1812–1822.
103. Higgins R, Lowe D, Daga S, et al. Pregnancy-induced HLA antibodies respond more vigorously after renal transplantation than antibodies induced by prior transplantation. *Hum Immunol* 2015,76, 546–552.
104. Hricik DE, Poggio ED, Woodside KJ, *et al.* Effects of cellular sensitization and donor age on acute rejection and graft function after deceased-donor kidney transplantation. *Transplantation* ,2013, 95(10), 1254-1258.
105. Huber L, Lachmann N, Dürr M, Matz M, Liefeldt L, Neumayer HH, Schönemann C, Budde K. Identification and therapeutic management of highly sensitized patients undergoing renal transplantation. *Drugs*,2012 72(10), 1335-1354.
106. Humar A, Ramcharan T, Kandaswamy R, Gillingham K, Payne WD, Matas AJ .Risk factors for slow graft function after kidney transplants: a multivariate analysis. *Clin Transplant* ,2002,16(6),425–429 .
107. Jamal Bamoulid, Oliver Staeck, Fabian Halleck, Dmytri Khadzhynov, Susanne Brakemeier, Michael Dürr and, Klemens Budde. The need for minimization strategies: current problems of immunosuppression *Transplant International* ,2015,28(8),891-900.
108. Jennifer Scheel, Sandra Reber, Lisa Stoessel, Elisabeth Waldmann, Sabine Jank, Kai-Uwe Eckardt, Franziska Grundmann, Frank Vitinius, Martina de Zwaan, Anna Bertram and Yesim .Patient-reported non-adherence and immunosuppressant trough levels are associated with rejection after renal transplantation. *BMC Nephrol.*, 201, 18(1),107.
109. Jeffrey J. Gaynor, Gaetano Ciancio, Giselle Guerra, Junichiro Sageshima, David Roth, Michael J. Goldstein, Linda Chen, Warren Kupin, Adela Mattiazzi, Lissett Tueros, Sandra Flores Lois Hanson, Phillip Ruiz<sup>1</sup>Rodrigo Vianna and George W. Burke III. Lower tacrolimus trough levels are associated with subsequently higher

- acute rejection risk during the first 12 months after kidney transplantation. *Transplant International*, 2016,29(2),216-226.
110. Johann Pratschke , Duska Dragun, Ingeborg A. Hauser , Sabine Horn , Thomas F. Mueller, Peter Schemmer, Friedrich Thaiss. Immunological risk assessment: The key to individualized immunosuppression after kidney transplantation .*Transplantation Reviews*, 2016 ,30 , 77–84.
111. Jones-Hughes T, Snowsill T, Haasova M, et al. Immunosuppressive therapy for kidney transplantation in adults: a systematic review and economic model.*Health Technol Assess*. 2016 , 20(62),1-594.
112. Jordan SC, Choi J, Vo A. Kidney transplantation in highly sensitized patients. *BrMed Bull* ,2015,114(1):113–125.
113. Jordan SC, Choi J, Vo A. Achieving incompatible transplantation through desensitization: current perspectives and future directions. *Immunotherapy*, 2015,7,377–98.
114. J. W. de Fijter, H. Holdaas, O. Øyen, J.-S. Sanders, ann behalf of the ELEVATE Study Group. Early Conversion From Calcineurin Inhibitor- to Everolimus-Based Therapy Following Kidney Transplantation: Results of the Randomized ELEVATE Trial. *American Journal of Transplantation*, 2017,17(7),1853-1867.
115. Jac Kee Low, Allison Williams, Elizabeth Manias , Kimberley Crawford Interventions to improve medication adherence in adult kidney transplant recipients: a systematic review *Nephrol Dial Transplant* 2015, 30 (5), 752-761.
116. Jalalzadeh M, Mousavinasab N, Peyrovi S, Ghadiani MH. The impact of acute rejection in kidney transplantation on long-term allograft and patient outcome *Nephrourol Mon*. 2015 Jan 20;7(1).
117. Jamal Bamoulid, Oliver Staeck, Fabian Halleck, Dmytri Khadzhynov, Susanne Brakemeier, Michael Dürr, Klemens Budde . The need for minimization strategies: current problems of immunosuppression. *Transplant International*, Volume 28, Issue 8, pages 891–900, August 2015.
118. Ishida H, Miyamoto N, Shirakawa H, et al. Evaluation of immunosuppressive regimens in ABO-incompatible living kidney transplantation - single center analysys, 2007, 7(4),825-31.

119. K. Yamanaka, Y. Kakuta, S. Nakazawa et al. Induction Immunosuppressive Therapy With Everolimus and Low-Dose Tacrolimus Extended-Release Preserves Good Renal Function at 1 Year After Kidney Transplantation. *Transplantation Proceedings*, 2016, 48(3), 781-785.
120. K. Budde, F. Lehner, C. Sommerer and On behalf of the ZEUS Study Investigators. Conversion From Cyclosporine to Everolimus at 4.5 Months Posttransplant: 3-Year Results From the Randomized ZEUS Study. *American Journal of Transplantation*, 2012, 12(6), 1528–1540.
121. Kallab S, Bassil N, Esposito L et al. Indications for and barriers to preemptive kidney transplantation: a review. *Transplant Proc.* 2010 42(3), 782-784.
122. Kamar N, Del Bello A, Belliere J, Rostaing L. Calcineurin-inhibitor sparing regimens based on mycophenolic acid after transplantation. *Transpl Int* ,2015,28(8),928-937.
123. Kamar N, Rostaing L, Cassuto E, et al. A multicenter, randomized trial of increased mycophenolic acid dose using enteric-coated mycophenolate sodium with reduced tacrolimus exposure in maintenance kidney transplant recipients. *Clin Nephrol* ,2012,77(2) , 126-136.
124. Kaplan B, Qazi Y, Wellen JR. Strategies for the management of adverse events associated with mTOR inhibitors. *Transplant Rev (Orlando)* ,2014, 28,126.
125. Kaposztas Z, Podder H, Mauiyyedi S, et al. Impact of rituximab therapy for treatment of acute humoral rejection. *Clin Transplant.* ,2009; 23, 63–73.
126. Karen L Hardinger, Daniel C Brennan .Novel immunosuppressive agents in kidney transplantation. *World J Transplant*, 2013, 3(4), 68-77.
127. Karpe KM, Talaulikar GS, Walters GD .Calcineurin inhibitor withdrawal or tapering for kidney transplant recipients. *Cochrane Database Syst Rev.*, 2017 ,21(7).
128. Kasiske BL, Zeier MG, Chapman JR, et al. KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients: a summary. *Kidney Int.*, 2009;77:299-311.

129. Kasiske BL, Chakkera HA, Louis TA, et al. A meta-analysis of immunosuppression withdrawal trials in renal transplantation. *J Am Soc Nephrol*, 2000,11,1910-1917.
130. www.kdigo.org. KDIGO Clinical Practice Guideline for the Kidney Transplant Recipients. *American Journal of Transplantation*,2009, 9 (3),21-3.
131. Kee TY, Chapman JR, O'Connell PJ, et al. Treatment of subclinical rejection diagnosed by protocol biopsy of kidney transplants. *Transplantation*. 2006,82,36-42.
132. Knight SR, Morris PJ. Steroid avoidance or withdrawal after renal transplantation increases the risk of acute rejection but decreases cardiovascular risk. A meta-analysis. *Transplantation* 2010, 89(1),1-14.
133. Krämer BK, Klinger M, Wlodarczyk Z, Ostrowski M, Midvedt K, Stefoni S, et al. Tacrolimus combined with two different corticosteroid-free regimens compared with a standard triple regimen in renal transplantation: 1 year observational results. *Clin Transplant* 2010; 24(1),E1–9.
134. Kwan JM, Hajjiri Z, Metwally A et al. Effect of the Obesity Epidemic on Kidney Transplantation: Obesity Is Independent of Diabetes as a Risk Factor for Adverse Renal Transplant Outcomes. *PLoS One*. 2016,11(11).
135. Kumar J, Bridson JM, Sharma A, Halawa A. Systematic Review on Role of Mammalian Target of Rapamycin Inhibitors as an Alternative to Calcineurin Inhibitors in Renal Transplant: *Exp Clin Transplant*. 2017 ,15(3),241-252.
136. Kuo HT, Sampaio MS, Vincenti F, Bunnapradist S. Associations of pretransplant diabetes mellitus, new-onset diabetes after transplant, and acute rejection with transplant outcomes: an analysis of the organ procurement and transplant network/united network for organ sharing (OPTN/UNOS) database. *Am J Kidney Dis*, 2010,56(6),1127–1139.
137. Kuypers DR, Le Meur Y, Cantarovich M, et al. Consensus report on therapeutic drug monitoring of mycophenolic acid in solid organ transplantation. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010, 5, 341–358.
138. Laftavi MR, Sharma R, Feng L, Said M, Pankewycz O. Induction therapy in renal transplant recipients: a review. *Immunol Invest* 2014,43, 790–806.

139. Langer RM, Hené R, Vitko S, et al. Everolimus plus early tacrolimus minimization: a phase III, randomized, open-label, multicentre trial in renal transplantation. *Transplant Int* ,2012; 25, 592–602.
140. Lawen JG, Davies EA, Mourad G, Oppenheimer F, Molina MG, Rostaing L, et al. Randomized double-blind study of immunoprophylaxis with basiliximab, a chimeric anti-interleukin-2 receptor monoclonal antibody, in combination with mycophenolate mofetil-containing triple therapy in renal transplantation. *Transplantation* ,2003,75, 37–43.
141. Lebranchu Y, Baan C, Biancone L. *Transpl Int*. Pretransplant identification of acute rejection risk following kidney transplantation. *Transpl Int.* , 2014,27(2),129-138.
142. Lefaucheur C, Loupy A, Vernerey D, et al. Antibody-mediated vascular rejection of kidney allografts: A population-based study. *Lancet* 2013, 381, 313–319.
143. Lefaucheur C, Suberbielle-Boissel C, Hill GS, Nochy D, Andrade J, Antoine C, et al. Clinical relevance of preformed HLA donor-specific antibodies in kidney transplantation. *Am J Transplant*. 2008,8(2),324–331.
144. Liefeldt L, Brakemeier S, Glander P, Waiser J, Lachmann N, Schönemann C, et al. Donor-specific HLA antibodies in a cohort comparing everolimus with cyclosporine after kidney transplantation. *Am J Transplant* ,2012, 12(5), 1192-1198.
145. Lim WH, Chadban SJ, Clayton P, Budgeon CA, Murray K, SB,Cohney S, Russ GR, McDonald SP. Human leukocyte antigen mismatches associated with increased risk of rejection, graft failure, and death independent of initial immunosuppression in renal transplant recipients. *Clin Transplant* 2012,2, E428–E437,
146. Lim WH1, Chapman JR, Wong G. Peak panel reactive antibody, cancer, graft, and patient outcomes in kidney transplant recipients. *Transplantation*. 2015 ,99(5), 1043-1050.
147. Lo P, Sharma A, Craig JC, Wyburn K, Lim W, Chapman JR, Palmer SC, Strippoli GF, Wong G. Preconditioning Therapy in ABO-Incompatible Living Kidney Transplantation: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Transplantation*. 2016 Apr; 100(4): 933-942.

148. Loupy, M. Haas, K. Solez, L. Racusen, et al. The Banff 2015 Kidney Meeting Report: Current Challenges in Rejection Classification and Prospects for Adopting Molecular Pathology .*American Journal of Transplantation*,2017,17(1), 28–41.
149. Lu Huber, Nils Lachmann,Michael Dürr, Mareen MatzL, et al. Identification and Therapeutic Management of Highly Sensitized Patients Undergoing Renal Transplantation.*July 2012*, 72(10) 1335–1354.
150. Madelon van Agteren, Willem Weimar, Annelies E. de Weerd, Peter A. W. te Boekhorst, Jan N. M. Ijzermans, Jaqueline van de Wetering, and Michiel G. H. Betjes The First Fifty ABO Blood Group Incompatible Kidney Transplantations: The Rotterdam Experience. *J Transplant*,2014; 2014: 913902.
151. Maes B, Hadaya K, de Moor B, et al. Severe diarrhea in renal transplant patients: results of the DIDACT study. *Am J Transplant* 2006; 6(6),1466-1472.
152. Manfe, K. C., M. M. Joffe, H. I. Feldman. Dialysis prior living donor kidney transplantation and rate of acute rejection. *Nephrol Dial Transplantation*, 2003, 18(1), 172-177.
153. Maripuri S, Kasiske BL. The role of mycophenolate mofetil in kidney transplantation revisited. *Transplant Rev (Orlando)* 2014 ,28(1), 26-31.
154. Marfo K, Lu A, Ling M, et al. Desensitization protocols and their outcome. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011, 6 (4), 922–36.
155. Mathis AS, Egloff G, Ghin HL. Calcineurin inhibitor sparing strategies in renal transplantation, part one: late sparing strategies. *World J Transplant* 2014,4(2), 57-80.
156. Mary AnnLim. Immunosuppression for kidney transplantation: Where are we now and where are we going. *Transplantation Reviews*,2017,31(1), 10-17.
157. Mauiyyedi S, Crespo M, Collins AB, et al. Acute humoral rejection in kidney transplantation: II. Morphology, immunopathology, and pathologic classification. *J Am Soc Nephrol* 2002, 13(3), 779–787.
158. Meier-Kriesche HU, Schold JD, Srinivas TR, Kaplan B. Lack of improvement in renal allograft survival despite a marked decrease in acute rejection rates over the most recent era. *Am J Transplant* 2004, 4(3), 378–383.
159. Meier-Kriesche, H. U., A. O. Ojo, J. A. Hanson et al. Increased impact of acute rejection chronic allograft failure in recent era. *Transplantation*, 2000, 70(7), 1098-1100.

160. McDonald S, Russ G, Campbell S, Chadban S. Kidney transplant rejection in Australia and New Zealand: relationships between rejection and graft outcome. *Am J Transplant* 2007,7,1201–1208.
161. Montgomery RA, Lonze BE, King KE, et al. Desensitization in HLA-incompatible kidney recipients and survival. *N Eng J Med* 2011; 365 (4), 318–26.
162. Murakami N, Riella LV, Funakoshi T. Risk of metabolic complications in kidney transplantation after conversion to mTOR inhibitor: a systematic review and meta-analysis. *Am J Transplant* 2014, 14(10), 2317-2327.
163. Lefaucheur C, Loupy A, Hill GS, et al. Preexisting donorspecific HLA antibodies predict outcome in kidney transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2010, 21 (8),1398-1406.
164. Loupy A, Vernerey D, Tinel C, *et al.* Subclinical rejection phenotypes at 1 year post-transplant and outcome of kidney allografts. *J Am Soc Nephrol* 2015, 26,1721–1731.
165. Loupy A, Suberbielle-Boissel C, Hill GS, Lefaucheur C, Anglicheau D, Zuber J, et al. Outcome of subclinical antibody-mediated rejection in kidney transplant recipients with preformed donor-specific antibodies. *Am J Transplant.* 2009 ,9(11),2561–2570.
166. Maria Shipkova, Dennis A. Hesselink, David W. Holt, et al. Therapeutic Drug Monitoring of Everolimus, *Therapeutic Drug Monitoring*, 2016, 38(2), 143-169.
167. Meier-Kriesche, H. U., A. O. Ojo, J. A. Hanson et al. Increased impact of acute rejection chronic allograft failure in recent era. *Transplantation*, 2000, 70(7), 1098-1100.
168. Mange, K. C., M. M. Joffe, H. I. Feldman. Dialysis prior living donor kidney transplantation and rate of acute rejection. *Nephrol Dial Transplantation*, 2003, 18(1), 172-177.
169. Martins PN, Tullius SG,Markmann JF. Immunosenescence and immune response in organ transplantation. *Int Rev Immunol* 2014, 33 162–173.
170. Meier-Kriesche HU, Arndorfer JA, Kaplan B) The impact of body mass index on renal transplant outcomes: a significant independent risk factor for graft failure and patient death. *Transplantation* 2002,73(1),70–74.

171. Mikhalski D, Wissing KM, Ghisdal L, et al. Cold ischemia is a major determinant of acute rejection and renal graft survival in the modern era of immunosuppression. *Transplantation* 2008,85,(7S), S3–9.
172. Montgomery RA, Locke JE, King KE, et al. ABO incompatible renal transplantation: A paradigm ready for broad implementation. *Transplantation*. 2009; 87,1246- 1255.
173. Montgomery RA, Lonze BE, King KE, et al. Desensitization in HLA-incompatible kidney recipients and survival. *N Engl J Med* 2011,365,318–326.
174. Montgomery RA, Zachary AA, Racusen LC, et al. Plasmapheresis and intravenous immune globulin provides effective rescue therapy for refractory humoral rejection and allows kidneys to be successfully transplanted into cross-match-positive recipients. *Transplantation* 2000; 70 (6), 887–895.
175. Mojgan Jalalzadeh, N. Mousavinasab, S. Peyroniq et al. The Impact of Acute Rejection in Kidney Transplantation on Long-Term Allograft and Patient Outcome, *Nephrourol Mon.* 2015 ,7(1).
176. Mahmoud Kamel, Manish Kadian, Tittle Srinivas, et al. Tacrolimus confers lower acute rejection rates and better renal allograft survival compared to cyclosporine. *World J Transplant.* 2016 6(4), 697–702.
177. Mota A, Figueiredo A, CunhaMF, Bastos M, Pratas J, Furtado L. Risk factors for acute rejection in 806 cyclosporine-treated renal transplants: a multivariate analysis. *Transplant Proc* 2003, 35, 1061–1063.
178. Nankivell BJ, Borrows RJ, Fung CL, O'Connell PJ, Chapman JR, Allen RD. Calcineurin inhibitor nephrotoxicity: longitudinal assessment by protocol histology. *Transplantation* 2004, 78(4), 557-565.
179. Noël C, Abramowicz D, Durand D, et al. Daclizumab versus antithymocyte globulin in high-immunological-risk renal transplant recipients. *J Am Soc Nephrol* 2009,20,1385–1392.
180. Ntokou IS, Iniotaki AG, Kontou EN, et al. Long-term follow up for anti-HLA donor specific antibodies postrenal transplantation: high immunogenicity of HLA class II graft molecules. *Transpl Int* 2011, 24 (11), 1084–93.
181. NV Rekers, JW de Fijter, FHJ Claas, M Eikmans -Mechanisms and risk assessment of steroid resistance in acute kidney transplant rejection *Transplant Immunology*, 2016 ,38, 3-14.

182. Oettl T, Halter J, Bachmann A, *et al.* ABO blood group-incompatible living donor kidney transplantation: a prospective, single-centre analysis including serial protocol biopsies. *Nephrol Dial Transplant* 2009,24(1), 298-303.
183. Okumi M, Toki D, Nozaki T, *et al.* ABO-incompatible living kidney transplants: evolution of outcomes and immunosuppressive management. *Am J Transplant* 2016,16,886–896.
184. Oliver Witzke, Claudia Sommerer, Wolfgang Arns, Everolimus immunosuppression in kidney transplantation: What is the optimal strategy?, *Transplantation Reviews*, 2016, 30(1), 3-12.
185. Olivier Toupance, Marie-Cécile, Bouedjoro-Camus, *et al.* Cytomegalovirus-related disease and risk of acute rejection in renal transplant recipients: a cohort study with case-control analyses. *Transpl. International* ,2000 13( 6), 413–419.
186. Opelz G, Dohler B. Influence of immunosuppressive regimens on graft survival and secondary outcomes after kidney transplantation. *Transplantation* 2009, 87, 795–802.
187. Orandi BJ, Chow EH, Hsu A, *et al.* Quantifying renal allograft loss following early antibody-mediated rejection. *Am J Transplant* 2015, 15(2), 489-498.
188. Orandi BJ, Garonzik-Wang JM, Massie AB, *et al.* Quantifying the risk of incompatible kidney transplantation: a multicenter study. *Am J Transplant* 2014,14(7),1573–1580.
189. Oriane Hanssen, Pauline Erpicum, Pierre Lovinfosse, *et al.* Non-invasive approaches in the diagnosis of acute rejection in kidney transplant recipients. Part I. In vivo imaging methods . *Clin Kidney J* 2017, 10 (1), 97-105.
190. O'Shaughnessy MM, Liu S, Montez-Rath ME *et al.* Kidney Transplantation Outcomes across GN Subtypes in the United States 2017 ,28(2),632-644.
191. Otten HG, Verhaar MC, Borst HP, Hené RJ, van Zuilen AD. Pretransplant donorspecific HLA Class-I and class-II antibodies are associated with an increased risk for kidney graft failure. *Am J Transplant* 2012,12(6), 1618–1623.
192. Pallardó Mateu LM, Sancho Calabuig A, Capdevila Plaza L, Franco Esteve A. Acute rejection and late renal transplant failure: risk factors and prognosis. *Nephrol Dial Transplant* 2004, 19(3),38-42.

193. Palepu S, Prasad GV. New-onset diabetes mellitus after kidney transplantation: Current status and future directions. *World J Diabetes*, 2015, 6(3), 445-455.
194. Palmer SC, Navaneethan SD, Craig JC et al. HMG CoA reductase inhibitors (statins) for kidney transplant recipients. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014 ,28(1), CD005019.
195. Pascual J. Steroid avoidance or withdrawal in kidney transplantation. *Curr Opin Organ Transplant* 2011, 16(6), 600-605.
196. Pascual J, Royuela A, Galeano C, Crespo M, Zamora J. Very early steroid withdrawal or complete avoidance for kidney transplant recipients: a systematic review. *Nephrol Dial Transplant* 2012, 27(2), 825–832.
197. Pascual J, van Hooff JP, Salmela K, Lang P, Rigotti P, Budde K. Three-year observational follow-up of a multicenter, randomized trial on tacrolimus-based therapy with withdrawal of steroids or mycophenolate mofetil after renal transplant. *Transplantation* 2006, 82(1), 55-61.
198. Pauline Erpicum, Oriane Hanssen, et al. Non-invasive approaches in the diagnosis of acute rejection in kidney transplant recipients, part II: omics analyses of urine and blood samples. *Clin Kidney J* ,2017, 10 (1), 106-115.
199. Pollinger HS, Stegall MD, Gloor JM, Moore SB, DeGoey SR, Ploeger NA, et al. Kidney transplantation in patients with antibodies against donor HLA class II. *Am J Transplant*. 2007 7(4), 857–863.
200. Ponticelli C, Coppo R, Salvadori M. Glomerular diseases and transplantation: similarities in pathogenetic mechanisms and treatment options. *Nephrol Dial Transplant*. 201, 26(1), 35-41.
201. Port FK, Bragg-Gresham JL, Metzger RA et al. Donor characteristics associated with reduced graft survival: an approach to expanding the pool of kidney donors. *Transplantation*, 2002, 74(9), 1281-1286.
202. Pratschke J, Dragun D, Hauser IA et al. Immunological risk assessment: The key to individualized immunosuppression after kidney transplantation. *Transplant Rev (Orlando)*. 2016 ,30(2), 77-84.

203. Proust B, Kennel A, Ladriere M, et al. Unexpected anti-HLA-DR and -DQ alloantibodies after nephrectomy of an HLA-DR and -DQ identical first renal transplant. *Transpl Immunol* 2009, 21 (3), 166–168.
204. Øien CM, Reisaeter AV, Leivestad T, Dekker FW, Line PD, Os I. Living donor kidney transplantation: the effects of donor age and gender on short- and long-term outcomes. *Transplantation* 2007, 83(5), 600-606.
205. Quiroga I, McShane P, Koo DD, et al. Major effects of delayed graft function and cold ischaemia time on renal allograft survival. *Nephrol Dial Transpl* 2006, 21(6), 1689-1696.
206. Racusen LC, Haas M. Antibody-mediated rejection in renal allografts: lessons from pathology. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2006,1(3),415-420.
207. R. Panek, KK Tennankore, BA Kiberd .Incidence, etiology, and significance of acute kidney injury in the early post-kidney transplant period. *Clinical transplantation, Clin Transplant*. 2016 ,30(1),66-70.
208. Ralf Schiel ,Sebastian Heinrich,Thomas Steiner et al. Post-transplant diabetes mellitus: risk factors, frequency of transplant rejections, and long-term prognosis. *Clinical and Experimental Nephrology*, 2005, 9(2), 164–169.
209. Rama I, Grinyo JM. Malignancy after renal transplantation: the role of immunosuppression. *Nat Rev Nephrol* 2010, 6, 511-519.
210. Rana, A., Murthy, B., Pallister, Z. et al. Profiling risk for acute rejection in kidney transplantation: recipient age is a robust risk factor. *J Nephrol* 2016 ,1–10.
211. Rao PS, Schaubel DE, Wei G, Fenton SS. Evaluating the survival benefit of kidney retransplantation. *Transplantation*, 2006,82(5),669-674.
212. Remuzzi G, Lesti M, Gotti E, Ganeva M, Dimitrov BD, Ene-lordache B, et al. Mycophenolate mofetil versus azathioprine for prevention of acute rejection in renal transplantation (MYSS): a randomised trial. *Lancet* 2004, 364, 503–512.
213. Riella LV, Safa K, Yagan J, et al. Long-term outcomes of kidney transplantation across a positive complement-dependent cytotoxicity crossmatch. *Transplantation* 2014, 97, 1247–1252.

214. Roberto Marcén. Immunosuppression and renal transplant rejection: review of current and emerging therapies *Clinical Investigation*, 2011, 1(6), 859–877.
215. Roberto S. Kalil, MD, Charles F. Lynch, MD, PhD et al. Risk of Cancer in Retransplants Compared to Primary Kidney Transplants in the United States *Clin Transplant*. 2015, 29(10), 944–950.
216. Roodnat JI, Hilbrands LB, Hene RJ, et al. 15-year follow-up of a multicenter, randomized, calcineurin inhibitor withdrawal study in kidney transplantation. *Transplantation* 2014, 98(1), 47-53.
217. Rubin Zhang. Modern Immunosuppressive therapy in Kidney Transplantation. *OJOTS*, 2013, 3(2), 22-31.
218. Ryan J. Goldberg, MD, Francis L. Weng, Praveen Kandula. Acute and Chronic Allograft Dysfunction in Kidney Transplant Recipients. *Medical Clinics of North America*, 2016, 98(1), 487–503.
219. Sagedal S, Nordal KP, Hartmann A, et al. The impact of cytomegalovirus infection and disease on rejection episodes in renal allograft recipients. *Am J Transplant* 2002, 2(9), 850–856.
220. Samir J. Patel, Wadi N. Suki, Jennifer Loucks-DeVos, et al. Disparate rates of acute rejection and donor-specific antibodies among high-immunologic risk renal transplant subgroups receiving antithymocyte globulin induction. *Transplant International*, 2016, 29, (8), 897–908.
221. Sasaki N, Idica A. The HLA-matching effect in different cohorts of kidney transplant recipients: 10 years later. *Clin Transpl* 2010, 1, 261–282,
222. Sautenet B, Blancho G, Büchler M, et al. One-year results of the effects of rituximab on acute antibody-mediated rejection in renal transplantation: RITUX ERAH, a multicenter double-blind randomized placebo-controlled trial. *Transplantation*. 2015, 100(2), 391–399.
223. Sawinski D, Forde KA, Trofe-Clark J, et al. Persistent BK viremia does not increase intermediate-term graft loss but is associated with de novo donor-specific antibodies. *J Am Soc Nephrol*, 2015, 26, 966–975.
224. Schold JD, Srinivas TR, Braun WE et al. The relative risk of overall graft loss and acute rejection among African American renal transplant recipients is attenuated with advancing age. *Clin Transplant*, 2011, 25, 721–730.

225. Sharif A, Kraus ES, Zachary AA, et al. Histologic phenotype on 1-year posttransplantation biopsy and allograft survival in HLA-incompatible kidney transplants. *Transplantation* ,2014,97, 541–547.
226. Shin S, Kim YH, Choi BH, et al. Long-term impact of human leukocyte antigen mismatches combined with expanded criteria donor on allograft outcomes in deceased donor kidney transplantation. *Clin Transplant* ,2015,29,44–51.
227. Sellarés J, de Freitas DG, Mengel M, et al. Understanding the causes of kidney transplant failure: the dominant role of antibody-mediated rejection and nonadherence. *Am J Transplant*, 2012,12,388–399.
228. Sharif A, Kraus ES, Zachary AA, et al. Histologic phenotype on 1-year posttransplantation biopsy and allograft survival in HLA-incompatible kidney transplants. *Transplantation* ,2014, 97, 541–547.
229. Sijpkens, Y. W., I. I. Doxiadis, M. J. Mallat et al. Early versus late acute rejection episodes in renal transplantation. *Transplantation*, 2003, 75, 204-208.
230. Silva HT Jr, Yang HC, Abouljoud M, et al. One-year results with extended-release tacrolimus/MMF, tacrolimus/MMF and cyclosporine/MMF in de novo kidney transplant recipients. *Am J Transplant* 2007, 7(3), 595-608.
231. Sollinger H, Kaplan B, Pescovitz MD et al. Basiliximab versus antithymocyte globulin for prevention of acute renal allograft rejection. *Transplantation* 2001,72(12),1915–1919.
232. Srinivas TR, Meier-Kriesche HU. Minimizing immunosuppression, an alternative approach to reducing side effects: objectives and interim result. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008; 3(2),101-116.
233. Srinivas TR, Kaplan B, Meier-Kriesche HU. Mycophenolate mofetil in solid-organ transplantation. *Expert Opin Pharmacother* 2003; 4(12), 2325-2345.
234. Stegall MD, Raghavaiah S, Gloor JM. The [re]emergence of B cells in organ transplantation. *Curr Opin Organ Transplant* 2010; 15 (4), 451–455.
235. Steven J. Chadban, Josette Marie Eris, John Kanellis, et al and on behalf of the SOCRATES Study Group. A randomized, controlled trial of everolimus-based dual immunosuppression versus standard of care in *de novo* kidney transplant recipients. *Transplant International* 2014, 27( 3), 302–311.
236. Sureshkumar KK, Thai NL, Hussain SM, Ko TY, Marcus RJ. Influence of induction modality on the outcome of deceased donor kidney transplant recipients

- discharged on steroid-free maintenance immunosuppression. *Transplantation*,2012,93(8),799–805.
237. Tait BD, Susal C, Gebel HM, *et al.* Consensus guidelines on the testing and clinical management issues associated with HLA and non-HLA antibodies in transplantation. *Transplantation*, 2013, 95(1), 19–47.
238. Tanriover B, Zhang S, MacConmara M, *et al.* Induction therapies in live donor kidney transplantation on tacrolimus and mycophenolate with or without steroid maintenance. *Clin J Am Soc Nephrol* 2015,10,1041–1049.
239. Tedesco-Silva Jr H, Cibrik D, Johnston T, *et al.* Everolimus plus reduced-exposure.CsA versus mycophenolic acid plus standard-exposure CsA in renal-transplant recipients.*Am J Transplant* 2010,10,(6),1401–1413.
240. TB Dunn, H Noreen, K Gillingham *et al* Revisiting Traditional Risk Factors for Rejection and Graft Loss after Kidney Transplantation.*Am J Transplant.*, 2011, 11(10), 2132–2143.
241. Tong A, Howell M, Wong G, Webster AC, Howard K, Craig JC. The perspectives of kidney transplant recipients on medicine taking: a systematic review of qualitative studies. *Nephrol Dial Transplant* 2011,26(1),344-354.
242. Troppmann C, Gillingham KJ, Benedetti E *et al* . Delayed graft function, acute rejection, and outcome after cadaver renal transplantation. The multivariate analysis. *Transplantation*,1995, 59(7),962–968 .
243. Tullius SG, Tran H, Guleria I *et al.* The combination of donor and recipient age is critical in determining host immunoresponsiveness and renal transplant outcome. *Ann Surg* 2010,252(4),662–674.
244. Udgiri NR, Kashyap R, Minz M. The impact of body mass index on renal transplant outcomes: a significant independent risk factor for graft failure and patient death. *Transplantation*,2003 ,75(2),249.
245. Vacher-Coponat H, Moal V, Indreies M *et al.* A randomized trial with steroids and antithymocyte globulins comparing cyclosporine/azathioprine versus tacrolimus/mycophenolate mofetil (CATM2) in renal transplantation. *Transplantation*, 2012,93(4),437-443.
246. van Gelder T, Tedesco Silva H, de Fijter JW, Budde K, *et al.* Renal transplant patients at high risk of acute rejection benefit from adequate exposure to mycophenolic acid. *Transplantation.*,2010,89(5),595-599.

247. Vasil Peev, Jochen Reiser, Nada Alachkar . Diabetes Mellitus in the Transplanted Kidney. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2014, 5,141.
248. Venetz JP, Pascual M. New treatments for acute humoral rejection of kidney allografts. *Expert Opin Investig Drugs*. 2007, 16, 625–633.
249. Verena Broecker and Michael Mengel. The significance of histological diagnosis in renal allograft biopsies in 2014. *Transplant International*, 2015, 28(2), 136-145.
250. Vincenti F, Schena FP, Paraskevas S et al. A randomized, multicenter study of steroid avoidance, early steroid withdrawal or standard steroid therapy in kidney transplant recipients. *Am J Transplant* ,2008, 8(2), 307-316.
251. Vincenti F, Friman S, Scheuermann E, et al. Results of an international, randomized trial comparing glucose metabolism disorders and outcome with cyclosporine versus tacrolimus. *Am J Transplant* 2007, 7(6), 1506-1514.
252. Vincenti F, Kirkman R, Light S, et al. Interleukin-2-receptor blockade with daclizumab to prevent acute rejection in renal transplantation. Daclizumab Triple Therapy Study Group. *N Engl J Med*. 1998 ,338,161-165.
253. Vítko S, Klinger M, Salmela K, Włodarczyk Z, Tydèn G, Senatorski G, et al. Two corticosteroid-free regimens-tacrolimus monotherapy after basiliximab administration and tacrolimus/mycophenolate mofetil in comparison with a standard triple regimen in renal transplantation: results of the atlas study. *Transplantation*, 2005,80(12),1734–1741.
254. Vítko S, Margreiter R, Weimar W et al. Three-year efficacy and safety results from a study of everolimus versus mycophenolate mofetil in de novo renal transplant patients. *Am J Transplant*, 2005,5(10),2521–2530.
255. Wallemacq P, Armstrong VW, Brunet M, et al. Opportunities to optimize tacrolimus therapy in solid organ transplantation: report of the European consensus conference. *Ther Drug Monit* 2009, 31(2), 139.
256. Womer K. and H. Rabb. Immunosuppressive medication in kidney transplantation. In: *Comprehensive clinical nephrology*, 4<sup>th</sup> edition, Elsevier Saunders, ed. by J. Floege, R. J. Johnson and J. Feehaly, 1134-1141, 2010, St. Louis.
257. Wong G, Teixeira-Pinto A, Chapman JR et al. The Impact of Total Ischemic Time, Donor Age and the Pathway of Donor Death on Graft Outcomes After

- Deceased Donor Kidney Transplantation. *Transplantation*. 2017 ,101(6),1152-1158.
258. Wongsaroj P, Kahwaji J, Vo A, Jordan SC. Modern approaches to incompatible kidney transplantation. *World J Nephrol* 2015,4,354–462.
259. Wiseman AC. Prophylaxis and Treatment of Kidney Transplant Rejection. In: *Comprehensive Clinical Nephrology*, 4<sup>th</sup> edition, USA, Saunders Elsevier, 2010,1166 – 1176.
260. Wu, Kaiyin; Budde, Klemens; Lu, Huber; et al. The Severity of Acute Cellular Rejection Defined by Banff Classification Is Associated With Kidney Allograft Outcomes. *Transplantation*, 2014, 97(11), 1146–1154.
261. Vajdic CM, McDonald SP, McCredie MRE et al. Cancer Incidence Before and After Kidney Transplantation. *JAMA*. 2006,296(23),2823–2831.
262. Vlaminck H, Maes B, Evers G, et al. Prospective study on late consequences of subclinical non-compliance with immunosuppressive therapy in renal transplant patients. *Am J Transplant* ,2004, 4(9), 1509-1513.
263. Vo AA, Sinha A, Haas M, et al. Factors predicting risk for antibody-mediated rejection and graft loss in highly human leukocyte antigen sensitized patients transplanted after desensitization. *Transplantation* ,2015,9,1423–1430.
264. W Chon, DC Brennan, B Murphy, AM Sheridan , Acute Renal allograft rejection: treatment - 2012 - uptodate.com.
265. W. H. Lim, J. Eris, J. Kanellis, B. Pussell, Z. Wiid, D. Witcombe and G. R. Russ . A Systematic Review of Conversion From Calcineurin Inhibitor to Mammalian Target of Rapamycin Inhibitors for Maintenance Immunosuppression in Kidney Transplant Recipients. *American Journal of Transplantation*,2014, 14(9), 2106–2119.
266. Wai H. Lim, Jeremy R. Chapman, Patrick T. et al. HLA-DQ. Mismatches and Rejection in Kidney Transplant Recipients. *CJASN* 2016 ,11, (5) ,759-760.
267. Webster AC, Woodroffe RC, Taylor RS. et al. Tacrolimus versus ciclosporin as primary immunosuppression for kidney transplant recipients: meta-analysis and meta-regression of randomised trial data. *BMJ* ,2005, 331,810.

268. Weir MR, Mulgaonkar S, Chan L, et al. Mycophenolate mofetil-based immunosuppression with sirolimus in renal transplantation: a randomized, controlled Spare-the-Nephron trial. *Kidney Int*, 2011,79(8), 897-907.
269. Wiebe C, Gibson IW, Blydt-Hansen TD, et al. Evolution and clinical pathologic correlations of de novo donor-specific HLA antibody post kidney transplant. *Am J Transplant* ,2012,12(5), 1157-1167.
270. Willicombe M, Roufosse C, Brookes P, et al. Acute cellular rejection: impact of donor-specific antibodies and C4d. *Transplantation* ,2014,97,433–439.
271. Willoughby LM, Schnitzler MA, Brennan DC, et al. Early outcomes of thymoglobulin and basiliximab induction in kidney transplantation: Application of statistical approaches to reduce bias in observational comparisons. *Transplantation* ,2009,87, 1520–1529.
272. Womer K. and H. Rabb. Immunosuppressive medication in kidney transplantation. In: *Comprehensive clinical nephrology*, 4<sup>th</sup> edition, Elsevier Saunders, ed. by J. Floege, R. J. Johnson and J. Feehaly, 1134-1141, 2010, St. Louis.
273. Woodle ES, First MR, Pirsch J, Shihab F, Gaber AO, Van Veldhuisen P. A prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled multicenter trial comparing early (7 day) corticosteroid cessation versus long-term, low-dose corticosteroid therapy. *Ann Surg* ,2008, 248(4), 564-577.
274. Wu WK, Famure O, Li Y, Kim SJ. Delayed graft function and the risk of acute rejection in the modern era of kidney transplantation. *Kidney Int.*, 2015, 88(4), 851-858.
275. Wiebe C, Pochinco D, Blydt-Hansen TD, et al. Class II HLA epitope matching-A strategy to minimize de novo donor-specific antibody development and improve outcomes. *Am J Transplant* , 2013, 13,3114–3122.
276. Yango A, Gohh R, Wang LJ, Morrissey P et al. The utility of 6-month protocol renal biopsy under modern immunosuppression. *Clin Nephrol.*, 2008 ,70(6),490-495.
277. Yihung Huang, Anca Tilea, Brenda Gillespie et al. Understanding Trends in Kidney Function 1 Year after Kidney Transplant in the United States. *JASN* 2017,7.

278. Yvon Lebranchu, Carla Baa, Luigi Biancone et al .Pretransplant identification of acute rejection risk following kidney transplantation. *Transplant International*,2014,27(2), 129–138.
279. Zachary AA, Montgomery RA, Ratner LE, et al. Specific and durable elimination of antibody to donor HLA antigens in renal-transplant patients. *Transplantation* ,2003, 76 (10),1519–1525.
280. Zhang Q, Reed EF. The importance of non-HLA antibodies in transplantation. *Nat Rev Nephrol*, 2016, 12, 484–495.

## 10. СПИСЪК НА ПУБЛИКАЦИИТЕ

1. М. Петрова, Т. Методиева, Ж. Филипов, Б. Златков, В. Стаменова, Л. Христова, М. Лубих, М. Ортова, М. Димитров, М. Мемедовска, Е. Паскалев. Зачимост за честотата на острите реакции на отхвърляне на различните имunosупресивни комбинации. Нефрология, диализа и трансплантация, год. 23, бр. 1, 2017 г.

2. 1 М. Петрова, Т. Методиева, Ж. Филипов, Б. Златков, В. Стаменова, Л. Христова, М. Лубих, М. Ортова, М. Димитров, Е. Паскалев. Честота на острите реакции на отхвърляне и антитяло базирана индукционна терапия при бъбречно трансплантирани пациенти. Нефрология, диализа и трансплантация, год. 23, бр. 1, 2017 г.

3. Vera Stamenova, Maya Petrova, Tanya Metodieva, Borelli Zlatkov, Jean Filipov, Martin Lubih, Emil Paskalev. Proteinuria, ACE inhibitor or angiotensin II receptor blocker and survival in kidney transplant recipients in Bulgaria. International Journal of Current Research, 2017, 9(02), 47060-47072.

## 11.УЧАСТИЯ В НАУЧНИ ФОРУМИ И КОНГРЕСИ

1.Национална конференция по нефрология,18-20 октомври 2013 г,х-л Хисар,грХисаря.М.Петрова,Б.Златков,Ж.Филипов,М.Димитров,М.Ортова,Д.Генов.Допълнителни ефекти от Уронат при лечение на уроинфекции./постер/

2.Национална конференция по нефрология,18-20 октомври 2013 г,х-л Хисаря ,гр Хисаря.М.Петрова,Е.Паскалев,Б.Златков,М.Димитров,Ж.Филипов,М.Ортова , Д.Генов,Л.Христова.Честотата на остроото отхвърляне при трансплантирани пациенти и първична индукция с моноклонални антитела.

3.Национална конференция по нефрология,13.10.2016-16.10.2016г,хотел Фламинго,КК.“Албена“.М.Петрова,Е.Паскалев,Б.Златков,Т.Методиева.Анемичен синдром при бъбречно трансплантирани пациенти.

4.Национална конференция по нефрология 28.09-01.10.2017г, хотел Фламинго,КК.“Албена“.М.Петрова,Е.Паскалев,Б.Златков,Т.Методиева,Л.Христова,Ж.Филипов. Честота на острите реакции на отхвърляне и антитяло базирана индукционна терапия при бъбречно трансплантирани пациенти.

5. Национална конференция по нефрология 28.09-01.10.2017г, хотел Фламинго,КК.“Албена“.М.Петрова,Е.Паскалев,Б.Златков,Т.Методиева,Л.Христова,Ж.Филипов.Значимост за честотата на острите реакции на отхвърляне на приложението на m-TOR инхибитори..

