МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ
КАТЕДРА ПО РЕВМАТОЛОГИЯ
КЛИНИКА ПО РЕВМАТОЛОГИЯ

Д-р Цветелина Димитрова Йонева

ANCA ВАСКУЛИТИ – КЛИНИКОИМУНОЛОГИЧНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ И ПРОТИЧАНЕ СРЕД БЪЛГАРСКАТА ПОПУЛАЦИЯ

АВТОРЕФЕРАТ

ЗА ПРИСЪЖДАНЕ НА ОБРАЗОВАТЕЛНА И НАУЧНА СТЕПЕН „ДОКТОР“

Научен ръководител: доц. д-р Иван Йорданов Шейтанов, д.м.
Консултант: проф. д-р Рашо Колев Рашков, д.м.н.

София, 2025 г.

За придобиване на ОНС „Доктор“ в сферата на висшето образование 7. По професионално направление „Здравеопазване и спорт“ 7.1.“Медицина“, научна специалност „Ревматология“

Дисертационният труд е написан на 318 стандартни страници, онагледен е със 71 таблици, 27 фигури, 5 графики и 12 приложения. Литературната справка включва 369 заглавия.

Във връзка с дисертационния труд са направени 6 публикации, от които 1 с импакт фактор, 4 участия в научни форуми и конференции.

Дисертационният труд е обсъден на заседание на Катедрата по ревматология към Медицински университет – София, на 27.02.2025 г., и е насочен за представяне пред научно жури. Защитата на дисертационния труд ще се състои на 18.06.2025 г. от 13,30 ч. в Аулата на УМБАЛ „Св. И. Рилски“ ЕООД, гр. София.

Научно жури:

1. Доц. Цветанка Петрова Петранова, дм – вътрешен член за МУ – София, Катедра по ревматология на Медицински факултет при МУ – София
2. Доц. д-р Радостина Влаева Чернева, дм – вътрешен член за МУ – София, Катедра по белодробни болести на Медицински факултет при МУ – София
3. Проф. д-р Анастас Згуров Баталов, дм – външен член за МУ – София, Катедра по пропедевтика на вътрешните болести на Медицински факултет при МУ – Пловдив
4. Проф. д-р Росица Валериева Каралилова, дмн – външен член за МУ – София, Катедра по пропедевтика на вътрешните болести на Медицински факултет при МУ – Пловдив
5. Проф. д-р Любомир Маринов Маринчев, дм – външен член за МУ – София, Катедра по вътрешни болести при Софийски университет „Св. Кл. Охридски“

Резервни членове:

1. Проф. Деян Тонев Желев, дм – Катедра по вътрешни болести към МФ на МУ – София
2. Проф. Мариела Генчева Генева-Попова, дм – Катедра по пропедевтика на вътрешните болести към МУ – Пловдив

СЪДЪРЖАНИЕ

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ.....5
I. УВОД 7
II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ 10
III. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ.....11
IV. РЕЗУЛТАТИ.....16
1. Нозологична структура на васкулитите, наблюдавани в Клиниката по ревматология 16
1.1. Анализ на нозологичната принадлежност на болните с васкулит в текущата ревматологична практика.....16
1.2. Анализ на нозологичната принадлежност на болните с васкулит с некрози 17
1.3. Анализ на нозологичната принадлежност на болните с AAV в практиката на Клиниката.....19
2. Честота на сериозни инфекции в хода на AAV 19
2.1. Рискови фактори за сериозни инфекции 20
2.2. Основни патогенни микроорганизми 21
2.3. Асоциация между перинуклеарните ANCA и инфекциите.....21
3. Анализ на клиничното протичане и органната локализация при различните AAV в българската популация 22
3.1. Сравнителен анализ на засягането на горните дигателни пътища и белия дроб при отделните ANCA асоцирани васкулити 22
3.2. Сравнителен анализ на бъбречното засягане при отделните ANCA асоциирани васкулити 31
3.3. Клинични прояви извън ГДП, бял дроб и бъбрек при AAV 40
4. Профилограми на протичане на отделните AAV и на PAN 44
4.1. Профилограми на протичане при GPA.....46
4.2. Профилограми на протичане при MPA 46
4.3. Профилограми на протичане при EGPA 47
4.4. Профилограми на протичане при PAN..... 47
5. Честота на известните антитела в българската популация с AAV.....47
5.1. Анализ на антителата, разпределени по диагнози 47
5.2. Връзка между тежест на болестта и ANCA 49

5.3. Анализ на антигенната специфичност на ANCA 50
5.4. Честота на други антитела, типични за колагенози и AAV 52
5.5. Сравнение на антителата при PAN и MPA 53
6. Имунологични асоциации на клиника, локализации и протичане при различните антитела в българската популация 53
6.1. Разлики в протичането между пациентите с anti-PR3 и с anti-MPO.....53
6.2. Анализ на групата с anti-PR3 + antiMPO 57
6.3. Грануломатозно възпаление и васкулитни прояви при отделните ANCA 57
7. Анализ на различни терапевтични режими при болни с AAV.....57
7.1. Анализ на видовете режими на лечение 57
7.2. Анализ на проведеното лечение за индукция на ремисия по диагнози 60
7.3. Анализ на проведеното лечение според типа на антителата 62
7.4. Анализ на органна локализация и проведено лечение 63
7.5. Анализ на лекуваните с ритуксимаб пациенти 64
8. Анализ на клиничната картина и причините за смърт при починалите пациенти 69
8.1. Фактори, които се асоциират със смъртността 71
8.2. Анализ на основните причини за смърт 74
8.3. Анализ на пациентите, при които е постигната ремисия.....75
8.4. Предиктори на смъртен изход.....76
9. Роля на някои биомаркери в имунопатогенезата на AAV.....77
9.1. Роля на LAMP 2 80
9.2. Нива на плазминоген..... 84
9.3. TNFα и ANCA васкулити 93
9.4. Роля на indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) във възпалителния отговор при AAV.....97
10. Практически насоки и подход при болните с AAV в ревматологичната практика 99
V. ОБСЪЖДАНЕ.....101
VI. ИЗВОДИ 122
VII. ПРИНОСИ.....125
VIII. ПУБЛИКАЦИИ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИЯТА.....127

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

Използвани съкращения на латиница

AAV – ANCA associated vasculitis
ACLA – anti-cardiolipine antibodies
ACR – American College of Rheumatology
AGBMA – anti-glomerular basement membrane antibody
ANA – антинуклеарни антитела
ANCA – anti-neutrophil cytoplasmic antibodies
APC – антиген-представяща клетка
BVAS – Birmingham Vasculitis Activity Score
CHCC – Chapel Hill Consensus Conference
CRP – С-реактивен протеин
CSS – Churg–Stauss syndrome
Cyc – cyclophosphamide
dsDNA – double-stranded deoxyribonucleic acid antigen
EGPA – eosiniphyllic granulomatosis with polyangiitis
ELISA – enzyme-linked immunosorbent assay
ERA-EDTA – Европейска бъбречна асоциация – Европейска асоциация по диализа и трансплантация
EULAR – European League Against Rheumatism
EUVAS – European Vasculitis Study Group
FFS – петфакторен скор
GPA – granulomatosis with polyangiitis
HLA – Humal leucocyte antigen
HRCT (high resolution computer tomography) – високоразделителна компютърна томография
IDO – Indoleamine 2,3-dioxygenase
IL – интерлевкин
LAMP-2 – anti-lysosome-associated membrane protein-2
MHC – главен комплекс на тъканната съвместимост
MPO – myeloperoxidase
NK – natural killer cell

PAN – polyarteritis nodosa
PR3 – proteinase-3
Rit – rituximab
TNF – tumor necrosis factor
WG – Wegener's granulmatosis

Използвани съкращения на кирилица

ГН – гломерулонефрит
ГДП – горни дихателни пътища
ГИТ – гастроинтестинален тракт
ГПА – грануломатоза с полиангиит
ЕГПА – еозинофилна грануломатоза с полиангиит
ИС – имуносупресор
МПА – микроскопски полиангиит
ПАН – полиартеритис нодоза
ПББ – пункционна бъбречна биопсия
ПНС – периферна нервна система
ПСС – прогресивна системна склероза
ПТМП – пулс терапия с метилпреднизолон
ПТЦФ – пулс терапия с циклофосфамид
РФ – ревматоиден фактор
СЗСТ – системно заболяване на съединителната тъкан
СЛЕ – системен лупус еритематодес
ССС – сърдечно-съдова система
СУЕ – скорост на утаяване на еритроцити
ХБН – хронична бъбречна недостатъчност
ХДЛ – хрониодиализа
ЦНС – централна нервна система
ЧСС – Чърг–Страус синдром
ЧМН – черепномозъчни нерви

I. УВОД

Терминът *васкулит*, или *ангиит*, се отнася до множество заболявания, които се характеризират с възпаление на съдовата стена и с последващо тъканно и органно увреждане. Те се различават значително по своята етиопатогенеза, по клиничната си картина, прогноза и терапевтичен режим. Клиничната изява на васкулитите зависи от типа и размера на засегнатите съдове и от тяхната локализация. Диагностиката на васкулитите е съвкупност от клинична картина, хистологична находка и имунни феномени. Едновременно с това трябва да се направи разграничаване и от голямата група на вторичните васкулити, и на т.нар. vasculitis-like синдроми. Голямото разнообразие на васкулитите, липсата на анатомопатологично класифициране, на достатъчно познание за патогенезата им, както и припокриването в клиничната изява, от една страна, между част от тях и от друга, с други системни автоимунни заболявания затруднява в голяма степен ранната диагноза.

Въпреки големия напредък в идентифицирането и разбирането на ANCA васкулитите (AAV) основният им патогенетичен механизъм не е напълно ясен. Антинеутрофилноцитоплазмените антитела (ANCA), насочени срещу протеиназа-3 и миелопероксидаза, играят несъмнено основна роля в патогенезата на AAV. При голяма част от болните не се установяват ANCA, което не изключва диагнозата. В същото време не са установени други сигурни и валидирани биомаркери, които биха я подкрепили. Хистологичната картина е изключително разнообразна, включва широк морфологичен спектър и е различна при отделните органи и видове васкулит, хистопатологични доказателства често липсват. Непрекъснато и интензивно се проучват и установяват нови фактори, които участват в имунопатогенетичните им механизми. Това дава възможности за навлизане на нови биомаркери като потенциални ефективни средства за измерване на болестната активност. Освен че биха помогнали за оценка на активността на заболяването, те може да са полезни за предсказване на клиничния ход и за определяне на ефективността и отговора на терапията.

ANCA асоциираните васкулити по своя характер са некротизиращи, което ги прави особено опасни, защото водят до бърза

деструкция на съдовата стена и органно увреждане, често с ранно развитие на органна недостатъчност. Засягането при AAV е многоорганно, ангажират се таргетно жизнено важни органи, което е свързано с нарушение на качеството на живот на болните и определя висок летален риск. Прогнозата при нелекуваните пациенти е лоша, средната преживяемост след поставяне на диагнозата е пет месеца, 82% от пациентите не преживяват първата година, а 90% умират през втората година.

Разполагаме с ограничени възможности за лечение при широк спектър от разнообразни и променящи се клинични прояви във времето при заболявания с мултиорганно засягане, характеризиращи се с бърз и агресивен ход. Повлияват се добре от лечението с циклофосфамид и ритуксимаб, но то е свързано с повишен риск от инфекции. Често са налице и придружаващи инфекции, които катализират възпалението, но и се явяват лимитиращ фактор за имуносупресивно лечение. След постигане на клинична ремисия са склонни към рецидивиране. Честотата на рецидивите е между 18 и 40%. Не са точно дефинирани ползите и рисковете от провеждане на поддържащо имуносупресивно лечение. Няма единно мнение за неговата продължителност.

Липсват точни данни за биомаркерите, обективизиращи предикторите на прогресия на заболяването, лоша прогноза, повлияване или неповлияване от лечението, както и точни предиктори на рецидив.

При болните с AAV стоят редица нерешени въпроси:

1. Трудности при класифицирането на болните, свързано с липсата на точни критерии за оценка. При сегашните критерии често един и същ болен може да бъде класифициран в няколко различни вида васкулит. В същото време е много важна диференциалната диагноза между отделните AAV и поставянето на максимално точна диагноза, тъй като различните видове васкулит изискват различни терапевтични подходи.

2. Често ГПА и МПА са трудни за различаване.

3. Обикновено ANCA специфичността не се променя в хода на болестта и поради това се поставя въпросът дали разграничаването на AAV не би трябвало да бъде по т.нар. ANCA

серотип. Какви са очакванията за следващото развитие на болестта в двете групи?

4. Съществуват ли разлики между двете групи на анти-PR3 и анти-MPO позитивните пациенти, при които на практика се поставя една и съща диагноза – AAV? Не е ясно кога и къде в организма за първи път ще започнат проявите на грануломатозно възпаление и има ли клинични, имунологични или лабораторни белези, които да играят ролята на предиктори. Няма категорична връзка между специфичността на ANCA и клиничните синдроми.

5. Това дава неяснота в концепцията относно терапевтичния подход при отделните нозологични единици, съотнесени индивидуално към конкретния пациент.

6. Въпреки откриването на нови терапевтични стратегии множество въпроси остават неясни и там. Единият е дали ГКС трябва да останат в ниска доза при пациентите в ремисия, или трябва да бъдат прекратени напълно. Другият е дали пациентите, които никога не са имали рецидив, трябва да бъдат лекувани продължително? На този етап няма достатъчно натрупани данни и за това дали продължителността на поддържащата терапия при MPO-ANCA позитивните пациенти трябва да бъде по-кратка от тази на PR3-ANCA позитивните, поради съществуващите данни за по-ниски нива на релапс при анти-MPO позитивните пациенти. Необходимо е натрупването на още доказателства за безопасност в дългосрочен план при лекуваните с ритуксимаб или циклофосфамид.

За българската популация досега не е провеждан анализ на голяма група болни с ANCA асоциирани васкулити. В резултат на развитието на познанието за тези заболявания, навлизането на нови биомаркери, нови терапии, нови оценки за прогресия и прогноза, с тази дисертация си поставихме за цел да отговорим на някои от споменатите аспекти, касаещи българската популация, като се надяваме разработката да доведе до подобрение в продължителността и качеството на живот при тези пациенти и да може да даде отговори на част от нерешените въпроси до момента.

II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

Цел

Да се направи нозологична и клиникоимунологична характеристика на болните с ANCA асоциирани васкулити, да се анализират различни терапевтични режими при пациенти с ANCA асоциирани васкулити сред българската популация и резултатите от тях, да се определят лошите прогностични фактори и да се дадат практически насоки за поведение при българската популация.

Задачи:

1**.** Да се проучи каква част са AAV от всички васкулити при българската популация и доколко са самостоятелни нозологични единици, и доколко се развиват в хода на друго СЗСТ.

2. Да се изследват честотата и видът на най-честите сериозни инфекции в хода на AAV.

3. Да се анализират клиничното протичане и органната локализация при различните AAV в българската популация.

4. Да се направят профилограми на протичането.

5. Да се проучи честотата на известните антитела и връзката им с активност и тежест.

6. Да се проучат имунологичните асоциации на клиника, локализации с известните антитела в българската популация и прогнозата на болестта.

7. Да се анализират терапевтичните режими и резултатите от терапията при AAV.

8. Да се проучат ролята и значението на някои нови биомаркери при развитието и протичането на AAV.

9. Да се анализират причините за смърт при AAV.

10. Да се определят лошите прогностични фактори при българската популация.

11. Да се изготвят практически насоки и подход при болните с ANCA васкулит в ревматологичната практика.

III. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

1. Материал

1.1. Пациенти: Пациентите са диагностицирани и лекувани в Клиниката по ревматология, УМБАЛ „Св. Иван Рилски" – София. Анализът е проспективен и ретроспективен. Анализирани са пациентите с васкулити, преминали през Клиниката по ревматология за периода 2010-2018 г., проследени са 1703 дни.

В настоящата работа са включени общо 145 пациенти с ANCA асоциирани васкулити. От тях 80 пациенти с грануломатоза на Вегенер, 52 пациенти с МПА, 8 пациенти със синдром на Чърг-Страус и 5-ма пациенти с данни за васкулит и наличие на ANCA, които не можахме да класифицираме към никоя от нозологичните единици въз основа на клиничните и проведените лабораторни, имунологични и инструментални изследвания.

Таблица 1. Демографска характеристика на пациентите с AAV

	Грануломатоза с полиангиит (GPA)	**Микроскопски полиангиит (MPA)**	**Еозинофилия с грануломатоза и полиангиит (EGPA)**	**Некласифицирани**
Брой	80	52	8	5
М:Ж	36:44	20:32	2:6	2:3
Възраст	50.39 (17-76)	53.03 (20-85)	52 (40-70)	51.75 (43-62)

2. Методи

Диагнозата е поставена въз основа на класификационните критерии, създадени от ACR (American College of Rheumatology) (ACR, 1990) и критериите за дефиниция на васкулитите според Chapel Hill Consensus Conference (CHCC). При част от пациентите диагнозата е потвърдена с хистопатологични данни за васкулит от биопсия от подходящ според случая материал: носна лигавица, ФБС, ПББ, КМБ. При поставянето на диагнозата васкулит при системно заболяване на съединителната тъкан са използвани диагностичните критерии за системен лупус еритематодес (СЛЕ) на

ARA, 1982 г.; за прогресивна системна склероза на Mathies (ПСС), 1983 г., за полимиозит на Bohan&Peter, 1975 г.; за ревматоиден артрит (РА) на ACR, 1987 г.

Всички участници бяха информирани за целите на проучването и подписаха информирано съгласие съгласно декларацията от Хелзинки. Проучването беше одобрено от етичната комисия на УМБАЛ „Св. Ив. Рилски“ – София.

2.1. Диагнозата и клиничната характеристика са изградени въз основа на данните от анамнезата, включваща задълбочена информация за давността на оплакванията и поставянето на диагнозата, наличните клинични симптоми, физикалния статус, проведените клиниколабораторни, имунологични, микробиологични, хистологични и инструментални изследвания, с особено внимание към органното ангажиране и проведеното лечение.

2.2. Лабораторни методи. Клиничнолабораторните изследвания са проведени в Клиничната лаборатория на УМБАЛ “Св. Ив. Рилски“ – София. Те служат за установяване на активността (ПКК с диференциално броене, СУЕ, С-реактивен протеин), системността и тежестта на заболяването (креатинин, урея, чернодробни ензими, урина – седимент, протеинурия, креатининов клирънс). Референтните стойности са съобразени с пола и възрастта на болните.

Имунологичните изследвания са извършени в лабораторията по Клинична имунология на УМБАЛ “Св. Ив. Рилски“ – София. Наличието на ANCA бе установено с индиректна имунофлуоресценция (IIF) на етанол фиксирани неутрофили (Inova Diagnostics, Inc., San Diego, CA). **Enzyme-linked immunosorbent asay (ELISA) методи:** чрез тях ANCA положителните пациенти са изследвани за двата основни антигена – протеиназа-3 (PR-3) и миелопероксидаза (MPO). Използвана е автоматична Alegria system (ORGENETIC Diagnostika GmbH).

При голяма част от пациентите са проведени допълнително изследване на ANA чрез индиректна имунофлуоресценция на HEP2 клетки, ANA имуноблот, антифосфолипидни антитела, включващи ACL screen; anti-b2GPI-screen; anti-protrombin screen, измерени с автоматична Alegria system, RF по ELISA метод, измерени в UI/ml, за изключване на друго системно заболяване на

съединителната тъкан. Anti-GBM антителата бяха изследвани чрез имуноблот техника.

При 42 пациенти бяха измерени серумни нива на TNF-α (Human TNF-α DY210-05, DuoSet ELISA метод, R&D Systems, USA and Canada), Plasminogen (PLG) Human Elisa kit, ab 108893, Abcam plc, UK), LAMP-2 (Human Lysosomal-Associated Membrane Protein-2 (hLAMP-2) ELISA, CSB-E09701h, CUSABIO, Houston, TX, USA), и IDO (Human indoleamin 2,3-dioxygenase/IDO, DY6030-05, DuoSet ELISA, R&D Systems, Inc, USA and Canada). Всички кръвни проби на пациентите са взети според одобрени стандартни процедури, като серумите за тестване на цитокини, плазминоген, LAMP-2 са незабавно замразени на -80°C.

2.3. Инструментални методи. Органното ангажиране бе потвърдено с подходящи инструментални изследвания: рентгенографии на околоносни синуси, гръден кош, компютърна томография (КТ) на гръден кош, глава, корем, високоразделителна КТ на бял дроб, КТ ангиография, магнитнорезонансна томография (МРТ) на глава, гръден кош, корем, ултразвуково изследване на корем, бъбреци, доплер сонография на съдове, електроневромиография (ЕНМГ), аудиограма, спирометрия, белодробен дифузионен капацитет, консултативни прегледи от оториноларинголози, офталмолози, пулмолози, нефролози, невролози.

2.4. Хистологични изследвания. Използвани са хистологични резултати от проведени биопсии от подходящ за конкретния случай материал – носна лигавица, ФБС, ПББ, КМБ.

2.5. Активността на болестта е оценявана според Birmingham Vasculitis Activity Score версия 3 (BVAS) и субкласифицирана в зависисмост от системността и тежестта на заболяването (според European Vasculitis Study Group (EUVAS) на: локализирана, ранна системна, генерализирана и тежка. Болестта е класифицирана като локализирана, когато липсват прояви извън горни и долни дихателни пътища и бял дроб, не са застрашени органните функции и няма общи симптоми. Ранна системна – при извънбелодробни прояви и когато са налице общи симптоми, генерализирана – при извънбелодробни прояви и застрашаване на функцията на органите, и тежка, когато има данни за бъбречна или друга органна недостатъчност. Органна недостатъчност,

класифицираща болестта като тежка, е дефинирана, когато са налице следните BVAS манифестации: масивна хемоптиза/алвеоларни хеморагии, респираторна недостатъчност, застойна сърдечна недостатъчност, исхемична абдоминална болка, инсулт. Застрашаване на функциите на органите, което класифицира болестта като генерализирана, се дефинира при наличие на следните BVAS манифестации: внезапно настъпила загуба на зрение, замъглено зрение, промени в ретината (васкулит/тромбози, ексудати/хеморагии), сензоневрална загуба на слух, стенокардна болка, кардиомиопатия, перитонит, кървава диария, менингит, объркаост, припадъци, парализа на черепномозъчни нерви, периферна сензорна невропатия, множествен мононеврит с моторна симптоматика. Стойностите на серумния креатинин се използват при класифицирането. Демографските, клиничните и лабораторните данни са събрани при поставянето на диагнозата и пациентите са проследени през шестмесечни интервали. За всеки пациент беше определен и FFS. Ремисията е дефинирана като липса на клинични и лабораторни прояви на активност, свързани с васкулита. Пациентите, при които има подобрение в BVAS с $\geq 50\%$ и с липса на нови манифестации, считаме, че са подобрени и отговарят на проведеното лечение.

2.6. Статистически методи. Статистическите обработки са направени със SPSS 13.0. Извършен е описателен анализ с помощта на групировки по един или няколко признака, обобщаващи показатели, относителен дял, средна аритметична и медиана. Направен е също диагностичен анализ за проверка на разлика в изчислени емпирични относителни дялове. Приложените изводи са потвърждавани и с алтернативни оценки на емпиричните нива на значимост (Clopper-Pearson method), които не зависят от традиционните, базиращи се на апроксимации. Извършен е и анализ на средните величини, като статистическата значимост на проявените разлики е тествана с помощта на модели за тестване на средна разлика (t-test, Man-Whitney U test). За оценка на нивото на определени емпирични характеристики са използвани базираните на предположения относно разпределението на тестваните признаци нива.

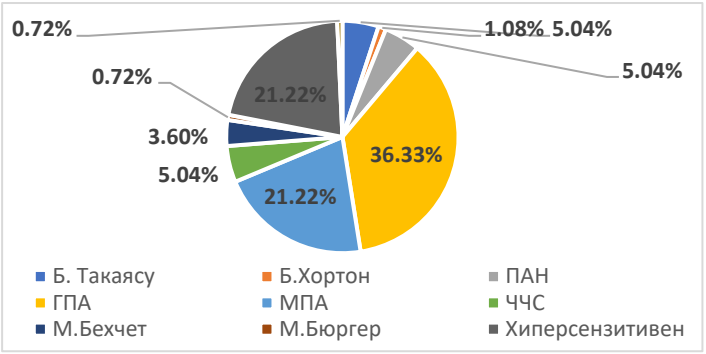
Проведен е също така диагностичен анализ за оценка на наличието на статистически значими ефекти чрез проверка на статистически хипотези относно присъствие на определена връзка в променливи, измервани на слаби скали с помощта на Хи-квадрат и „точни" емпирични показатели на Фишер (Fisher exact test) за разлика между два наблюдавани относителни дяла. При необходимост допълнително е проведен LSD post hoc p values – ANOVA анализ. Някои от резултатите са потвърдени с непараметричен тест-аналог (Kruskal-Wallis test). За междугрупови сравнения на средната стойност са използвани дисперсионният анлиз Mann-Whitney U test, както и тестът на Kolmogorov-Smirnov за разлика между наблюдаваните средни нива. Корелационните връзки между различните променливи са изследвани чрез коефициентите на корелация на Spearman. За анализ на преживяемостта (до настъпването на смърт) е използван Survival анализ, като са представени описателни криви на Kaplan-Meier относно кумулативната пропорция на преживяване. Чрез Cox регресионен анализ са анализирани определени фактори, свързани с преживяването на пациентите. Receiver operating characteristic (ROC) curve анализ е използван за тестване на потенциалната диагностична стойност на някои биомаркери.

Като гранична стойност за равнището на значимост се приема 0.05, освен ако не е изрично отбелязана друга стойност. Съответните оценки за значимостта на определена емпирична характеристика на гореописаните тестове се сравнява с тази гранична стойност от 0.05. Ако тя е по-малка от 0.05, тестваният ефект се приема за статистически значим, ако е по-голяма от 0.05 се приема за статистически незначим.

IV. РЕЗУЛТАТИ

1. Нозологична структура на васкулитите, наблюдавани в Клиниката по ревматология

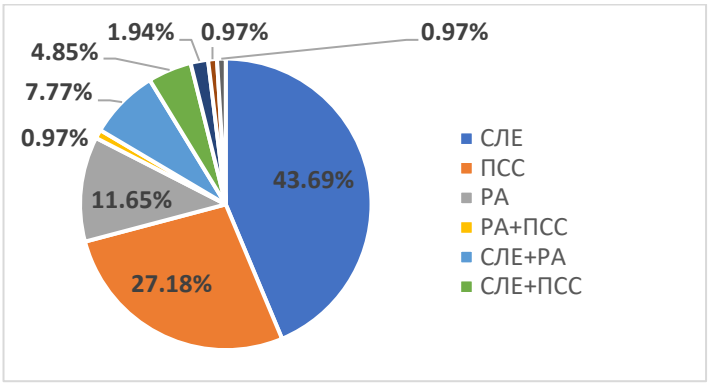
1.1. Анализ на нозологичната принадлежност на болните с васкулит в текущата ревматологична практика. В настоящата работа бяха анализирани 388 болни с васкулитни прояви, които са преминали през Клиниката по ревматология за периода 2008-2018 г., съответно 137 мъже и 251 жени, на възраст между 17 и 85 год. Съгласно критериите на ACR, 1990, и критериите за дефиниция на васкулитите според CHCC с първични васкулити са 278 болни, като от тях 174 са с AAV. Най-често наблюдаваните диагнози извън AAV са хиперсензитивен васкулит (59 болни), следван от болест на Такаясу и ПАН (с по 14 болни) и най-рядко болест на Бюргер и изолиран васкулит на ЦНС. Процентното разпределение на болните с първични васкулити по нозология е представено на фиг. 1.



Фигура 1. Разпределение на първичните васкулити по нозология (база 278 пациенти)

Прояви на васкулит в хода на системно заболяване на съединителната тъкан и/или артрит наблюдавахме при 103 болни (26.55% от всички васкулитни синдроми). Най-голям процент васкулитни прояви открихме при болните със СЛЕ (43.69% от 103 болни), следвани от тези с ПСС (27.18%). В 16.5% от случаите на васкулит при други ревматични заболявания има припокриване между

няколко диагнози, най-често между СЛЕ и РА. Най-честата нозологична единица, която се припокрива с други такива, е СЛЕ. При всички нозологични единици преобладава женският пол. Процентното разпределение спрямо васкулитните синдроми при други ревматични заболявания е показано на фигура 2.



Фигура 2. Разпределение на васкулитните синдроми при други ревматични заболявания (база 103 пациенти)

1.2. Анализ на нозологичната принадлежност на болните с васкулит с некрози

Отделно анализирахме болните, при които в момента на прегледа сме установили некротични кожни лезии, и ги обозначихме като васкулит с некрози (ВН), сравнихме ги с болните, които не са имали видими некротични лезии, които обозначихме като васкулит (В) (табл. 2). При направения подбор се установи, че 147 (37.88%) от болните имат васкулит с некротични кожни лезии. Некротични лезии по кожата в хода на СЗСТ и/или артрит наблюдавахме при 70 (47,61%) от болните (ВН), от тях 16.3% са с поставена диагноза СЛЕ; 19.0% – с ПСС. Разликата между тези диагнози е статистически значима ($p = 0.0381$ и $p = 0.0238$). Установихме клинично и/или имунологично припокриване на няколко заболявания – на СЛЕ с ПСС при 3.4%, на СЛЕ с ревматоиден артрит при 2.7%, на СЛЕ с ПСС и ревматоиден артрит при 1.4%. От всичките 18 пациенти с припокриващо заболяване 66.67% бяха с некрози, а тези, които припокриваха ПСС със СЛЕ, 100% бяха с некрози.

Васкулит с некротични кожни лезии в хода на обособен васкулитен синдром установихме при 30.61% от болните. Статистически значима е разликата между болните със и без некротични лезии при хиперсензитивен васкулит с неясна етиология (p = 0.0000). От другата страна са грануломатоза с полиангиит (p = 0.0000), микроскопски полиангиит (0.0000), артериит на Takayasu (p = 0.0167), болест на Behcet (p = 0.0133), при които некрозите се срещат сигнификантно по-рядко.

Таблица 2. Сравнителна характеристика на ВН и В въз основа на нозологичната принадлежност

Нозологична единица	ВН N = 147	(%)	В N = 241	(%)	p
СЛЕ	24	16.3%	21	8.7%	0.0381
ПСС	28	19.0%	0	0.0%	0.0238
СЛЕ+ПСС	5	3.4%	0	0.0%	0.0042
СЛЕ+РА	4	2.7%	4	1.7%	0.5034
СЛЕ+ДМ	0	0.0%	1	0.4%	0.4431
ДМ	1	0.7%	0	0.0%	0.1632
РА	6	4.1%	6	2.5%	0.3787
РА+ПС	1	0.7%	0	0.0%	0.1942
СЛЕ+ПСС+РА	2	1.4%	0	0.0%	0.0663
Хиперсензитивен васкулит с установена етиология	12	8.2%	14	5.8%	0.3599
Хиперсензитивен васкулит с неясна етиология	30	20.4%	3	1.2%	0.0000
Нодозен полиартериит	2	1.4%	12	5.0%	0.0669
Грануломатоза на Wegener	17	11.6%	84	34.9%	0.0000
Синдром на Churg-Strauss	3	2.0%	11	4.6%	0.1840
Микроскопски полиангиит	7	4.8%	52	21.6%	0.0000
Артериит на Takayasu	1	0.7%	13	5.4%	0.0167
Темпорален артериит	1	0.7%	2	0.8%	0.2777
Болест на Buerger	2	1.4%	0	0.0%	0.0663
Болест на Behcet	0	0.0%	10	4.1%	0.0133
Аортит тбк	0	0.0%	1	0.4%	0.4431
Изолиран на ЦНС	0	0.0%	2	0.8%	0.2777

1.3. Анализ на нозологичната принадлежност на болните с AAV в практиката на Клиниката

Брой, възраст и пол на болните: Използвайки критериите на ACR и CHCC, установихме, че през Клиниката са преминали общо 174 болни, които са дигностицирани с AAV. От тях 101 пациенти с грануломатоза на Вегенер, 59 пациенти с МПА, 14 пациенти със синдром на Чърг-Страус. Петима пациенти с данни за васкулит и наличие на ANCA не можахме да причислим към никоя от нозологичните единици въз основа на клиничните и проведените лабораторни, имунологични и инструментални изследвания. Средната възраст при поставянето на диагнозата на пациентите с вегенерова грануломатоза бе 50.13 (± 13.40) год., на тези с микроскопски полиангиит 52.78 (± 15.61) год. и на Чърг-Страус синдрома – 49,13 (± 15.40) год. Преобладва женският пол при всички васкулити. Началото на болестта е в голям възрастов диапазон – между 17 и 85 год., но като цяло се срещат при по-възрастни пациенти (средна възраст 50 години).

Таблица 3. Демографска характеристика на пациентите с AAV, включени в анализа за нозологична принадлежност

	Грануломатоза с полиангиит (GPA)	**Микроскопски полиангиит (MPA)**	**Еозинофилия с грануломатоза и полиангиит (EGPA)**
Брой	101	59	14
Процент	58.05%	33.91%	8.05%
М:Ж	47:54	21:38	4:10
Възраст	50.13 (17-76)	52.78 (20-85)	49.13 (29-70)
Давност	10.9 мес.	8.69 мес.	31.25 мес.

2. Честота на сериозни инфекции в хода на AAV

В настоящата работа потърсихме и анализирахме наличието на сериозни инфекции сред пациентите с AAV. Тридесет и трима пациенти (23,24%) от болните с AAV са имали поне една сериозна инфекция в първите шест месеца след поставянето на диагнозата. Пациентите с грануломатоза на Вегенер и сериозни

инфекции са 75,76%, тези с микроскопски полиангиит са 21,21% и със синдром на Чърг-Страус е 1 (3,03%) пациент. Активността и при двете групи е висока (BVAS 17.61, SD = 5.55 с инфекции и съответно BVAS 16.29, SD = 6.34 без инфекции, p = 0.358). Голямата част от пациентите с инфекции са лекувани с пулс терапии с МП (ПТМП) – 69,70%, с имуносупресор са лекувани 24,24%, от тях, четирима с циклофосфамид, трима с метотрексат и един с микофенолат мофетил. Имуносупресорите са вземани винаги в комбинация с висока доза кортикостероиди (започване с 1-2 mg/kg тегло дневно). Пациентите с рецидивиращи инфекции в хода на продължително имуносупресивно лечение са малка част от групата – 18,18%. Основните характеристики на пациентите със и без сериозни инфекции са дадени на табл. 4.

Таблица 4. Сравнение на основните характеристики между пациентите със сериозни инфекции и без инфекции

Характеристики	**С инфекции N = 33**	**Без инфекции N = 109**	**p**
Възраст	47.2	52	0.096
Ж:М	16:17	67:42	0.308
ANCA	29 (87.88%)	95 (87.16%)	0.923
BVAS	17.61 (± 5.55)	16.29 (± 6.34)	0.358
Анемия	22 (66.67%)	77 (70.64%)	0.664
ХБН	11 (33.33%)	63 (57.80%)	**0.015**
Хемодиализа	6 (18.18%)	21 (19.27%)	0.889
Смъртност	7 (21.21%)	8 (7.34%)	**0.025**

2.1. Рискови фактори за сериозни инфекции

Средната възраст при поставяне на диагнозата не се различава при двете групи пациенти. Не установихме сигнификантни разлики по отношение на наличието на антинеутрофилноцитоплазмени антитела, нито в стойностите на хемоглобин. При пациентите с бъбречна недостатъчност се регистрират сигнификантно по-рядко инфекции, сравнени с тези с нормална бъбречна функция **(p = 0.015).** Направихме анализ на групата на пациентите с ANCA васкулити, които провеждат диализно лечение (27 болни**)**. Установихме инфекции при 77.78% от пациентите на диализа, без

инфекции в тази група са 22.22%, **(p = 0.0005).** Пациентите с ифекции са със сигнификантно по-висока смъртност от тези без инфекции **(p = 0.025).**

2.2. Основни патогенни микроорганизми

Основните патогенни микроорганизми, които са отговорни за инфекциите при нашите болни (бактерии, вируси и гъбички), са показани на фиг. 3.

Най-честият причинител, който бе изолиран, е Staphylococcus aureus – в 8 от случаите, следван от Klebsiella и Streptococcus (по 6 случая). От гъбичните инфекции най-чести са Candida albicans и Aspergillus fumigatus. Основните органни локализации на инфекции са горните дихателни пътища (нос, уши, синуси), белите дробове и кожата и най-честите материали, от които има изолиран причинител, са носен секрет, храчка и секрет от кожни лезии.

2.3. Асоциация между перинуклеарните ANCA и инфекциите

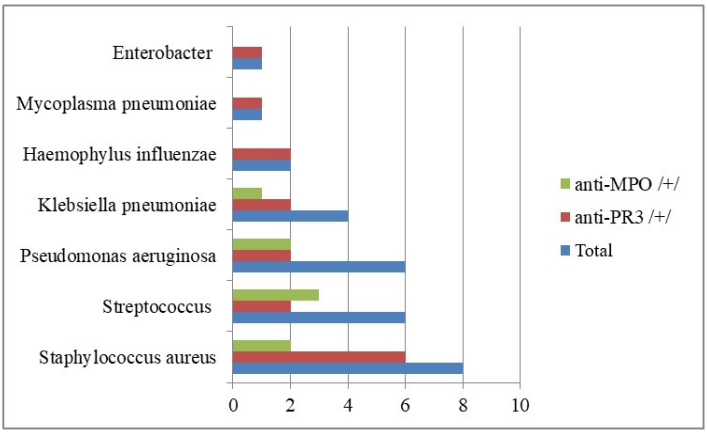
Потърсихме връзка между ANCA с перинуклеарен тип светене и наличието на инфекции, резултатите са показани на табл. 5. В групата на пациентите с инфекции 87,88% имат ANCA (табл. 4). От тях 37,93% са с pANCA, 48.28% са с cANCA. Не установихме сигнификантна разлика между двата вида антитела при болните с инфекции. От пациентите с грануломатоза на Вегенер 45,45% са с pANCA. В групата на WG без инфекции pANCA се установяват при 9,43%, а при 77,36% се откриват cANCA, като разликата е статистически значима; при пациентите с WG без инфекции преобладават cANCA – 77.36% срещу 9.43% **(p = 0.0000).**

Таблица 5. Профил на pANCA (+) и pANCA(-) пациенти

Характеристика	pANCA (+)	pANCA(-)	p
С инфекции	11 (37,93%)	14 (48,28%)	0,3977
Без инфекции	36 (33,03%)	48 (52,83%)	**0,0035**
WG с инфекции	5 (45,45%)	14 (44,04%)	0,9206
WG без инфекции	5 (9,43%)	41 (77,36%)	**0,0000**

Потърсихме връзка между отделните ANCA и различните бактериални причинители, като не установихме статистически

значима разлика ($p < 0.05$) или не свързахме определено антитяло с конкретен бактериален причинител (фиг. 3).



Фигура 3. Анализ на бактериалните причинители при различните антитела

3. Анализ на клиничното протичане и органната локализация при различните AAV в българската популация

3.1. Сравнителен анализ на засягането на горните дихателни пътища и белия дроб при отделните ANCA асоциирани васкулити

Установихме, че от пациентите с AAV общо 118 са с ангажиране на респираторния тракт (табл. 6).

Таблица 6. Демографска характеристика на пациентите с AAV и респираторни прояви

	GPA	MPA	EGPA	Некласифицирани
Брой	78	29	8	3
М:Ж	35:43	10:19	2:6	1:2
Възраст	50.5 (17-76)	53.4 (20-73)	49.1 (29-70)	49.7 (32-62)
Давност (SD)	11.03 мес. (14.3)	7.8 мес. (7.1)	31.2 мес. (40.2)	42.7 мес. (45.6)

Класифицирахме васкулитите в зависимост от тежестта според определението на EUVAS, което е определящо за понататъшното терапевтично поведение. Определихме тежестта при всички AAV (табл. 7) и при тези с ангажиране на респираторния тракт (табл. 8) и в зависимост от наличието или липсата на ANCA. Средната активност, определена според системата на BVAS, е висока при поставянето на диагнозата при всичките групи васкулит – 17.3 т., SD = 6.53 за GPA, следвани от тези с MPA – 16.6 т., SD = 5.41 и EGPA с 14.4, SD = 5.31 и 11.5 т., SD = 6.42 за некласифицираните васкулити (табл. 7). Профилът на тежестта на заболяването при болните с белодробно ангажиране не се различава съществено от общата група на AAV (табл. 8). При тях стойностите на BVAS са съответно 18.6 т., SD = 5.41 за MPA, следвани от тези с GPA – 16.2 т., SD = 6.53 и EGPA с 14.4, SD = 5.31 и 12.0 т., SD = 6.42 за некласифицираните васкулити. Най-често наблюдаваната форма за GPA е системната, следвана от локализираната и генерализираната. Генерализирана форма с нарушения във функцията на засегнатите органи беше установена в най-голям процент при пациентите със синдром на Чърг-Страус, а тежка форма с органна недостатъчност и застрашаваща пряко живота при микроскопския полиангиит.

3.1.1. Симптоми и признаци от страна на респираторния тракт. Анализирахме признаците и симптомите, които участват в изчислението на BVAS от страна на респираторния тракт. Проявите от ГДП се срещат значимо по-често при GPA в сравнение с MPA и CSS, на второ място, значимо по-малко при CSS, отколкото при GPA, на последно, пак значимо по-малко при MPA от GPA ($p = 0.0000$). Разликата в ангажирането на респираторния тракт между MPA и CSS не е значима ($p = 0.7199$) (табл. 9).

Таблица 7. Профил на тежест на болестта при отделните видове васкулити

Имунологичен профил	GPA		MPA		EGPA		Некласифицирани	
	(n = 80)	%	(n = 52)	%	(n = 8)	%	(n = 5)	%
ANCA (+)	71	88.75	46	88.46	5	62.50	5	100.00
ANCA (-)	8	10.00	5	9.62	2	25.00	0	0.00
BVAS	17.3 (± 6.53)		16.6 (± 5.41)		14.4 (± 5.31)		11.5 (± 6.42)	
Форма на болестта								
Локализирана	21	26.25	0	0.00	2	25.00	2	40.00
Ранна системна	23	30.00	8	15.38	2	25.00	2	40.00
Генерализирана	21	26.25	24	46.15	4	50.00	0	0.00
Тежка	14	17.50	20	38.46	0	0.00	1	20.00

Таблица 8. Профил на тежест на болестта при болните с белодробно ангажиране според вида васкулит

Имунологичен профил	GPA		MPA		EGPA		Некласифицирани	
	(n = 78)	%	(n = 29)	%	(n = 8)	%	(n = 3)	%
ANCA (+)	69	88.64	27	93.10	5	62.50	2	66.67
ANCA (-)	8	10.26	1	3.45	2	25.00	0	0.00
BVAS	16.2 (± 6.53)		18.6 (± 5.41)		14.4 (± 5.31)		12.0 (± 6.42)	
Форма на болестта								
Локализирана	21	26.92	0	0.00	2	25.00	0	0.00
Ранна системна	23	29.49	2	6.90	2	25.00	2	66.67
Генерализирана	21	26.92	15	51.72	4	50.00	0	0.00
Тежка	13	16.67	12	41.38	0	0.00	1	33.33

Табица 9. Ангажиране на горните дихателни пътища при отделните AAV

Приз-нак	WG (n,%)	MPA (n,%)	CSS (n,%)	p*
ГДП	56 (86.2%)	3 (4.6%)	5 (7.7%)	0.0000 – 0.0000 – 0.7199

**WG vs MPA – WG vs CSS – MPA vs CSS Fisher exact two proportions test p values*

В следващите анализи са включени само трите основни AAV.

При анализ на отделните признаци не установихме значима разлика между отделните васкулити. Най-често наблюдаваната манифестация е ринореята, като тя е била с кървави примеси при 78.6% от болните с GPA, с ангажиране на параназалните синуси са 71.4% от пациентите, пак основно от групата на тези с GPA. Пациентите с микроскопски полиангиит и прояви от страна на ГДП са малко като случаи и голяма част от признаците липсват при тях, което не позволи да се установят значими разлики.

3.1.2. Белодробни манифестации. Анализирахме белодробните прояви според BVAS критериите, като ги разделихме на клинични манифестации и на радиографски находки. Отделно анализирахме радиографските находки от конвенционалната рентгенография и HRCT (табл. 10, 11, 12). С белодробни прояви са общо 110 болни, което е 75.9% от всички изследвани. Белодробните прояви са най-чести при грануломатозата с полиангиит (65.6%), на следващо ниво значимо по-малко са при микроскопския полиангиит (24.5%) и на последно място пак значимо по-малко при синдрома на Чърг-Страус (7.3%) (p = 0.0000).

Таблица 10. Ангажиране на белия дроб при отделните AAV

Признак	WG (n,%)	MPA (n,%)	CSS (n,%)	p*
Бял дроб	72 (65.5%)	27 (24.5%)	8 (7.3%)	0.0000 – 0.0000 – 0.0009

**WG vs MPA – WG vs CSS – MPA vs CSS Fisher exact two proportions test p values*

Таблица 11. Белодробни признаци и симптоми при отделните AAV

Признак	Общо (n,%)	WG (n,%)	MPA (n,%)	CSS (n,%)	p*
Бял дроб	**110 (100%)**	**72 (100%)**	**27 (100%)**	**8 (100%)**	
Алв. хеморагии	7 (8.2%)	2 (2.8%)	5 (18.5%)	0	0.0226-1.0000-0.4596
Кашлица	83 (97.6%)	59 (81.9%)	14 (51.9%)	8 (100%)	0.0055-0.4190-0.0395
Диспнея	33 (38.8%)	22 (30.6%)	7 (25.9%)	3 (37.5%)	0.8393-1.0000-0.8486
ДН	14 (16.5%)	5 (6.9%)	7 (25.9%)	2 (25.0%)	0.0257-0.2914-1.0000

**WG vs MPA – WG vs CSS – MPA vs CSS Fisher exact two proportions test p values*

Кашлицата е най-често срещаният симптом при нашите болни, в 68.57% от случаите тя е имала кървави примеси. Най-голям процент от болните с хемоптиза са в групата на грануломатозата на Вегенер – 49.41% от болните, следвани от микроскопския полиангиит – 15,79%, и синдрома на Чърг-Страус – 8,77%. С диспнея са 38,8% от всички болни, основно при пациентите с Чърг-Страус синдром (37.5%) и грануломатоза на Вегенер (30,6%). С прояви на дихателна недостатъчност са общо 14 болни (16,5%), като процентно най-много такива болни сме наблюдавали при микроскопския полиангиит – при 25.9%. Алвеоларна хеморагия бе наблюдавана значимо по-често при микроскопски полиангиит ($p = 0.0266$), същото важи и за дихателната недостатъчност ($p = 0.0257$).

3.1.3. Резултати от изследването на белия дроб с HRCT и конвенционална рентгенография (табл. 12). Освен признаците, включени в BVAS – нодули (със или без кавитации), плеврит, инфилтрати и хеморагии, в анализа сме включили ретикуларните промени, алвеоларните засенчвания – промени тип „матово стъкло“ и консолидация на белодробния паренхим, наличието на увеличени лимфни възли и интерстициална фиброза.

Таблица 12. СТ белодробни находки при пациентите с AAV

Находка	AAV (n,%)	WG (n,%)	MPA (n,%)	CSS (n,%)	p*
Белодробни – общо (база)	**110 (100%)**	**72 (100%)**	**27 (100%)**	**8 (100%)**	
Нодули и маси	60 (54.5%)	49 (68.1%)	5 (18.5%)	5 (62.5%)	0.0000-1.0000-0.0485
Кавитиращи нодули	21 (19.1%)	19 (26.4%)	2 (7.4%)	0 (-)	0.0748-0.2202-1.0000
Инфилтрати	57 (51.8%)	40 (55.6%)	12 (44.4%)	5 (62.5%)	0.4472-1.0000-0.6208
„Матово стъкло“	30 (27.3%)	13 (18.1%)	12 (44.4%)	4 (50.0%)	0.0150-0.1010-1.0000
Консолидации	14 (12.7%)	9 (12.5%)	5 (18.5%)	0 (-)	0.6588-0.6371-0.4596
Ретикуларни промени	16 (14.5%)	7 (9.7%)	5 (18.5%)	4 (50.0%)	0.3961-0.0094-0.1839
Бронхиектазии	2 (1.8%)	0 (-)	2 (7.4%)	0 (-)	0.1257-NaN-1.0000
Плеврални промени	21 (19.1%)	13 (18.1%)	8 (29.6%)	0 (-)	0.3277-0.4190-0.2028
Фиброза	41 (37.3%)	24 (33.3%)	11 (40.7%)	4 (50.0%)	0.6523-0.5844-0.9537
Лимфаденомегалия	15 (13.6%)	9 (12.5%)	4 (14.8%)	1 (12.5%)	1.0000-1.0000-1.0000

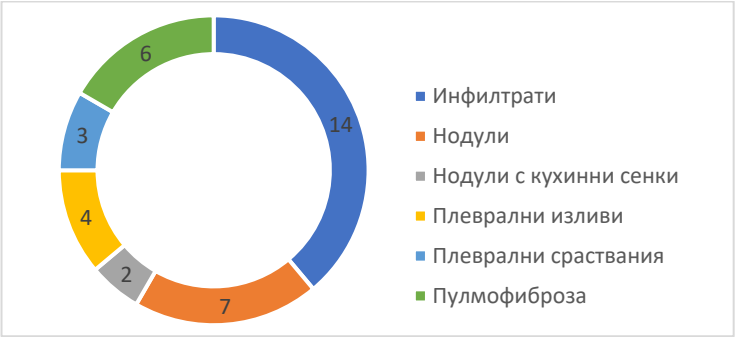
**WG vs MPA – WG vs CSS – MPA vs CSS Fisher exact two proportions test p values*

Най-честата СТ находка при трите групи болни са нодуларните лезии – в 54.5% от случаите с белодробно ангажиране, като те са сигнификантно повече при грануломатоза с полиангиит (p = 0.0000), доста по-малко при еозинофилната грануломатоза с полиангиит – в 62,5%, и само в 18,5% при

микроскопския полиангиит. Нодулите при ANCA асоциираните васкулити могат да бъдат единични или множествени, според големината си са малки (< 10 mm) или големи (> 30 mm). Големите нодули (> 30 mm) преобладават при болните с грануломатоза и полиангиит, като обичайно са двустранни без предилекция в разположението по отношение на белодробните полета, а при еозинофилната грануломатоза с полиангиит и микроскопския полиангиит те са по-малки по размери (< 10 mm) и са единични. HRCT находките показват, че 35% от нодулите при нашата група болни кавитират. В групата на грануломатоза с полиангиит те са 26.4%, при микроскопския полиангиит са 7.4% и нито един при еозинофилната грануломатоза с полиангиит. Втората най-често срещана находка са инфилтратите (при 51.8% от болните), като те не са специфични за тези заболявания и често представляват диференциалнодиагностичен проблем със съпътстващите инфекции. Алвеоларен тип нарушения (промени тип „матово стъкло) се откриват при 27.3% от болните, при 18.1% с ГПА и 44.4% с МПА. Зони на консолидация бяха установени при 12.7%, два пъти по-често при пациентите с микроскопски полиангиит.

От анализа на СТ находки при трите васкулита се вижда, че белодробните нодули се срещат значимо по-често при ГПА и ЕГПА ($p = 0.0000$ и съотв. $p = 0.0485$) в сравнение с МПА; промените тип „матово стъкло“ са значимо по-чести при МПА в сравнение с GPA ($p = 0.0150$) и ретикуларните промени са значимо по-чести при EGPA ($p = 0.0094$). При инфилтратите, плевралните промени и фиброзата разликите, които се наблюдават, не са значими.

Конвенционалната рентгенография (фиг. 4) показва засенчвания с инфилтративен характер при 20% от болните, нодули се установяват само при 8.4% срещу 68.24% на HRCT изследване, кухинни сенки при 2 болни, белодробни изливи при 4.71% и белодробна фиброза и сраствания при 9 болни. При двама болни бе установен пулмонит.



Фигура 4. Рентгенографски находки при AAV

3.1.4. Проведени биопсии и хистологични находки при тях. Биопсии от назална лигавица, синуси, туморни формации в областта на главата, горни дихателни пътища и бял дроб са проведени при общо 47 болни. Най-често хистологичните изследвания са на материал от бял дроб – при 23 болни. При общо 17 от биопсиите има данни за грануломи или грануломатозно възпаление. От пробите от назална лигавица грануломи се наблюдават при 91.66% от случаите. Категорични хистологични данни за васкулит са налице при три от биопсиите от горни дихателни пътища, а една е интерпретирана като суспектна. От белодробните биопсии две са с васкулитни промени, данни за некротичен васкулит и некротизиращо възпаление бяха установени при осем от болните, а комбинация от васкулит, некрози и грануломи – при четири болни.

3.1.5. Клинико-имунологични асоциации с anti-PR3 и анти-MPO. В групата на пациентите, диагностицирани с AAV и ангажиране на респираторния тракт, 103 са ANCA положителни, 11 са ANCA отрицателни и при 4-ма пациенти не е проведено изследване за ANCA. От ANCA положителните 50% са показали светене, типично за cANCA, а 29.66% за pANCA. При анализ на болните, при които се установяват специфични антитела (anti-PR3 или anti-MPO), най-честите симптоми от страна на горните дихателни пътища и за двете групи са ринорея и синузит. При тези симптоми достоверно по-често е анти-PR3 ($p = 0.0000$) (табл. 13). Трайни структурни и функционални нарушения като деформации в областта на черепа или намален слух се установяват само при

anti-PR3 позитивните пациенти. Типичните манифестации от страна на долния респираторен тракт като кашлица и хемоптиза се наблюдават по-често при anti-PR3 позитивните пациенти. Дифузната алвеоларна хеморагия е по-честа при anti-MPO (p = 0.0958); при тези пациенти се наблюдава значимо по-често дихателна недостатъчност (p = 0.0090). Беше проведен анализ на радиографските находки при двете антитела. Нодулите се наблюдават по-често при антипротеиназа-3 позитивните (p = 0.3081). Кавитациите също са по-чести при anti-PR3 ANCA. Учудващо е, че нодулите при болните с положителни MPO-ANCA са били кавитиращи в половината от случаите. Инфилтратите, които са втората най-честа рентгенологична находка, се наблюдават еднакво често и при двете групи, следвани от ретикуларните промени, срещащи се по-често при антимиелопероксидаза положителните пациенти и плевралното ангажиране, което е по-често в групата на миелопероксидаза положителните. Промените тип „матово стъкло“ се срещат сигнификантно по-често при миелопероксидаза антитела (p = 0.010). Белодробна фиброза се наблюдава почесто при anti-MPO-ANCA (p = 0.5129).

Таблица 13. Асоциации на клиника и рентгенологични находки с anti-PR3 и anti-MPO

Клиничен симптом	**PR3-ANCA (n = 47)**	**MPO-ANCA (n = 33)**	**p***
Кървава/пурпурна ринорея – 48	27 (57.4%)	1 (3.0%)	0.0000
Синузит – 47	24 (51.1%)	6 (18.2%)	0.0058
Глухота, намален слух – 18	7 (14.9%)	0 (-)	0.0550
Деформации – 14	8 (17.0%)	0 (-)	0.0340
Отит, мастоидит – 21	15 (31.9%)	1 (3.0%)	0.0038
Нодули – 52	28 (59.6%)	15 (45.5%)	0.3081
Кавитации – 21	12 (25.5%)	7 (21.2%)	0.8571
Плеврално ангажиране – 21	7 (14.9%)	6 (18.2%)	0.9325
Алвеоларни хеморагии – 7	2 (4.3%)	6 (18.2%)	0.0958
Матово стъкло – 30	10 (21.3%)	17 (51.5%)	0.0100
Фиброза – 41	14 (29.8%)	13 (39.4%)	0.5129
Кашлица – 83	34 (72.3%)	20 (60.6%)	0.3894
Хемоптиза – 51	23 (48.9%)	15 (45.5%)	0.9366
ДН – 14	2 (4.3%)	9 (27.3%)	0.0090
Диспнея – 33	11 (23.4%)	12 (36.4%)	0.3126

**Fisher exact two proportions test p values*

3.2. Сравнителен анализ на бъбречното засягане при отделните ANCA асоциирани васкулити

3.2.1. Брой, възраст и пол на болните. Използвайки критериите на ACR и CHCC, установихме, че от всичките болни с ANCA асоциирани васкулити 95 пациенти имат бъбречно ангажиране, от тях с грануломатоза на Вегенер са 45, с MPA са 50.

Таблица 14. Демографска характеристика на пациентите с AAV с бъбречно засягане

	Грануломатоза с полиангиит (GPA)	**Микроскопски полиангиит (MPA)**
Брой	45	50
М:Ж	19:26 (42.2%:57.8%)	19:31 (38.0%:62.0%)
Възраст	50.7 (22-75)	53.1 (20-85)
Давност (SD)	11.5 мес. (14.5)	8.6 мес. (7.9)

3.2.2. Класификация на пациентите с AAV спрямо клиничната изява на заболяването. Класифицирахме васкулитите в зависимост от тежестта според определението на EUVAS, което е определящо за по-нататъшното терапевтично поведение (табл. 15). Освен това анализирахме активността (BVAS, FFS) при всички AAV с бъбречно ангажиране (табл. 15), както и според наличието или липсата на ANCA. Най-често наблюдаваната форма и при двете диагнози бе генерализираната. При болните с GPA активността, определена чрез BVAS, е статистически значимо по-висока – 19.87 т., SD = 5.79 в сравнение с МПА – 16.69 т., SD = 5.40 (p = 0.0125). Петфакторният скор е по-висок при MPA (1.68, SD = 0.71 и съответно 1.31, SD = 0.84), (табл. 15).

3.2.3. Имунологична и клиничнолабораторна характеристика на пациентите. И при двете нозологични групи AAV процентът на пациентите с ангажиране на бъбреците и положителни ANCA е сигнификантно по-висок от ANCA негативните, (p = 0.0000) (табл. 15, 16).

Таблица 15. Профил на тежест на болестта при отделните видове васкулити

Имунологичен профил	GPA		MPA		Общо		p*
	(n = 45)	%	(n = 50)	%	(n = 95)	%	GPA vs. MPA
ANCA (+)	41	91.11	44	88.00	85	89.47	0.8740
ANCA (-)	3	7.32	5	11.37	8	9.41	0.8304
BVAS	19.87 (5.79)		16.69 (5.40)		18.24 (5.81)		0.0125
FFS	1.31 (0.84)		1.68 (0.71)		1.51 (0.79)		0.0835
Форма на болестта							
Локализирана	0	-	0	-	0	-	-
Ранна системна	12	26.67	7	14.29	19	20.21	0.2164
Генерализирана	22	48.88	23	46.94	45	47.87	0.9396
Тежка	11	24.44	20	40.00	30	31.91	0.1629

**Fisher exact two test p for all except BVAS&FFA where Yuen's test for means used*

Таблица 16. Имунологичен профил на пациентите

Антитела	Положителни		Не е изследвано	p*
	С ГН (n = 98)	Без ГН (n = 47)		
ANCA	88 (98.88%)	39 (82.98%)	1	0.37.01
Anti-PR3	39 (43.82%)	21 (44.68%)	10	0.7047
Anti-MPO	40 (44.94%)	8 (17.02%)	10	0.0078
ANA	31 (34.83%)	16 (34.04%)	16	0.9198
Anti-dsDNA	7 (7.87%)	2 (4.26%)	29	0.7590
Anti-GBM	0	0		-
APLA (недефинирано)	4 (4.49%)	2 (4.26%)	53	1.0000

**Fisher exact two test p used*

Честотата на ANCA при групите с гломерулонефрит е близка до тази в общата група болни (98.88% от случаите с ГН са ANCA и 87.59% от всички AAV са ANCA позитивни),

същото се отнася за антителата срещу протеиназа-3 (43.82% и 41.83%). При сравнение на антителата срещу миелопероксидаза при болните със и без ГН установихме сигнификантно по-висока честота на антителата срещу миелопероксидаза в групата на гломерулонефритите в сравнение с тези без ГН (p = 0.0078). В групата без ГН несигнификантно по-често се срещат антитела срещу протеиназа-3 (p = 0.7047). ANA се срещат еднакво при двете групи и изненадващо често при всички болни с AAV (в 50.51%). Но те не корелират с антителата срещу dsDNA, които са положителни само в 7.87% от случаите с нефрит (табл. 16). Антифосфолипидните антитела са изследвани при малка част от болните, като тяхната честота е незначителна и не установихме разлика между двете групи. При част от болните са изследвани анти-GBM, те не са се позитивирали при нито един от болните с нефрит.

При анализ на лабораторните показатели при болните установихме, че при дебюта на болестта по-голямата част от пациентите са били с данни за висока възпалителна активност, като с повишени стойности на СУЕ са 88.64%, на С-реактивен протеин са 84.69% от пациентите, с анемия са 95.92%.

Таблица 17. Клиничнолабораторни показатели при GPA и MPA със и без гломерулонефрит

	GPA		MPA		p*
	(n = 45)	%	(n = 50)	%	
↑ СУЕ	33	73.33	42	84.00	0.3071
↑CRP	31	68.89	38	76.00	0.5852
↓Hb	34	75.56	48	96.00	0.0094
↑Thr	31	68.89	42	84.00	0.1337
↑Leu	20	44.44	19	38.00	0.6681

**Fisher exact two test p used*

При пациентите с микроскопски полиангиит по-често има влошени лабораторни показатели, като разликата е значима само по отношение на анемията (p = 0.0094).

При анализ на основните клинични показатели, свързани с бъбречното засягане от васкулита, установихме, че от пациентите с

нефрит 74.74% са с повишени стойности на азотни тела в серума при поставяне на диагнозата, като те са повече в групата на микроскопския полиангиит (табл. 18). Най-характерният белег на некротизиращ бъбречен васкулит – еритроцитурия (> 10 еритроцита на поле) е имало при 74.74%, а протеинурия (> 0.500 mg/L) при 71.58%, те са по-често при микроскопския полиангиит, без разликата да е съществена. Бъбречното заболяване при поставяне на диагнозата в повечето случаи е било тежко (средната стойност на креатинина е 268.1 μmol/l, SD = 255.29). При 34.74% от болните се е наложило диализно лечение, като не се наблюдава разлика при двата вида васкулити по отношение на необходимостта от диализа.

Таблица 18. Основни клинични прояви и лабораторни показатели при AAV пациенти

	GPA		MPA		Общо	
	(n = 45)	%	(n = 50)	%	(n = 95)	%
Еритроцитурия	30	66.67	41	82.00	71	74.74
Протеинурия	30	66.67	38	76.00	68	71.58
Креатинин↑	30	66.67	41	82.00	71	74.74
Хемодиализа	14	31.11	19	38.00	33	34.74
Хипертония	13	28.89	10	20.00	23	24.21
Белодробни прояви	42	93.33	24	48.00	66	69.47
Белодробна хеморагия	6	13.33	10	20.00	16	16.84

3.2.4. Клинична и хистопатологична изява при AAV. Анализирахме болните, които при дебюта на болестта освен бъбречни са имали и белодробни прояви. Общо 66 болни (69.47%) са били с прояви и от двете системи, статистически повече (p = 0.0000) са при грануломатозата с полиангиит. Не се установи съществена разлика в честотата на белодробната хеморагия, която е типичната проява на белодробен васкулит, случаите при микроскопски полиангиит са по-чести, без значима разлика (табл. 18).

При близо половината от болните бе регистрирано съдово поражение на бъбреците едновременно с участие и на ЦНС, кожа и сърце (табл. 19).

Таблица 19. Васкулитни прояви при AAV

Система	Бял дроб	Кожа	НС	Сърце
Брой	16	42	22	37
%	16.84	42.86	22.45	35.15

Хистопатологични находки при AAV с бъбречно ангажиране. При 63 болни с нефрит е проведена пункционна бъбречна биопсия. Резултатите са обобщени според класификационната схема на Berden (4 класа – огнищен, полулунен, смесен и склеротичен) (фиг. 5).

Най-често наблюдаваният тип гломерулонефрит бе полулунният – при 38.10% от всички ПББ, следван от смесения тип (23,81%). В 20.63% от случаите резултатът не може да бъде класифициран, като най-често използваният термин при интерпертацията на резултата е „вторична нефропатия“ или „данни за некротичен гломерулонефрит при грануломатоза на Вегенер“. В 55.55% от случаите има формиране на полулуния, като в 34.92% е установена фибриноидна некроза. Комбинацията от хистологична находка на полулуния и фибриноидна некроза има при 33.33% от биопсиите, като това са основно болни с микроскопски полиангиит. Случаите, при които има данни за фибриноидна некроза, са най-тежките, с високи стойности на креатинин и това са болните, при които се е наложило диализно лечение – 43%. Дванадесет от ПББ (19.05%) са били с дифузна гломерулосклероза. Преобладаването на гломерули с полулуния се среща в 47.92% при пациентите с MPO-ANCA и в 35.42% с PR3-ANCA, а на склерозирали гломерули – в 55% MPO-ANCA и в 30% с PR3-ANCA. Изобилие от кръглоклетъчни инфилтрати в интерстициума, съставени основно от моноцити, е установено при 14 (22,26%) биопсии, като при осем от тях е наблюдавано интерстициално грануломатозно възпаление. Отлагане на имунни депозити и комплемент, установени с имунофуоресценция, се открива при 31.8% от проведените биопсии. При почти всички биопсии се отлага C3 фракцията (90.5%). Отлагане на C1q фракцията се наблюдава при 6 от биопсиите, а на C4 – само при 2 от биопсиите.

3.2.6. Терапевтични подходи при AAV с бъбречно ангажиране. Стандартната терапия за индукция на ремисия при AAV е комбинация между висока доза кортикостероиди (КС) (1 mg/kg) дневно за един месец и постепенно намаление на дозата в комбинация с ендоксан ежемесечно поне за шест месеца или ритуксимаб в доза за индукция на ремисия. Режимите проведено лечение са показани на табл. 20.

Таблица 20. Проведено лечение

N = 88 болни	**N**	**%**
Само висока доза КС	3	3.48
КС + ПТМП	8	9.28
КС + ПТМП + ПТЦФ без ИС	8	9.28
КС + ПТМП + ПТЦФ + ИС	7	8.11
ПТМП + ПТЦФ + Ритуксимаб	21	24.35
Ритуксимаб + КС	40	46.38
Ритуксимаб + ИС	9	10.44
Плазмафереза	3	3.48
Имуноглобулин	5	5.8

При анализирането на данните за изхода от проведеното лечение установихме, че най-много болни са с положителен резултат след лечение с ритуксимаб (30.65%), а с негативен резултат след самостоятелно лечение с кортикостероид (27.27%), когато не е комбиниран с циклофосфамид, ритуксимаб или микофенолат мофетил (табл. 21). В този случай броят на починалите е най-висок, като разликата е статистически значима, което потвърждава становището, че кортикостероидите самостоятелно не са достатъчни за контрол на ANCA васкулитите. Най-висок е процентът на преживелите болни в групата на лекувани с ритуксимаб.

От всички пациенти с бъбречно засягане 11 (11.22%) са починали в рамките на проследявания период. За да се определят значимите фактори, свързани с проява на смърт, бе извършен многомерен логистичен анализ. За анализ на преживяемостта до настъпване на смърт в рамките на 7 години е използван Survival анализ, като са представени описателни показатели и криви на Kaplan-Meier относно кумулативната пропорция на преживяване.

Таблица 21. Резултат от проведеното лечение

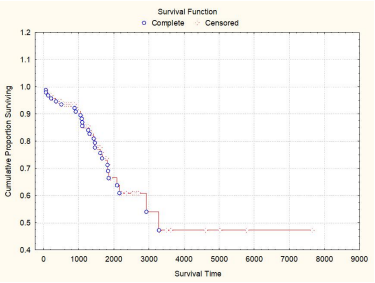
Изход	КС самостоятелно N = 11 (11.22%)	Ритуксимаб N = 62 (63.27%)	Циклофосфамид N = 53 (54.08%)	p 1-3	p 2-3	p 1-3
Подобрен и стациониран	4 (36.36%)	19 (30.65%)	11 (20.75%)	0.9807	0.3217	0.4709
Exitus letalis	3 (27.27%)	2 (3.23%)	3 (5.66%)	0.0237	0.8776	0.0950

**Fisher exact two test p used*

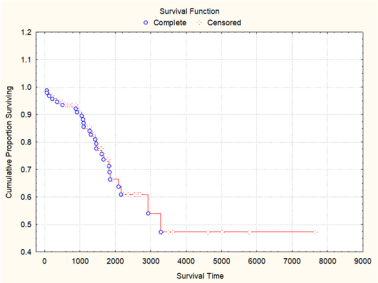
Резултатите са показани на табл. 22. Измерили сме общата преживяемост на групата пациенти с бъбречно засягане. Медианният брой дни до настъпването на смърт в тази група е 420, медианната стойност до последен контакт с живите пациенти е 1580 дни, като окрупнено тази стойност е 1460 дни. Средното време до настъпване на смърт при общата група болни с AAV е по-голяма, тя е 581.3 дни. Едногодишната преживяемост за болните с бъбречно засягане е 97.8%, петгодишната – 86.2%. При болните, които провеждат диализа, едногодишната преживяемост е 95%, петгодишната е 77% (графика 1 и 2).

Таблица 22. Преживени дни при пациентите с AAV и бъбречно засягане

Пациенти – преживени дни	Брой	Средна	95% дов.интервал долна граница	95% дов.интервал горна граница	Мин	Макс	Q25	Медиана	Q75
Умрели	11	575	259	890	50	1 460	210	420	800
Живи	83	1 791	1 531	2 050	60	7 660	1 580	1 580	2 190
Общо	94	1 648	1 404	1 893	50	7 660	950	1 460	2 095



Графика 1. Функция на преживяемостта при болните с AAV



Графика 2. Функция на преживяемостта при болните със и без диализно лечение

Бяха анализирани следните независими вариабилни фактори (възраст, пол, бъбречно увреждане, високи нива на С-реактивен протеин, серумен креатинин, еритроцитурия, протеинурия, специфичност на ANCA, BVAS скор, вид на проведеното лечение) при преживяемостта на болните с бъбречно ангажиране до настъпването на смърт. След проведения мултивариабилен анализ значимите фактори за преживяемост (Cox regression, $p < 0.05$), които се установяват, са стойност на BVAS ($p = 0.045710$), наличие на анти-MPO ($p = 0.024527$) и проведено лечение с ритуксимаб ($p = 0.010757$). Наличието на протеинурия е много близко до значимост ($p = 0.054660$). Не се установи връзка на преживяемостта на пациентите с възрастта при поставянето на диагнозата, пола, наличието на висок креатинин при поставянето на диагнозата, еритроцитурията и повишените острофазови показатели. Същият анализ бе проведен за бъбречната преживяемост (времето до настъпване на диализа) и той не потвърди значими фактори, които биха се свързали с по-бързо настъпване на диализа.

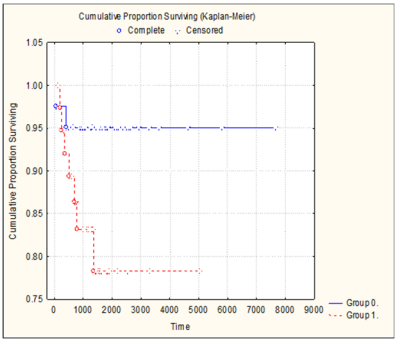
Таблица 23. Предиктори на изхода на заболяването

Вариабилни	**Beta**	**S.E**	**Exp(Beta)**	**p***
Anti-MPO	1,8	0,8	6,3	0,025
Rituximab	-2,0	0,8	0,1	0,011
BVAS	0,1	0,1	1,2	0,046

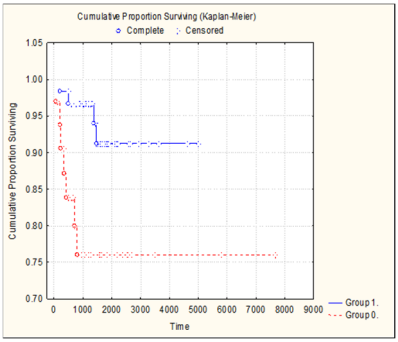
124358+- < 0.05 statistically significant; only significant shown.Exp(Beta) – hazard ratio. Beta coefficient b, S.E. standard error of coefficient beta, Exp. (B) hazard ratio.*

Обобщените данни сочат, че пациентите с по-голяма преживяемост имат по-ниска активност на болестта (по-нисък BVAS скор), нямат протеинурия, нямат антитела срещу миелопероксидаза и са лекувани с ритуксимаб (табл. 23). Независими предиктори за смърт при многомерния логистичен анализ се оказаха антителата срещу миелопероксидаза (HR = 6.3, p = 0.025), BVAS (HR = 1.2, p = 0.046). От друга страна, лечението с ритуксимаб се явява независим предиктор за по-добър шанс за преживяемост (HR = 0.1, p = 0.011). Резултатът от анализа на всички пациенти и на факторите от таблица 22 и 23 за установяване на значими фактори за проявата на смърт и тяхното влияние може да се обобщи така: с нарастване на BVAS с единица шансовете за проява на смърт се увеличават 1.2 пъти; наличието на anti-MPO се асоциира с 6.3 пъти по-висок шанс за проява на смърт; шансът за смърт с ритуксимаб е 0.1 от шанса, ако не се лекуват с ритуксимаб.

Проведеният анализ на кумулативната преживяемост показва, че средната петгодишна преживяемост е 95% при болните с бъбречно засягане без anti-MPO срещу 78% при тези с наличие на anti-MPO (графика 3). При пациентите, лекувани с ритуксимаб, средната петгодишна преживяемост е 92% и съответно 76% при тези, които не са получили лечение с ритуксимаб (графика 4).



Графика 3. Кумулативна преживяемост според наличието или отсъствието на anti-MPO



Графика 4. Кумулативна преживяемост според наличието или отсъствието на лечение с Rituximab

3.3. Клинични прояви извън ГДП, бял дроб и бъбрек при AAV. Направихме анализ на органните локализации, които са извън бял дроб и бъбрек, като стави, кожа, очи, сърдечно-съдова, нервна система, гастроинтестинален тракт при всички болни и при трите вида васкулит. Сравнихме тези прояви при двата основни по честота васкулита (GPA и MPA) (табл. 24).

Наличие на **мускулоскелетни прояви** установихме при 65.49% от пациентите, като те се наблюдават най-често при болните с GPA (62.37%, p = 0.0000). Основните симптоми от страна на опорно-двигателния апарат са били артралгии и миалгии и това обичайно са първите симптоми на заболяването заедно с конституционните. След ставните прояви втори по честота са **кожните** (при 41.55% от болните). Те отново са най-чести при GPA (64.41%, p = 0.0000). Основните обриви, които сме наблюдавали при нашите болни, са палпируема пурпура (левкоцитокластичен васкулит) (19.01%), което се отнася и за трите вида васкулит, следвани от еритемомакулопапулозни обриви (при 11,27% от всички болни), обичайно по долните крайници, които се разпространяват проксимално. По-рядко сме наблюдавали Livedo reticularis (2.11%), цианоза по пръстите (2.11%) и Erythema nodosum (1.41%). При 14.79% от случаите кожните лезии са били некротични, сигнификантно по-често при грануломатозата с полиангиит (при 61.90% от болните с кожни лезии, p = 0.0291).

При сравнителния анализ на кожното засягане при GPA и при MPA се установи значима разлика за еритемомакулозния обрив (p = 0.0046), палпируемата пурпура (p = 0.0112), еритема нодозум (p = 0.0000) и некрози (p = 0.0291), които са по-чести при GPA. До 1994 г. MPA се считаше за част от PAN. Затова сравнихме болните с PAN с тези с MPA. От общо 13 болни с PAN кожни промени наблюдавахме при 61.54%, което е сигнификантно по-често в сравнение с MPA (p = 0.0124). С кожни некротични лезии са 38.46%, което показва, че при MPA, като типичен васкулит на малките съдове, се наблюдават сигнификантно повече некрози в сравнение с васкулитите на средните съдове, какъвто е PAN. **Очно засягане** наблюдавахме общо при 32 болни (22.54%), сигнификантно по-често при GPA (p = 0.0000). Очните манифестации при GPA могат да ангажират както окото, така и тъканите около него.

Таблица 33. Сравнителен анализ на органни локализации при трите вида AAV

	Общо*	GP** (N = 80)	MPA** (N = 52)	EGPA** (N = 8)	p
Стави	93 (65.49%)	58 (62.37%)	26 (27.96%)	7 (7.53%)	0.0000
Очи	32 (22.54%)	25 (78.13%)	3 (9.38%)	3 (9.38%)	0.0000
Намалено зрение	25 (17.61%)	21 (84.00%)	1 (4.00%)	3 (12.00%)	0.0000
Конюнктивит	11 (7.75%)	11(100%)	0 (-)	0 (-)	0.0000
Еписклерит	9 (6.34%)	7 (77.78%)	2 (22.22%)	0 (-)	0.0593
Увеит	4 (2.82%)	3 (75.00%)	1 (25.00%)	0 (-)	0.4795
Слепота	7 (4.93%)	6 (85.71%)	1 (14.29%)	0 (-)	0.0325
Проптоза	7 (4.93%)	6 (85.71%)	1 (14.29%)	0 (-)	0.0325
ССС	54 (38.03%)	25 (46.30%)	22 (40.74%)	5 (9.26%)	0.6979
Миокардит	5 (3.52%)	2 (40.00%)	2 (40.00%)	1 (20.00%)	1.0000
Перикардит	12 (8.45%)	4 (33.33%)	6 (50.00%)	1 (8.33%)	0.6788
БАХ	3 (2.11%)	0 (-)	1 (33.33%)	2 (66.67%)	1.0000
СН	42 (29.58%)	21 (50.00%)	16 (38.10%)	4 (9.52%)	0.3793
НС	41 (28.87%)	28 (68.29%)	7 (17.07%)	5 (12.20%)	0.0000
ЧМН	15 (10.56%)	15 (100%)	0 (-)	0 (-)	0.0000
Главоболие	5 (3.52%)	3 (60.00%)	1 (20.00%)	0 (-)	0.5186
Инсулт	8 (5.63%)	6 (75.00%)	0 (-)	2 (25.00%)	0.0098
ММН	12 (8.45%)	5 (41.67%)	5(41.67%)	2 (16.67%)	1.0000
Полиневрит	11 (7.75%)	8 (72.73%)	1 (9.09%)	2 (18.18%)	0.0093
ЦНС	3 (2.11%)	2 (66.67%)	1 (33.33%)	0 (-)	1.0000

Кожа	59 (41.55%)	38 (64.41%)	13 (22.03%)	6 (10.17%)	0.0000
Еритемомакулопапулозен	16 (11.27%)	12 (75.00%)	3 (18.75%)[Д]	1 (6.25%)	0.0046
Палпируема пурпура	27 (19.01%)	15 (55.56%)	5 (18.52%)	5 (18.52%)	0.0112
Ливедо	3 (2.11%)	2 (66.67%)	1 (33.33%)	0 (-)	1.0000
Цианоза	3 (2.11%)	1 (33.33%)	2 (66.67%)	0 (-)	1.0000
Еритема нодозум	2 (1.41%)	2 (100%)	0 (-)	0 (-)	0.0000
Некрози	21 (14.79%)	13 (61.90%)	5 (23.81%)	2 (9.52%)	0.0291
ГИТ	6 (4.23%)	3 (50.00%)	3(50.00%)	0 (-)	1.0000
Кървене	5 (3.52%)	3 (60.00%)	2 (40.00%)	0 (-)	1.0000
Перфорация	1 (0.7%)	1 (100%)	0 (-)	0 (-)	1.0000
Илеус	2 (1.41%)	0 (-)	2 (100%)	0 (-)	0.3173
Асцит	1 (0.7%)	0 (-)	1 (100%)	0 (-)	1.0000

‘ база – всички пациенти; ** база – съответният общ брой по реда.*

Най-честата клинична изява, която сме наблюдавали, е конюнктивит – при 7.75%, следван от еписклерит при 6.34%, заден увеит – 2.82%, и грануломни маси в областта на орбитите с проптоза – при 4.93%. 78.12% от болните с очно засягане са с нарушения във функцията, а близо 22% са с перманентна загуба на зрение на засегнатото око. Най-честата диагноза, при която значимо по-често настъпва нарушение във функцията на очите, е GPA (p = 0.0000). Изненадващо при нашите болни ангажирането на **ССС** се среща често (при 38.03% от болните). Сравнявайки трите васкулита, установихме, че то е еднакво често при GPA и MPA (при 46.30% и съответно 40.74% от болните със засягане на ССС). Анализирайки отделните клинични прояви, установихме, че при GPA по-често се среща, без разликата да е значима, острата застойна сърдечна недостатъчност (p = 0.3793), а при EGPA – пулмоналната артериална хипертония, при MPA е най-чест перикардният излив (p = 0.6788), миокардит се наблюдава еднакво при GPA и MPA (при 40% от случаите). Васкулитът на **гастроинтестиналния тракт** се среща рядко при болните с AAV. При нашите болни сме наблюдавали гастроинтестинални симптоми при общо шест болни (4.2%), при трима болни с GPA и трима с MPA (50.00%), (p = 1.0000). Кървене от червата, дължащо се на активност на васкулита, сме наблюдавали при трима болни с GPA и при двама с MPA 60% и 40%, (p = 1.0000), една перфорация при болен с GPA и два илеуса при MPA. Асцит е имало при един болен с MPA. **Неврологичното засягане** при AAV може да бъде на периферната или на централната нервна система. Анализирайки неврологичните прояви при болните с AAV, установихме, че 41 болни (28.87%) имат такива. GPA е васкулитът с най-често неврологично засягане (при 68.29%), следван от MPA (17.07%) и EGPA (12.20%), p = 0.000. Засягането на периферната нервна система е под формата на множествен мононеврит или полиневрит, съответно при 12 (8.45%) и 11 болни (7.75%), а на централната нервна система като парализа на ЧМН, мозъчносъдов инцидент или данни за васкулит на ЦНС (от проведено MRT изследване), проявяващ се най-често с

упорито главоболие и паметови нарушения, съответно при 15 (10.49%), 8 (5.59%), 3 (2.1%) болни. Множествен мононеврит сме наблю-давали еднакво често при GPA и MPA. При PAN ангажиране на нервната система сме наблюдавали при 84.61% от болните, което е статистически значима разлика с AAV (при 28.67%, p = 0.0001). Засягане на ПНС при PAN сме установили при 69.23%. Сравнявайки двете групи болни по отношение на клиничните симптоми, установихме разлики между протичането – болните с PAN са с водещ полиневрит, следван от множествен мононеврит и засягане на ЧМН. При AAV водещо е засягането на ЧМН, следвано от множествен мононеврит, полиневритът е на последно място.

4. Профилограми на протичане на отделните AAV и на PAN

Направихме анализ на типа протичане на ANCA асоциираните васкулити по нозологични единици и се изготвиха профилограми (табл. 25). Наблюдават се четири основни типа на протичане, илюстрирани с профилограми.

При първата профилограма има фулминантно протичане, като първият пристъп на болестта е най-сериозен, често той не може да бъде овладян и болният се влошава, понякога завършва с летален изход. Понякога болестта протича с ясно обособени тласъци, след всеки от тях се стига до клинична ремисия, като всеки следващ пристъп може да бъде различен и да засегне различни органи и системи, което е илюстрирано на втората профилограма.

При третата профилограма се наблюдават пристъпи, при които болните се подобряват от проведеното лечение, но без да се достига клинична ремисия и персистира постоянна лека активност, на фона на която са възможни пристъпи с висока активност. Четвъртият тип протича с един-единствен пристъп, след който болните са добре и са в продължителна клинична ремисия или с много лека активност, често дължаща се на нарушената функция на органите и на настъпилите трайни увреждания след пристъпа. Обозначихме отделните видове профилограми с 1, 2, 3, 4 (табл. 25, фиг. 5).

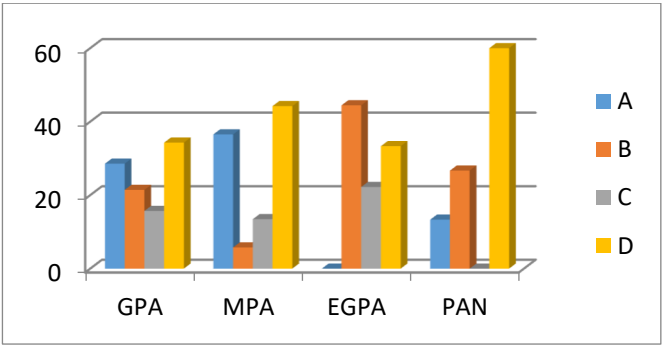
Таблица 25. Профилограми при отделните нозологични единици

Профи-лог-рама	GPA%	MPA%	EGPA%	PAN%	p*
1	28.57	36.54		13.33	GPA-MPA: 0.4548 GPA-EGPA: 0.1794 GPA-PAN: 0.5023 MPA-EGPA: 0.0969 MPA-PAN: 0.2596 EGPA-PAN: 0.6885
2	21.43	5.77	44.44	26.67	GPA-MPA: 0.0296 GPA-EGPA: 0.1663 GPA-PAN: 1.0000 MPA-EGPA: 0.0024 MPA-PAN: 0.1637 EGPA-PAN: 0.4270
3	15.71	13.46	22.22		GPA-MPA: 0.8507 GPA-EGPA: 0.8930 GPA-PAN: 0.2560 MPA-EGPA: 0.7497 MPA-PAN: 0.3680 EGPA-PAN: 0.2585
4	34.29	44.23	33.33	60	GPA-MPA: 0.3033 GPA-EGPA: 1.0000 GPA-PAN: 0.1075 MPA-EGPA: 1.0000 MPA-PAN: 0.4196 EGPA-PAN: 0.53.44
p*	1-2: 0.3613 1-3: 0.0884 1-4: 0.6089 2-3: 0.5434 2-4: 0.1111 3-4: 0.0176	1-2: 0.0003 1-3: 0.0127 1-4: 0.5488 2-3: 0.3183 2-4: 0.0000 3-4: 0.0012	1-2: 0.0833 1-3: 0.4497 1-4: 0.2002 2-3: 0.6056 2-4: 1.0000 3-4: 1.0000	1-2: 1.0000 1-3: 0.4617 1-4: 0.0438 2-3: 0.2196 2-4: 0.1123 3-4: 0.0029	

1 – един пристъп с прогресиращо влошаване; 2 – тласъци с ремисия между тях; 3 – тласъци без ремисия; 4 – един пристъп с ремисия или подобрение

**Clopper-Pearson exact two proportion test, proportions tested are indicated, significant results are marked in red.*

Анализирахме протичането при отделните видове васкулит.



A – един пристъп с прогресиращо влошаване, B – тласъци с ремисия между тях, C – тласъци без ремисия, D – един пристъп с ремисия или подобрение

Фигура 5. Разпределение на начините на протичане при отделните васкулити по диагноза

4.1. Профилограми на протичане при GPA. При болните с грануломатоза с полиангиит най-често наблюдавахме един пристъп на болестта (в 34.29% от случаите), като 28.57% са постигнали ремисия и след това не сме наблюдавали нови пристъпи. При 28.57% от случаите болестта е протекла фулминантно, като първият пристъп не може да бъде овладян и пациентите продължават да се влошават прогресивно. При 21.43% от пациентите васкулитът протича с обособени тласъци, като след всеки от тях влизат в клинична и имунологична ремисия. При 15.7% типът на протичане е с пристъпи, след които настъпват епизоди на подобрение, без да се достига ремисия и е налице персистираща активност. Всеки следващ пристъп може да включва нови и различни органи и системи. Единствената значима разлика, която установихме, е между болните с един-единствен пристъп, след който има подобрение или ремисия, и те са значимо повече от тези с пристъпи с подобрение, без да се достига ремисия ($p = 0.0176$).

4.2. Профилограми на протичане при MPA. При пациентите с микроскопски полиангиит, както и при тези с грануломатоза с полиангиит най-често болестта протича с един пристъп (в 44.23%). При 36.54% от случаите протичането е фулминантно, с

един пристъп. Всичките болни с фулминантно протичане са с данни за бъбречно засягане, като при четирима пациенти изходът е летален, а при останалите много бързо е настъпила бъбречна недостатъчност. Най-рядко е протичането с обособени тласъци и ремисия (5.77%), а болните с пристъпи и епизоди на подобрение, но без ремисия са 13.46%. Установихме статистически значима разлика между болните с един пристъп и прогресиращо влошаване и тези с няколко тласъка без ремисия, първите са значимо повече ($p = 0.0187$), също така и с тези с тласъци и последваща ремисия ($p = 0.0003$), първите са значимо повече. Болните с един пристъп с ремисия или подобрение са значимо повече от тези с няколко тласъка с ремисия между тях ($p = 0.0000$) и от тези с тласъци без ремисия ($p = 0.0012$).

4.3. Профилограми на протичане при EGPA. При пациентите с еозинофилна грануломатоза с полиангиит се наблюдават само три профилограми. Най-честа е профилограмата, при която болните имат ясно обособени тласъци, като след тях влизат в клинична ремисия (44.44%). В 33.33% от случаите има един пристъп, последван от трайна ремисия, и при 22.22% има пристъп, след който високата активност е овладяна, но не се постига ремисия. Не се установява разлика между трите профилограми.

4.4. Профилограми на протичане при PAN. Направи се профилограма и на протичането на PAN. При него също се наблюдават три типа протичане. Най-често се наблюдава един пристъп с последваща трайна ремисия (при 60% от случаите). При всичките болни ремисията е пълна, без остатъчна лека активност. Следваща по честота е профилограмата, при която има няколко пристъпа с обособена ремисия между тях (26.67%), и най-рядко е фулминантното протичане (13.33%). Болните с един пристъп и ремисия или подобрение са сигнификантно повече в сравнение с тези с няколко тласъка без ремисия между тях ($p = 0.0029$), както и с тези, които са с единствен пристъп и последващо влошаване ($p = 0.0438$).

5. Честота на известните антитела в българската популация с AAV

5.1. Анализ на антителата, разпределени по диагнози. Анализирайки болните с ANCA васкулити, установихме, че от всичките 145 болни 127 (87.59%) имат антинеутрофилноцитоплаз-

мени антитела. В таблица 26 е показано разпределението на болните със и без антитела по диагнози като процент от общия брой изследвани болни.

Таблица 26. Разпределение на болните със и без антитела по диагнози

ANCA	AAV общо (n = 145)	GPA (n = 80)	MPA (n = 52)	EGPA (n = 8)	p*	p GPA vs. MPA
ANCA (+)	127 (87.59%)	71 (88.75%)	46 (88.46%)	6 (75.00%)	0.9658-1.0000-0.6245	1.0000
ANCA (-)	15 (10.34%)	8 (10.00%)	5 (9.62%)	2 (25.00%)	1.0000-1.0000-0.4800	1.0000
Не е изследван	3 (2.07%)	1 (1.25%)	1 (1.92%)	1 (12.50%)	1.0000-1.0000-0.5080	1.0000
pANCA	48 (33.10%)	11 (13.75%)	31 (59.62%)	2 (25.00%)	0.0027-0.0015-0.9294	0.0000
cANCA	64 (44.14%)	56 (70.00%)	7 (13.46%)	1 (12.5%)	0.0003-0.0002-0.1630	0.0000
Не е изследван	13 (8.94%)	4 (5.00%)	5 (9.62%)	3 (37.50%)	0.4157-1.0000-0.0484	0.4999
Atnti-PR3	60 (41.38%)	48 (60.00%)	10 (19.23%)	2 (25.00%)	0.0111-0.0071-0.5832	0.0000
Anti-MPO	49 (33.79%)	12 (15.00%)	35 (67.31%)	1 (12.50%)	0.0040-0.0001-0.3882	0.0000
Anti-PR3/anti-MPO	8 (5.52%)	3 (3.75%)	4 (7.69%)	1 (12.50%)	0.7906-0.8222-0.9638	0.5551
Не е изследван	14 (9.66%)	5 (6.25%)	3 (5.77%)	3 (37.50)	0.5294-0.5698-0.0626	1.0000

** Fisher Exact probability test p – за сравнение между всяка от трите групи с общо проявения процент за съответния ред.*

От ANCA позитивните болни 55.90% са с GPA, 36.22% са с MPA и 3.94% с EGPA. Само при 15 от 145 болни (10.34%) не

сме установили наличие на антитела, при 3 болни не е провеждано изследване на антитела и диагнозата е поставена по други диагностични критерии. Анализирахме и сравнихме трите васкулита поотделно, и по-специално тези с GPA и MPA, тъй като броят на болните с EGPA е значимо по-нисък. При анализ за наличието на антитела в отделните групи васкулити установихме, че няма разлика в ANCA положителните болни – GPA 89.87% са ANCA позитивни, МПА – 90.19% от случаите, EGPA – 75%.

При типизирането на ANCA положителните болни, се установи, че при общо 44,14% се наблюдава цитоплазмен тип светене, при 33.10% – перинуклеарен тип светене. При пациентите с GPA статистически по-често се откриват цитоплазмени ANCA, при MPA – перинуклеарни ANCA (p = 0.0000). Направихме анализ и на изследваните антитела, насочени срещу специфични антигени и установихме, че е най-висока честотата на антителата, насочени срещу протеиназа-3 – при 41.38%, при 33.79% болни открихме антитела, насочени срещу миелопероксидаза, и при 5.52% има синтез на антитела и срещу двата антигена. Превалират anti-PR3 при пациентите с GPA и anti-MPO при MPA, разликата е статистически значима (p = 0.0000 и за двете антитела).

5.2. Връзка между тежест на болестта и ANCA. Сравнихме формата на болестта при наличието или липсата на антитела. Не установихме сигнификантна разлика в честотата на положителни ANCA пациенти в отделните групи, като системната форма е с най-голям процент положителни ANCA, а най-рядко се установяват при най-леката форма – локализираната. Тежката форма е на трето място по наличие на антитела.

При сравнение на ANCA позитивните с ANCA негативните установихме, че от пациентите с ANCA 16,53% са с локализирана форма, 25,98% са със системна, 33,07% са с генерализирана и 24,41% са с тежка. При ANCA негативните пациенти най-често наблюдаваната форма отново бе генерализираната (33.33%), следвана от тежката (26.67%) и най-редки са най-леките форми – локализирана и системна.

Таблица 27. Наличие на ANCA и форма на болестта

	AAV общо (n = 145)	Локализирана (n = 25)	Системна (n = 36)	Генерализирана (n = 49)	Тежка (n = 35)	p*
ANCA (+)	127 (87.59%)	21 (84.00%)	33 (91.67%)	42 (85.71%)	31 (88.57%)	0.8644-0.6939-0.9271-1.0000
ANCA (-)	15 (10.34%)	3 (12.00%)	3 (8.33%)	5 (10.20%)	4 (11.43%)	0.8671-0.9602-1.0000-1.0000
Не е изследвана	3 (2.07%)	1 (4.00%)		2 (4.08%)		-

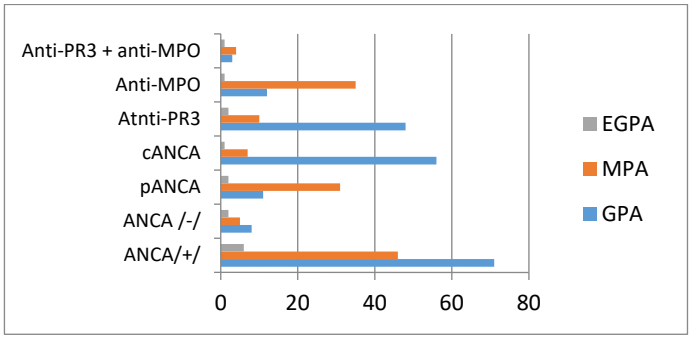
** Fisher Exact probability test p – за сравнение между всяка от трите групи с общо проявения процент за съответния ред.*

5.3. Анализ на антиген-специфичност на ANCA. При болните с наличие на ANCA бе проведено антиген-специфично изследване за anti-PR3 и anti-MPO. Такова не е проведено при 15 от пациентите с ANCA (табл. 28, фиг. 6).

Таблица 28. Процентно разпределение на различните ANCA

	Anti-PR-3 n = 60 (55.0%)	Anti-MPO n = 49 (44.9%)	Anti-PR-3, anti-MPO n = 8 (7.3%)	p*
Мъже:жени	28:32	18:31	3:5	0.6914
Възраст	50.03	53.59	55.00	0.5084
BVAS	18.10 (6.11)	16.81 (5.94)	18.13 (6.25)	0.1064
Локализирана	14 (23.33%)	1 (2.04%)	0 (-)	0.0253
Системна	13 (21.67%)	14 (28.57%)	1 (12.50%)	
Генерализирана	19 (31.67%)	20(40.82%)	6 (75.00%)	
Тежка	14 (23.33%)	14 (28.57%)	1 (12.50%)	
Починали	9 (15.00%)	10 (20.41%)	4 (50.00%)	0.1086
Ремисия	16 (26.67%)	10 (20.41%)	1 (12.50%)	

** Chi-square p value (Пол, Болест, Резултат); ANOVA Brown-Forsythe p value (Възраст, BVAS).*



Фигура 6. Процентно разпределение на ANCA при отделните васкулити

От всички болни, изследвани за антитела срещу специфични антигени, положителни са общо 109 болни, 55.0% имат антитела срещу протеиназа-3, 44.9% срещу миелопероксидаза, а 8 болни (7.3%) и срещу двата антигена едновременно.

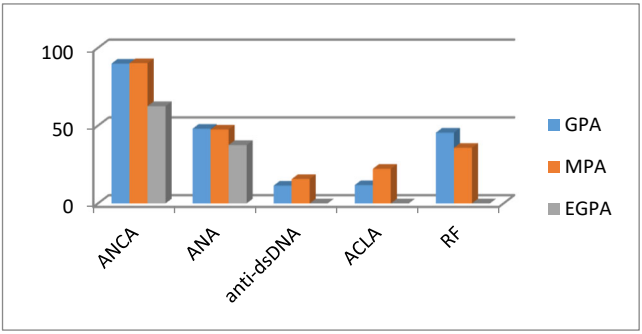
Установява се статистически значима разлика в честотата на антителата при отделните диагнози. В групата на болните с антитела срещу PR3 80.00% са с GPA, 16,67% болни са с MPA и 3.33% с EGPA. В групата на тези с антитела срещу MPO най-много са пациентите с MPA –71.43%, а с GPA са 24.49%, един болен е с EGPA (2.04%).

Потърсихме връзка между различните ANCA с тежестта и изхода на болестта, като сравнихме средната стойност на BVAS в двете групи, сравнихме и формата на протичане. Пациентите с anti-PR3 имат по-висок индекс за активност в сравнение с тези с anti-MPO (средна стойност на BVAS 18.10, SD = 6.11) от тези с anti-MPO (BVAS 16.81,SD = 5.94). В групата на anti-PR3 най-често се наблюдава генерализираната форма (при 31.67% от случаите), а най-рядко – системната (21.67%), съответно сред тези с anti-MPO, отново най-често е генерализираната форма (40.82%), а най-рядко срещана е локализираната (само един пациент, 2.04%). Болните, които имат едновременно и двете антитела, са с по-тежко протичане и при тях генерализираната форма (в 75%) е най-често и е по-често в сравнение с единичните антитела. Сравнихме двете групи по брой починали и такива, при които е постигната ремисия. Общо 23 болни са починали. Десет от тях (66.67%) имат антитела срещу MPO, 9 (60%)

срещу PR-3, като при 4 са налице едновременно и двете антитела. Процентът на починалите е по-висок в групата на болните с anti-MPO (20.41% срещу 15.00%, p = 0.1086), а на постигналите ремисия е по-висок в групата на anti-PR3 (26.67% и 20.41%), като разликите не показват статистическа значимост. Наблюдава се висок процент починали при наличие на двете антитела, но поради факта, че имаме малко на брой такива пациенти (с две антитела), анализът не успява да покаже значимост на връзката (въпреки че p стойността не е много по-голяма от 0.05). От проведения анализ се потвърждава връзка между наличието на антитела и формата на болестта, при генерализирана форма имаме значително по-честа проява на две антитела (p = 0.0253), при локализираната форма имаме значително по-честа проява на anti-PR3 и съответно значително по-рядко на anti-MPO.

5.4. Честота на други антитела, типични за колагенози и AAV. Анализирайки имунологичния профил на болните, потърсихме кои са другите антитела, типични за друга колагеноза, които се позитивират едновременно с ANCA (фиг. 7). Установихме, че при 50.51% от болните освен ANCA се откриват ANA, които са характерни за други СЗСТ като СЛЕ и ПСС, но могат да се позитивират неспецифично и при други автоимунни заболявания. Изненадващо РФ, който не е характерен за системните заболявания на съединителната тъкан и за васкулитите, се позитивира при 40.54% от болните, малко по-често при тези с грануломатоза на Вегенер. Антитела срещу dsDNA се позитивират при 13.23% (по-често при МПА), а антикардиолипинови при 16.67% от болните (отново по-често при МПА). Антитела срещу рибонуклеопротеини – анти-RNP и анти-RNP/Sm, намерихме при двама болни. Пациентите с МРА по-често, но без сигнификантна разлика позитивират в сравнение с грануломатозата на Вегенер anti-dsDNA и ACLA. При част от болните, при които болестта протича основно с гломерулонефрит и белодробна хеморагия, са изследвани антигломерулобазални антитела (AGMA). От проведените изследвания всички са негативни, което категорично показва, че тези антитела не участват в патогенезата на AAV и наличието им по-скоро е маркер на друго заболяване, въпреки че ANCA и AGBMA поразяват белия дроб и бъбреците по подобен механизъм, увреждайки малките съдове, и имат еднаква клинична картина. Наблюдавахме различни комбинации на припокриване между антителата – най-често припокриване на anti-dsDNA с anti-MPO

(при 7 болни), на anti-dsDNA с anti-PR3 (при 5), а при 3 болни има припокриване на anti-MPO, anti-dsDNA и ACLA. Болестта при тези болни е протекла основно с васкулитни прояви – с ГН и бъбречна недостатъчност при двама от пациентите, с белодробен васкулит и алвеоларна хеморагия при други двама. Наблюдавахме и други комбинации на имунологично припокриване.



Фигура 7. Честота на други антитела при AAV

5.5. Сравнение на антителата при PAN и MPA. ANCA са маркер за патофизиологично разграничаване на васкулитите на малките съдове и липсват при пациенти с PAN. Анализирахме наличните антитела при болните с PAN, преминали през клиниката (общо 13). От тестваните имунологични показатели при двама от тях установихме ANA и при двама – RF. При един болен се откриват положителни антитела срещу dsDNA. ANCA в граничен титър има при трима от тях (23.08%), като те не показаха типично светене за AAV. При нито един от ANCA позитивните не се позитивираха антитела срещу PR-3 или MPO. Ниски стойности на комплемент установихме при двама от пациентите с PAN.

6. Имунологични асоциации на клиника, локализации и протичане при различните антитела в българската популация

6.1. Разлики в протичането между пациентите с anti-PR3 и с anti-MPO. Направихме анализ на антиген-специфичните ANCA и съответното органно ангажиране по системи и клинични симптоми според BVAS (табл. 29).

Таблица 29. Сравнение на протичането на болестта между пациентите с anti-PR3 и anti-MPO

	Anti-PR3	Anti-MPO	Anti-PR3+ Anti-MPO	p*
ГДП	33 (56.9%)	8 (17.02%)	2 (25%)	0.0000-0.0492-0.9640
Бял дроб	48 (82.76%)	32 (68.09%)	5 (62.5%)	0.1273-0.3808-1.0000
Хемоптиза	27 (46.55%)	15 (31.91%)	3 (37.5%)	0.1862-0.9177-1.0000
ДН	3 (5.17%)	9 (19.15%)	2 (25%)	0.0536-0.2026-1.0000
Нодули	34 (58.62%)	15 (31.91%)	4 (50%)	0.0113-0.9355-0.5537
Кавитации	14 (24.14%)	7 (14.89%)	2 (25%)	0.3512-1.0000-0.8435
Инфилтрати	25 (43.1%)	14 (29.79%)	2 (25%)	0.2297-0.5534-1.0000
Матово стъкло	12 (20.69%)	17 (36.17%)	2 (25%)	0.1224-1.0000-0.8321
Фиброза	16 (27.59%)	13 (27.66%)	3 (37.5%)	1.000-0.8697-0.8844
Бъбрек	38 (65.52%)	39 (82.98%)	7 (87.5%)	0.0734-0.3973-1.0000
Протеинурия	25 (43.1%)	26 (55.32%)	3 (37.5%)	0.2941-1.0000-0.5822
Еритроцитурия	27 (46.55%)	30 (63.83%)	6 (75%)	0.1164-0.2579-0.8321
ХБН	28 (48.28%)	31 (65.96%)	6 (75%)	0.1057-0.2981-0.9233
ХДЛ	10 (17.24%)	7 (14.89%)	0 (0%)	0.9535-0.4538-0.5521
Очи	20 (34.48%)	7 (14.89%)	4 (50%)	0.0395-0.6432-0.0693
ССС	21 (36.21%)	24 (51.06%)	5 (62.5%)	0.1830-0.2979-0.8291
СН	18 (31.03%)	17 (36.17%)	3 (37.5%)	0.7286-1.0000-1.0000
ГИТ	3 (5.17%)	3 (6.38%)	2 (25%)	1.0000-0.2026-0.3039
НС	19 (32.76%)	11 (23.4%)	3 (37.5%)	0.4021-1.0000-0.6840
ПНС	7 (12.07%)	5 (10.64%)	2 (25%)	1.0000-0.6530-0.5803
ЦНС	15 (25.86%)	7 (14.89%)	2 (25%)	0.2576-1.0000-0.8435
Кожа	26 (44.83%)	15 (31.91%)	3 (37.5%)	0.2512-0.9908-1.0000
Некрози	8 (13.79%)	4 (8.51%)	1 (12.5%)	0.5909-1.0000-1.0000
Стави	41 (70.69%)	28 (59.57%)	6 (75%)	0.3239-1.0000-0.6624

** първа спрямо втора група – първа спрямо трета група – втора спрямо трета група (Fisher-Exact two test p values)*

Връзка на различните антитела с органните локализации

6.1.1. Манифестации от ГДП. При анализ на антиген-специфичните ANCA и органно ангажиране се установява, че от 58 пациенти с положителни PR3-ANCA 56.09% имат прояви от горния респираторен тракт като синузит, епистаксис, ринит, септални ерозии и перфорации, отити, мастоидити, субглотисна стеноза, което е статистически значима разлика с MPO-ANCA (p = 0.0000). При MPO-ANCA се наблюдават само леки прояви като ринорея, синузити и мастоидити.

6.1.2. Манифестации от бял дроб. От положителните PR3-ANCA пациенти при 82.76% се наблюдават белодробни симптоми, съответно при 68.09% с положителни MPO-ANCA (p = 0.1273). Най-честите симптоми и при двете групи са кашлица и диспнея. Болните с хемоптиза са повече в групата на PR3-ANCA, а тези, които са били с нарушения в белодробната функция и дихателна недостатъчност, са сигнификантно повече в групата на положителните MPO-ANCA (p = 0.0536). При сравнение на находките от образните изследвания се вижда, че грануломатозно възпаление (нодули, кавитации и инфилтрати) се открива два пъти по-често при пациентите с положителни PR3-ANCA, разликата е значима за белодробните нодули (p = 0.0113). Промени, говорещи за васкулит, като „матово стъкло“ се срещат малко по-често в групата на анти-MPO положителните (p = 0.1224). Не установихме разлика в белодробното ангажиране по типа на интерстициалната белодробна болест при двете групи (1.0000).

6.1.3. Бъбречни манифестации: Бъбрекът заедно с белия дроб е най-често засегнатият орган и при двете групи. От пациентите с антиген-специфични ANCA 74.33% са имали бъбречни прояви. Това се случва по-често при MPO-ANCA – 82.98% срещу 65.52% PR3-ANCA (p = 0.0734). Основните бъбречни симптоми, характерни за AAV, като протеинурия и еритроцитурия се срещат по-често при пациентите с MPO-ANCA, без да е налице статистически значима разлика. Бързо настъпване на бъбречна недостатъчност е наблюдавано по-често при MPO-ANCA гломерулонефритите, нуждата от хемодиализно лечение също е по-голяма при тази група болни. При 44 от пациентите е проведена ПББ. От проведените MPO-ANCA биопсии (24 бр.) в 62.5% се откриват

полулуния, в 28% некрози в комбинация с полулуния, а в 50% склероза на гломерули. При биопсиите на PR3-ANCA пациентите (20 бр.) в 40% от случаите има полулуния, в 25% комбинация от полулуния и некроза, в 30% се откриват склерозирали гломерули. Разлика в находките има само при склерозата на гломерулите, която се наблюдава по-често при MPO-ANCA биопсиите. Отлагане на депозити от имуноглобулини и комплемент при IIF изследване се откриват малко по-често при MPO-ANCA (62.5%) в сравнение с PR3-ANCA (50%) от биопсиите. Отлагане на C3 има при 50% за MPO-ANCA и 30% за PR3-ANCA. Не се установява разлика в средните стойности на креатинина при диагностициране на болестта при двете групи болни.

При 40.38% пациенти с PR3-ANCA има едновременно прояви от страна на бял дроб и бъбрек и 13.46% са със самостоятелно бъбречно ангажиране. В групата на MPO-ANCA 53.85% се представят с бъбречна болест, 28.20% с белодробна и бъбречна болест. Пациентите с антитела срещу миелопероксидаза в 30.77% от случаите са били с единствена проява гломерулонефрит.

6.1.4. Други клинични манифестации. По отношение на асоциацията на определени антитела с клинични прояви от други системи се установи, че 31 от болните имат очни прояви, те значимо по-често се наблюдават в групата на PR3-ANCA (34.28%), съответно 14.89% тази на MPO-ANCA ($p = 0.0395$). Прояви от страна на ССС се наблюдават по-често при пациентите с MPO-ANCA (51.06%), при съответно 36.21% за PR3-ANCA, $p = 0.1830$. ГИТ се засяга рядко и при двете групи болни. Нервната система се засяга по-често при PR3-ANCA (32.76%) и съответно в 23.4% при MPO-ANCA ($p = 0.4021$), периферната нервна система се поразява еднакво при двете групи, ЦНС – по-често при PR3-ANCA. Неврит на черепномозъчни нерви се наблюдава само в групата на PR3-ANCA позитивните болни (в 15.51%) и не се среща при MPO-ANCA позитивните. Периферната нервна система се засяга еднакво често и в двете подгрупи. Кожни обриви се срещат при 44.83% в групата на PR3-ANCA, съответно при 37.5% с MPO-ANCA ($p = 0.2512$). Некрози по кожата се наблюдават еднакво в двете групи. Няма разлика в ставното засягане, което се наблюдава при > 50% от случаите ($p = 0.3239$).

6.2. Анализ на групата пациенти с позитивни anti-PR3 + anti-MPO. Осем от пациентите (от общо 113) (табл. 29) при поставяне на диагнозата са имали антитела срещу двата вида антигени, което не е типично. Тези болни не са включени в анализа на болните с единични антитела. Бъбрекът е най-често засегнатият орган при тази група болни (в 87.5%), което е подобно на болните с MPO-ANCA. Следващият орган е белият дроб (62.5%), следван от стави, а от останалите системи: кожа, НС и ССС, участват еднакво (при 3 пациенти), ГИТ и очи – при 2 пациенти. При сравнение на тази група болни с останалите две групи се установява, че бъбрекът, очите, ССС, ГИТ и нервната система се засягат почесто в сравнение с болните с едно антитяло, което говори, че те са с по-изразени васкулитни прояви. Прави впечатление, че в тази група по-често настъпва нарушение във функцията на засегнатите органи и това са болните с най-висок процент бъбречна, дихателна и сърдечна недостатъчност.

6.3. Грануломатозно възпаление и васкулитни прояви при отделните ANCA. Антителата срещу PR-3 се считат за диагностичен маркер за грануломатоза. Сравнихме двете групи болни по наличие на васкулитни прояви и грануломатозно възпаление. Установихме сигнификантна разлика в честотата на грануломните маси в областта на горните дихателни пътища при двете антитела (56.9% при anti-PR3 срещу 17.02% при anti-MPO), p = 0.0000. Разликата е значима и при белодробните нодули, те се откриват при 58.62% PR-3 ANCA и при 31.91% MPO-ANCA (p = 0.0113). Не се установява статистически значима разлика при васкулитните прояви от страна на бъбрек, кожа, очи, нервна система, ГИТ при двете групи болни. Белодробен васкулит има при 20.69% PR-3 ANCA и 36.17% MPO-ANCA (p = 0.1224). В групата на PR-3 ANCA при 15.38% се установяват едновременно грануломно възпаление и белодробен васкулит срещу 17.95% в групата на анти-MPO ANCA.

7. Анализ на различни терапевтични режими при болни с AAV

7.1. Анализ на видовете режими на лечение. Нашите пациенти с AAV са получили подходящ за тежестта на тяхното заболяване режим на лечение. При направения анализ се

вижда, че с кортикостероиди са лекувани 122 болни (85.91%) при диагностицирането на заболяването в доза 1 mg/kg тегло, с постепенно намаление на дозата в следващите месеци. При 108 болни (75.06%) е провеждана пулс терапия с метилпреднизолон 1 g месечно допълнително към ежедневния прием на кортикостероид. При 98 болни (69.01%) е прилаган имуносупресор за индукция на ремисия. Имуносупресия под формата на ежемесечни пулс терапии с циклофосфамид е проведена при 66 болни, като при 64 от тях те са комбинирани с пулс терапия с метилпреднизолон, 10 болни са лекувани с циклофосфамид през устата, 7 болни (4.93%) с по-мек имуносупресор като метотрексат, а 10 болни (6.34%) с микофенолат мофетил. Плазмафереза е проведена при четирима болни (2.82%), всички са били с бъбречна недостатъчност, двама от тях са останали трайно на хрониодиализа, а една от пациентките е възстановила бъбречната функция. Вливане на имуновенин е приложено при 16 болни (11.27%). Триметоприм/сулфаметаксозол са получили само двама пациенти (1.41%) с грануломатоза на Вегенер и придружаваща инфекция. С ритуксимаб са лекувани 78 болни (54.93%). При 41 болни (37.5%) ритуксимаб е приложен след неуспех с предшестващо лечение с циклофосфамид. При 75 от болните (89.25%) е продължен кортикостероидът след прилагането на ритуксимаб, при 14 (17.95%) е комбиниран с азатиоприн, а при 9 (11.54%) – с микофенолат мофетил. При трима пациенти след лечение с ритуксимаб за индукция на ремисия е приложен циклофосфамид (двама от тях не са се повлияли от лечението с ритуксимаб и един е получил рецидив в хода на лечението с ритуксимаб).

Сравнихме болните, лекувани с циклофосфамид, с тези, лекувани с ритуксимаб (табл. 30).

При тежките форми на болестта 78 болни са лекувани с ритуксимаб и 76 с циклофосфамид. Не установихме съществена разлика при лекуваните с двата протокола пациенти с грануломатоза с полиангиит, като леко преобладават тези с циклофосфамид (68.42% и съответно 58.97%), p = 0.2248.

Таблица 30. Сравнение между болните, лекувани с циклофосфамид и ритуксимаб

	CYC (76)	Rit (78)	p
Години (средна)	47.87(13.84)	50.12(13.71)	0.3180
Пол (ж/м)	40/36 (52.63%/47.37%)	41/37 (52.56%/47.44%)	0.9921
WG **MPA** **CSS**	52 (68.42%) 22 (28.95%) 2 (2.63%)	46 (58.97%) 32 (41.03%)	0.2248 0.1183 0.1491
Anti-PR3 **Anti-MPO**	39 (51.32%%) 23 (30.26%)	37 (47.44%) 23 (29.49%)	0.6309 0.9170
Бъбрек **ХБН** **Креатинин (средна)**	53 (69.74%) 35 (46.05%) 206.97(213.13)	62 (79.49%) 52 (66.67%) 310.10(283.57)	0.1662 0.0108 0.0130
Нодули/ кавитации **Бел.васкулит**	39 (51.32%) 15 (19.74%) 16 (21.05%)	30 (38.46%) 12 (15.38%) 12 (15.38%)	0.1107 0.4779 0.3631
BVAS (средна)	17.07(6.36)	17.36 (5.45)	0.7610

CYC – циклофосфамид; Rit – ритуксимаб; ХБН – хронична бъбрена недостатъчност

При пациентите с микроскопски полиангиит доста по-често е предпочетено лечение с ритуксимаб, което е свързано с по-високата честота на бъбречно заболяване при тези болни (41.03% и съответно 28.95%), p = 0.1183. Не установихме разлика в режима на лечение при пациентите с позитивни антитела срещу протеиназа-3 (p = 0.6309) и миелопероксидаза (p = 0.9170). При пациентите с поне един бъбречен симптом предпочитан режим на лечение е този с ритуксимаб (79.49%). Бъбречната функция е била по-тежко нарушена в групата, лекувани с ритуксимаб, където болните с бъбречна недостатъчност са повече и разликата е значима (p = 0.0108). Средната стойност на креатинина при тази група е сигнификантно по-висока в сравнение с тези с циклофосфамид (p = 0.0130). Болните с белодробна болест и грануломатозно възпаление са лекувани по-често с циклофосфамид (51.32% и съответно 38.46%), тези

с данни за белодробен васкулит също по-често са получили лечение с циклофосфамид (21.05% срещу 15.38%). Не ус-тановихме разлика в тежестта на болестта, определена чрез BVAS, при двете групи болни, p = 0.7610.

7.2. Анализ на проведеното лечение за индукция на ремисия по диагнози. Направихме анализ на резултатите от лечението според диагнозата, вида на антителата и органното ангажиране. Резултатите са показани на табл. 31, 32, 33.

Таблици 31 и 32. Анализ на проведеното лечение по диагнози

	WG = 80		**MPA = 52**	**Резултат**	**p**
CYC (n = 33)	22 (27.5.%)	1 – 8 (36.4%) 2 – 7 **(31.8%)** 3 – 4 **(18.2%)**	11 (21.2%)	1 – 3 (27.3%) 2 – 4 **(36.4%)** 3 – 1 (9.1%)	0.6050 0.7933 0.4972
Rit (n = 37)	16 (20.0%)	1 – 10 **(62.5%)** 2 – 1 (6.3%) 3 – 1 (6.3%)	21 (40.4%)	1 – 12 **(57.1%)** 2 – 3 (14.3%) 3 – 0 (-)	0.7423 0.4433 0.2631
Rit след CYC (n = 41)	30 (37.5%)	1 – 14 (46.7%) 2 – 11 (36.7%) 1 – 1 (3.3%)	11 (21.2%)	1 – 3 (27.3%) 2 – 3 (27.3%) 3 – 2 **(18.2%)**	0.2708 0.5772 0.1122

1 – подобрен, 2 – ремисия, 3 – ex. letalis

	Rit		**CYC**		**p**
WG	46	1 – 24 **(52.2%)** 2 – 12 (26.1%) 3 – 2 (4.3%)	22	1 – 8 (36.4%) 2 – 7 **(31.8%)** 3 – 4 **(18.2%)**	0.2264 0.6257 0.0627
MPA	32	1 – 15 **(46.9%)** 2 – 6 (18.8%) 3 – 2 (6.3%)	11	1 – 3 (27.3%) 2 – 4 **(36.4%)** 3 – 1 **(9.1%)**	0.2623 0.2405 0.7554

1 – подобрен, 2 – ремисия, 3 – ex. letalis

Таблица 33. Анализ на проведеното лечение и резултата от него според типа на антителата

	Anti-PR3 (n = 60)	**Резултат**	**Anti-MPO (n = 48)**		**p**
CYC (n = 35)	14 (23.3%)	1 – 1 (7.1%) 2 – 6 **(42.9%)** 3 – 5 **(35.7%)**	14 (29.2%)	1 – 4 (28.6%) 2 – 3 (21.4%) **3 – 3 (21.4%)**	0.1494 0.2342 0.3961
Rit (n = 37)	12 (20.0%)	1 – 7 **(58.3%)** 2 – 0 (-) 3 – 1 (8.3%)	15 (31.3%)	**1 – 7 (46.7%)** 2 – 2 (13.3%) 3 – 1 (6.7%)	0.5543 0.2012 0.8760
Rit след CYC (n = 41)	25 (41.7%)	1 – 12 (48.0%) 2 – 9 (36.0%) 3 – 0 (-)	8 (16.7%)	1 – 2 (25.0%) **2 – 4 (50.0%)** 3 – 1 (12.5%)	0.2607 0.4859 0.0824

1-подобрен, 2-ремисия, 3-ex. letalis

При анализ на двата основни AAV (грануломатоза на Вегенер и микроскопски полиангиит) се установява, че 33 болни са лекувани с циклофосфамид без ритуксимаб, при 41 болни след циклофосфамид е приложен ритуксимаб, а при 37 – ритуксимаб без предшестващ циклофосфамид. Най-честата причина за заменянето на циклофосфамид с ритуксимаб е била недостатъчна ефективност на терапията и персистираща активност на болестта (при над половината от болните). Втората по честота причина е рецидив на заболяването след постигнато подобрение от лечение с циклофосфамид. При останалите са настъпили странични ефекти от лечението с циклофосфамид (панцитопения, повишени чернодробни ензими) и съдови инциденти в хода на провеждано лечение с циклофосфамид. Най-честите причини за директно лечение с ритуксимаб без циклофосфамид е, когато диагнозата се поставя по повод бързо развиваща се бъбречна недостатъчност (45.95%), следва наличието на рецидивиращи и трудно повлияващи се инфекции или противопоказания за циклофосфамид като ИБС с преживян ИМ и сърдечна недостатъчност.

При пациентите с грануломатоза с полиангиит най-често лечението е започнато с циклофосфамид (при 65%), при 30 от тях (37.5%) циклофосфамидът е заменен с ритуксимаб. Анализът на изхода от лечението показа, че в тази група най-много (62.5% от болните) са подобрени след лечение с ритуксимаб, следвани от

ритуксимаб след циклофосфамид (46.7%) и 36.4% са подобрени клинично от лечение самостоятелно с циклофосфамид. Ремисия са постигнали най-много болни след проведено лечение с циклофосфамид (31.8%), с ритуксимаб самостоятелно са най-малко 6.3%. Починалите са най-много в групата на циклофосфамида (18.2%) и най-малко – лекуваните с ритуксимаб след циклофосфамид (3.3%).

Болните с микроскопски полиангиит най-често са получавали ритуксимаб като първи избор на медикамент в комбинация с кортикостероиди (40.4%). Това е свързано с по-честото бъбречно ангажиране при тях и невъзможността за лечение с циклофосфамид в достатъчна доза и за достатъчно продължително време. Подобрени са най-много болни, провели лечение с ритуксимаб (57.1%). Ремисия е постигната по-често при тези, лекувани с циклофосфамид (36.4%).

При сравнение общо на лечението с ритуксимаб срещу циклофосфамид при всички пациенти се установява, че повлияването на болните при двата режима на лечение е сравнимо, като лекуваните с ритуксимаб статистически значимо по-често се подобряват (52.63% срещу 33.3%, p = 0.0377), но пък лекуваните с циклофосфамид по-често са с ремисия на заболяването – 33.33% срещу 20.51% (p = 0.2318). При пациентите, лекувани с ритуксимаб, починалите са по-малко, сравнени с циклофосфамид (15.15% срещу 5,13%, p = 0.3264).

7.3. Анализ на проведеното лечение според типа на антителата. Болните, които са имали антитела срещу протеиназа-3 и са лекувани с циклофосфамид и/или ритуксимаб, са общо 51 (85%). От лекуваните с циклофосфамид при 41.7% от пациентите циклофосфамидът е сменен с ритуксимаб на следващ етап. Самостоятелно ритуксимаб е приложен при 20% от болните с anti-PR3. От лечението с ритуксимаб самостоятелно са подобрени 58.3%, с ритуксимаб след циклофосфамид – 48,0%, и от циклофосфамид – 7.1%. Болните, лекувани с циклофосфамид, най-често са с ремисия (42.9%), следвани от тези с циклофосфамид и ритуксимаб (36%), при нито един болен не е постигната ремисия след самостоятелно лечение с ритуксимаб. От лекуваните с циклофосфамид са починали 37.5%, с ритуксимаб самостоятелно

– 8,3% и няма починали при лекуваните с ритуксимаб след циклофосфамид. Пациентите с антитела срещу миелопероксидаза са общо 48. Лекуваните с циклофосфамид и ритуксимаб самостоятелно са съответно 29.2% и 31.3%, с ритуксимаб след циклофосфамид – 16.7%. Най-добри резултати от лечението в тази група сме наблюдавали в групата на ритуксимаб, приложен след циклофосфамид (25% са подобрени и 50.0% са в ремисия, един е починал). От болните с анти-MPO 21.4% лекувани с циклофосфамид са починали, 12.5% от тези, лекувани с ритуксимаб след циклофосфамид, и най-малко от лекуваните с ритуксимаб като първа линия на лечение (6.7%). Най-добри резултати от проведеното лечение, оценени като болни с подобрение, се наблюдават при болните с anti-PR 3, лекувани самостоятелно с ритуксимаб ($p = 0.5543$), а като ремисия при болните, лекувани с ритуксимаб след циклофосфамид, в групата на анти-MPO, като разликите не са значими ($p = 0.4859$). И при болните с двете антитела най-много са починалите при лекуваните с циклофосфамид.

7.4. Анализ на органна локализация и проведено лечение

Таблица 34. Органна локализация и проведено лечение

	А	**К**	**О**	**ГДП**	**БД**	**Б**	**НС**
CYC (n = 35)	24 (68.37%)	14 (40.0%)	5 (14.28%)	15 (42.85%)	**27 (77.14%)**	16 (45.71%)	7 (20.0%)
Rit (n = 37)	13 (35.13%)	5 (13.51%)	3 (8.10%)	12 (32.43%)	15 (40.54%)	**27 (72.97%)**	2 (5.40%)
Rit след CYC (n = 41)	14 (34.14%)	12 (29.26%)	4 (9.75%)	21 (51.21%)	**30 (73.17%)**	**28 (68.29%)**	7 (17.07%)

А – артрит, К – кожа, О – очи, ГДП – горни дихателни пътища, БД – бял дроб, Б – бъбрек, НС – нервна система

При анализ на органната локализация на пациентите, лекувани с трите режима, установихме, че с циклофосфамид самостоятелно са лекувани болните, които най-често са имали прояви от страна на бял дроб и стави (77.14% и 68.37%), с ритуксимаб самостоятелно тези с бъбрек и бял дроб (72.97% и 40.54%), а ритуксимаб след неуспех от лечение с циклофосфамид са получили пациентите с прояви от страна на бял дроб и бъбрек (73.17% и 68.29%). При сравнение на органната локализация не се намери разлика в режима на лечение с изключение на бъбрека, където е предпочетено лечение с ритуксимаб (при 72.95%).

Шестнадесет от пациентите, които са лекувани с циклофосфамид, са били със засягане на три системи, девет на четири, осем на две и един пациент на пет системи. Само един пациент с моноорганно засягане е бил лекуван с циклофосфамид. Обратно, при тези, лекувани с ритуксимаб, 14 са с моноорганно засягане, и то на бъбрек, 12 със засягане на две системи, осем на три, двама на четири и един на пет.

7.5. Анализ на лекуваните с ритуксимаб пациенти. При 78 болни е проведено лечение с ритуксимаб за различно дълъг период. Протоколът, по който е проведено лечението, е 375 mg/m^2 телесна повърхност i.v. веднъж седмично за четири седмици. При 24.4% от пациентите е проведен един курс на лечение, при 34.62% са проведени два курса, при 19.2% три курса и при 21.8% четири или повече курса. Девет от пациентите допълнително са лекувани с микофенолат мофетил, четирима с метотрексат, при четирима е проведена плазмафереза, и при осем – лечение с венозни имуноглобулини без задоволителен ефект. Всички пациенти по време на лечението с ритуксимаб са получавали и кортикостероид. От болните 89.25% са продължили да приемат кортикостероид след прилагането на ритуксимаб. При трима от пациентите ритуксимаб е заменен с циклофосфамид (поради липса на ефект при двама, при един с рецидив на болестта в хода на лечението с ритуксимаб).

При 41 болни ритуксимаб е приложен след неуспех с предшестващо лечение с циклофосфамид. Причините за заменянето на циклофосфамид с ритуксимаб са описани в анализа на проведеното лечение (раздел 7.2). Най-честите причини за директно лечение с ритуксимаб без предшестващ циклофосфамид са: когато диагнозата се поставя по повод на бързо развиваща се бъбречна недостатъчност

(45.9%), наличието на рецидивиращи и трудно повлияващи се инфекции или противопоказания за лечение с циклофосфамид.

Направихме анализ на тежестта на заболяването, оценена чрез BVAS, на основното органно засягане, на антителата и резултата от лечението. Основните характеристики на пациентите са представени в таблица 35. Средната възраст на пациентите е 50.1 г., SD = 13.8, като варира от 18 г. до 76 г. Средният BVAS е 17.4, SD = 5.44. Най-високата стойност на BVAS преди лечението е 30.

7.5.1. Анализ на клиничната картина на пациентите. При анализ на органната локализация на пациентите, лекувани с ритуксимаб (табл. 36) се установява, че с ритуксимаб самостоятелно най-често са лекувани тези с прояви от страна на бъбрека, а циклофосфамид е последван от ритуксимаб при пациентите с прояви от страна на бял дроб и бъбрек.

Таблица 35. Характеристики на пациентите, лекувани с ритуксимаб

	N = 78	**Подобрен**	**Ремисия**	**Стациониран**	**Ex letalis**	**p**
Възраст	50.1 (13.80)	50.3 (13.35)	45.11 (16.28)	50.9 (11.81)	52.7 (8.08)	0.518
Пол М/Ж	37/41	17/21	6/4	11/11	1/3	0.837
Бъбрек	62 (79.5%)	16 (25.8%)	3 (4.8%)	10 (16.1%)	2 (3.2%)	0.585
Бел. васкулит	12 (15.4%)	3 (25.0%)	**7** (58.3%)	1 (8.3%)	0 (-)	0.000
Пулмо-ренална	72 (92.3%)	35 (48.6%)	16 (22.2%)	17 (23.6%)	**4** (5.6%)	0.886
BVAS	17.4 (5.44)	17.7 (5.03)	19.3 (6.33)	16.2 (4.81)	16.6 (4.53)	0.358
Креатинин	310.1 (284.01)	329.6 (339.83)	362.1 (198.78)	302.3 (206.93)	162.0 (150.10)	0.120
Анти-PR3	37 (47.4%)	**16** (43.2%)	6 (16.2%)	9 (24.3%)	5 (13.5%)	0.416
Anti-MPO	23 (29.5%)	8 (34.8%)	3 (13.0%)	**9** (39.1%)	2 (8.7%)	0.472
ANCA (-)	10 (12.8%)	5 (50.0%)	1 (10.0%)	4 (40.0%)	0 (-)	0.550
ANCA (+)	67 (85.9%)	**34** (50.7%)	16 (23.9%)	14 (20.9%)	3 (4.5%)	0.850

**Значимият резултат се дължи на проявата на ремисия – много по-често от очакваното при белодр. васкулит, при което би нямало такава значимост.*

Таблица 36. Анализ на органната локализация на лекуваните с ритуксимаб пациенти

	А	К	О	ГДП	БД	Б	НС
Rit (n = 37)	13	5	3	12	15	**27**	2
Rit след CYC (n = 41)	14	12	4	21	**30**	**28**	7

А – артрит, К – кожа, О – очи, ГДП – горни дихателни пътища, БД – бял дроб, Б – бъбрек, НС – нервна система

Пациентите, които са имали поне един важен бъбречен BVAS елемент (еритроцитурия, повишение в стойностите на креатинина с поне 30%, данни за гломерулонефрит от проведена ПББ) и не са имали прояви от други органи, са 38.46%, тези само с белодробни прояви като нодули, кавитации, инфилтрати, плеврит, алвеоларни хеморагии са 14.10%, а с пулморенална болест са 39.73%. Ремисия е била постигната при общо 16 болни (20.51%).

От пациентите с ренален васкулит, лекувани с ритуксимаб (общо 62 болни), с протеинурия са 70.96%, с еритроцитурия 87.09%, с бъбречна недостатъчност – 82.25%. Средната стойност на креатинина е 310.1 mcmol/l, SD = 284.01. Средната стойност на протеинурията е 2.42 (SD = 3.01) G/L. В тази група, с изолирано бъбречно засягане, се отчита добро повлияване от лечението – 25.8% от болните са подобрени и 4.8% са в ремисия. Починали са двама пациенти. При 2/3 от случаите стойностите на креатинина са с тенденция за понижение след проведеното лечение, при 1/3 от тях той е достигнал нормални стойности и при 1/3 не се е повлиял. Четирима от пациентите в хода на лечението с ритуксимаб са започнали хрониодиализа. Пациентите с протеинурия имат добър ефект от проведеното лечение (1/3 са без протеинурия след курса с ритуксимаб, 1/3 са с намаление на стойностите на протеинурията, 1/3 са без промяна). Добри резулатати се наблюдават и по отношение на еритроцитурията.

От болните, провели лечение с ритуксимаб с белодробно засягане са 42 (53.8%), като с грануломатозно възпаление са 38.5%, 15.4% са с васкулитни прояви. След проведеното лечение повече от половината от всички пациенти с белодробен васкулит са с ремисия (58.3%), подобрени са 25% и няма починали. Що се отнася до кавитациите, от пет болни с кавитации трима са в ремисия, един е имал подобрение и един е без промяна от лечението. При

болните с белодробен васкулит и лечение с ритуксимаб значимо по-често се наблюдава ремисия в сравнение с другите органни локализации (при 58.3%, p = 0.0000).

С пулморенална болест са 25.6% от пациентите на лечение с ритуксимаб. От тях почти половината са се подобрили след лечение (48.6%), при 22.2% е достигната ремисия. Това е групата с най-много починали пациенти – 5.6%.

Резултатите от лечението показват, че подобрените болни и тези в ремисия са сигнификантно повече от стабилизираните, влошилите се и починалите (p = 0.0000).

7.5.2. Анализ на пациентите в зависимост от антителата. Преди лечението с ритуксимаб 85.9% от пациентите са позитивни за ANCA. От тези пациенти 50.7% са с подобрение след ритуксимаб. При ANCA негативните пациенти подобрените са 50%. При 82% от ANCA позитивните антителата се негативират след лечение. От пациентите, останали позитивни след терапията, при 41.6% са срещу миелопероксидаза, при 33.3% – срещу протеиназа-3, а при трима не е проведено изследване на специфичността им. От пациентите, които не са се повлияли имунологично, клинично подобрение има при двама, а при останалите десет не се наблюдава и клинично подобрение (83.33%).

7.5.3. Анализ на резултатите от лечението. Анализът на резултатите от проведеното лечение според вида на антителата, показва, че при болните с PR3-ANCA най-много са подобрените (58.3%) след самостоятелно приложение на ритуксимаб, болните с ремисия са повече, когато има предхождащо лечение с циклофосфамид (табл. 37). В групата на PR3-ANCA нивата на ремисия са по-ниски от тези на MPO-ANCA (36.0% и съответно 50%), като те също са в групата на ритуксимаб след циклофосфамид. При болните с anti-MPO-ANCA нивата на ремисия в групата след циклофосфамид са 50%, но в тази група са и най-много починалите болни (12.5%). Осем от болните, подобрени след проведено лечение и на фона на продължаващо лечение с ритуксимаб, са получили рецидив на болестта – четирима с грануломатоза с полиангиит и анти-PR-3 антитела и четирима с микроскопски полиангиит и анти-MPO антитела. При трима от тях антителата са се

позитивирали преди клиничния рецидив. Всички те са провеждали лечение с ниска доза ГКС, а един е приемал паралелно и азатиоприн.

Таблица 37. Анализ на резултатите от лечение според типа на антителата

	Anti-PR3 (n = 60)	**Резултат**	**Anti-MPO (n = 48)**	**Резултат**	**p**
Rit (n = 37)	12 (20.0%)	1 – 7 **(58.3%)** **2 – 0 (-)** **3 – 1 (8.3%)**	15 (31.3%)	1 – 7 (46.7%) 2 – 2 (13.3%) 3 – 1 (6.7%)	0.5543 0.2012 0.8760
Rit след CYC (n = 41)	25 (41.7%)	1 – 12 (48.0%) 2 – 9 (36.0%) 3 – 0 (-)	8 (16.7%)	1 – 2 (25.0%) 2 – 4 (50.0%) 3 – 1 (12.5%)	0.2607 0.4859 0.0824

1 – подобрен, 2 – ремисия, 3 – ex. letalis

Починали са общо 4 пациенти. Причините са инфекция и неовладяна активност на заболяването. Подробният анализ на тези болни е представен на табл. 38.

Таблица 38. Анализ на починалите пациенти, лекувани с ритуксимаб

	Пациент 1	**Пациент 2**	**Пациент 3**	**Пациент 4**
Диагноза	GPA	MPA	GPA	MPA
Давност на болестта	6 мес.	24 мес.	16 мес.	15 мес.
Възраст	46 г.	51 г.	44 г.	35 г.
Органи	ГДП, очи, бял дроб, бъбрек	Бял дроб, бъбрек	Кожа, ГДП, очи, бял дроб, бъбрек	Бял дроб, бъбрек
Rtx	1	1	1	2
Причина за смърт	Инфекция, активност	Инфекция	Активност	Активност
Време след Rtx	4 мес.	1	6 мес.	10

Най-честите странични реакции, които сме наблюдавали в хода на лечението с ритуксимаб, с изключение на интеркурентните

инфекции на горни дихателни пътища, бял дроб и бъбреци, са общо неразположение след инфузията – при шест болни, алергична реакция при един болен, активиране на Herpes zoster инфекция при един болен, редукция на тегло при един болен.

8. Анализ на клиничната картина и на причините за смърт при починалите пациенти

Направихме анализ на починалите пациенти, на клиничната им картина и причините за настъпване на смърт, както и на режимите проведено лечение при тези болни. Също така анализирахме каква е преживяемостта и определихме рисковите фактори за неблагоприятен изход.

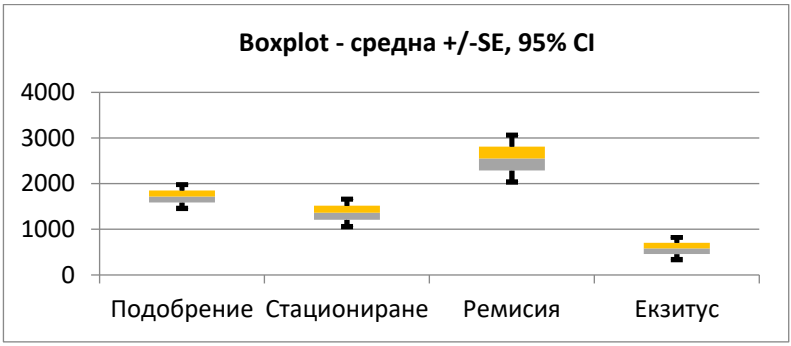
Общо 142 болни са включени и са проследени за средно 1703 дни. От тях по време на проследяването са починали 18 (12.68%). Средното време до настъпване на смъртта е 581.3 дни. Едногодишната и петгодишната преживяемост за всички пациенти е 94.4% и съответно 88.7%. От друга страна, ремисия е била постигната при 35 пациенти (24.65%). От починалите пациенти 9 са мъже и 9 са жени. Средната възраст на починалите е 51.78 г., SD = 14.16. Разпределението по диагнози е: с грануломатоза с полиангиит – 9 болни (това са 11.25% от болните с GPA), с микроскопски полиангиит – 7 болни (това са 13.46%) и с еозинофилна грануломатоза с полиангиит – 2 болни (това са 25%). Преживяемостта за периода на проследяване по диагнози е 2091.1 дни за грануломатоза с полиангиит, 1551.7 за микроскопски полиангиит.

Преживените дни при пациентите с подобрение, стационираните, тези в ремисия и починалите са анализирани от гледна точка на наблюдаваните средни стойности за всички резултати (табл. 39 и фиг. 8). Установи се значима разлика в средния брой преживени дни за всички двойки сравнения с едно изключение – при сравнението на подобрените спрямо стационираните. При пациентите, при които е постигната ремисия, преживяемостта в дни е статистически значимо по-висока от болните, които са подобрени или стационирани.

Таблица 39. Брой преживени дни до настъпването на смърт

Резултат	Средна	Ст.грешка	95% CI LB	95% CI UP
Подобрение	1 717.8	132.4	1 458.2	1 977.4
Стациониране	1 361.8	153.8	1 060.3	1663.3
Ремисия	2 549.4	261.8	2 036.3	3 062.5
Екзитус	581.3	123.9	338.4	824.1
Общо	1 703.0	105.0	1 497.2	1 908.8

Всички разлики в общия брой дни, без тази между Подобрение и Стациониране, са статистически значими ($p < 0.05$)



Фигура 8. Брой на преживените дни според настъпилия резултат

Направен е анализ на преживяемостта при пациентите за двете основни диагнози (грануломатоза на Wegener и микроскопски полиангиит), което би обусловило определена разлика спрямо общата функция на преживяемост, предвид че тези две групи представляват над 90% от всички изследвани. Използван е методът на Каплан-Майер, като е потвърдена значима разлика между двете функции на преживяемост. До около ден 1500 кумулативните нива на преживяемост за двете групи са относително еднакви, след това при МРА започва да се забелязва значително по-ниска преживяемост, което и обуславя по-ниския брой преживени дни при пациентите с тази диагноза (табл. 40 и граф. 5).

Допълнително са направени два теста за определяне на значимост и при двата се установява, че пациентите с грануломатоза на Wegener преживяват повече от тези с микроскопски полиангиит, като разликата е статистически значима ($p = 0.0124$ и съответно $p = 0.0287$).

Таблица 40. Обобщени показатели за преживяно време по диагнози

Средни и медиани за преживяно време по диагнози

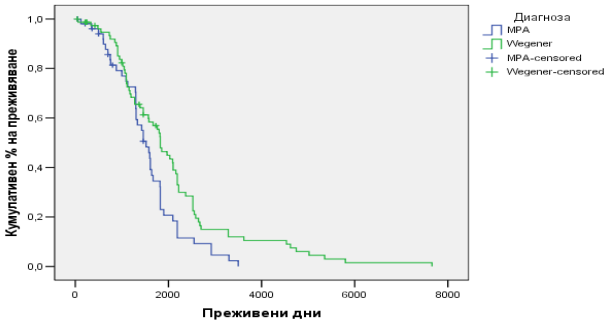
Диагноза	Средна				Медиана			
	Показател	Ст. Грешка	95% Доверителен интервал		Показател	Ст. Грешка	95% Доверителен интервал	
			Долна граница	Горна граница			Долна граница	Горна граница
Wegener	2 092.1	166.8	1 765.1	2 419.1	1 825.0	119.7	1 590.4	2 059.6
MPA	1 551.7	109.2	1 337.6	1 765.7	1 520.0	145.0	1 235.9	1 804.1
Общо	**1 879.3**	**112.5**	**1 658.8**	**2 099.7**	**1 640.0**	**107.6**	**1 429.1**	**1 850.9**

Персентили

Диагноза	25		50		75	
	Показател	Ст. Грешка	Показател	Ст. Грешка	Показател	Ст. Грешка
Wegener	2 525.0	148.6	1 825.0	119.7	1 100.0	70.6
MPA	1 825.0	126.2	1 520.0	145.0	1 090.0	194.0
Общо	**2 190.0**	**135.8**	**1 640.0**	**107.6**	**1 100.0**	**76.3**

Общо сравнение: p-стойности

	Chi-Square	df	p
Log Rank (Mantel-Cox)	6.2464559	1	0.0124
Tarone-Ware	4.7845494	1	0.0287



Графика 5. Функция на преживяемостта по диагнози

При пациентите с грануломатоза на Wegener 50% са преживели 5 години, 25% са преживели 6,91 години. За микроскопски полиангиит 25% са преживели 5 години и 50% са преживели 4.16 години.

8.1. Фактори, които се асоциират със смъртността. За да определим факторите, които се свързват с повишена смъртност при нашите пациенти, направихме едномерен анализ на някои основни показатели и ги сравнихме с тези при пациентите, при които е постигната ремисия. Тези показатели са представени на табл. 41.

От всички 17 показателя, които сме изследвали, нито един не показва сигнификантна разлика в двете групи болни. По-изразена разлика се наблюдава единствено при скоровете за активност (BVAS и

FFS). Това се разминава леко с изводите от многомерния анализ. Но те не си противоречат, поради по-слабата сила на едномерния – при него се проявява само един фактор, а те в действителност са повече (обсъжда се в параграфа за предиктори за смъртен изход).

Таблица 41. Сравнение на основните характеристики на починалите пациенти и на тези в ремисия

	Починали – N = 18	**Ремисия – N = 35**	**P**
М/Ж	9/9	11/24	0.1514
Възраст	51.78 (14.16)	47.29 (15.01)	0.3020
BVAS	20.33 (5.74)	16.83 (7.55)	0.0720
FFS	1.28 (0.87)	0.83 (0.81)	0.0850
Wegener	9 (50%)	22 (62.86%)	0.6154
MPA	7 (38.89%)	10 (28.57%)	0.4955
CSS	2 (11.11%)	2 (5.71%)	0.5411
Брой системи **1** **2** **3** **4** **5**	 1 7 7 2 1	 4 5 10 8 8	0.4800
Бял дроб **Кавитации** **Алвеолит**	12 (66.67%) 6 6	18 (51.43%) 4 3	0.4428
Бъбрек **Протеинурия** **Еритроцитурия**	9 (50%) 5 9	19 (54.28%) 18 13	1.0000
ANCA **Anti-PR3** **Anti-MPO** **Anti-PR3+anti-MPO**	17 (94.44%) 9 (60%) 10 (66.67%) 4 (26.67%)	30 (85.71%) 16 (45.71%) 10 (28.57%) 0	0.8628 0.9858 0.0153
CRP	17 (94.44%)	24 (68.57%)	0.2222
Анемия	14 (77.78%)	18 (51.43%)	0.1185
Thr	17 (94.44%)	31 (88.57%)	0.9761
Креатинин	9 (50%)	13 (37.14%)	0.4369
Инфекция	5 (27.78%)	4 (11.43%)	0.1857
CYC	10 (55.56%)	25 (71.43%)	0.5403
Rit	4 (22.22%)	14 (35%)	0.2562
Диализа	3 (16.67%)	4 (11.43%)	0.7140

8.1.1. Асоциация с активността и органното ангажиране. При анализ на активността при диагностицирането на болестта за

починалите пациенти се установява среден BVAS 20.33, SD = 5.74 и средна стойност на FFS 1.28, SD = 0.87. Трима от починалите пациенти в началото на заболяването не са имали лоши прогностични фактори, техният FFS е 0 т., а шест болни са имали повече от един лош прогностичен фактор.

От починалите само един пациент е бил със засягане само на един орган, повечето (94.44%) са имали засягане на повече от една система. Със засягане на бял дроб са 12 болни (66.67%), от тях половината са с белодробни кавитации, а останалите са с белодробен васкулит. С данни за бъбречно засягане са 9 от починалите (50%). Всичките починали пациенти са с нарушена бъбречна функция, при всички се наблюдава еритроцитурия.

8.1.2. Асоциация с ANCA. с положителни ANCA са 17 от починалите болни, при един не е проведено изследване на ANCA. На практика не се установяват ANCA негативни починали пациенти. От починалите 66.67% са с антитела срещу миелопероксидаза, 60% срещу протеиназа-3, като при четири от болните са налице едновременно и двете антитела. Антитела срещу dsDNA се откриват при един болен, антифосфолипидни също при един. Не се откриват разлики в смъртността между PR-3 позитивните и MPO позитивните пациенти.

8.1.3. Асоциация с лабораторни показатели. При анализ на основните лабораторни показатели се установява, че с повишени стойности на С-реактивен протеин са 94.44% от починалите, толкова са и тези с повишени тромбоцити, с анемия са 77.78%. Повишени стойности на креатинин се установяват при 50% от починалите болни. Средната стойност на креатинина е 211.72 μmol/l (SD = 122.07).

8.1.4. Асоциация с проведеното лечение. Проведеното лечение е според избора на лекуващия лекар. При 55.56% от починалите болни е проведен курс с циклофосфамид, а при 22.22% с ритуксимаб в режим за индукция на ремисия. При един болен е проведена допълнително плазмафереза, а при четирима – вливане на имуновенин. Пет от болните са лекувани само с пулс терапия с кортикостероид и не са получили имуносупресивно лечение. Процентът на починалите в групата на лекуваните с

циклофосфамид е по-висок в сравнение с лекуваните с ритуксимаб (p = 0.040) (табл. 41).

8.2. Анализ на основните причини за смърт. При анализа на пациентите разделихме причините за смърт на такива, които са пряко свързани с васкулита, и такива, които са асоциирани с васкулита (табл. 42).

Таблица 42. Причини за смърт

Причина	Брой починали	Диагноза
Пряко свързани с васкулита	7	
ГДП и бял дроб	3	GPA
Алвеолит и уремия	1	MPA
Уремия	4	MPA
Активност и инфекция	3	
Сепсис	2	GPA
Аспергилоза	1	GPA
Асоциирани с васкулита причини		
Инфекции	4	
Аспергилоза	1	MPA
Чернодр. абсцес	1	GPA
Хеморагичен колит и перитонит	1	MPA
Холецистит и перитонит	1	GPA
Усложнения	4	
ССЗ	3	CSS+GPA
Полиорганна недостатъчност и уремия	1	MPA

От починалите болните 38.89% са починали от причина, която е пряко свързана с васкулита и това е активност с фатално засягане на поразените органи, най-често белите дробове и бъбреците. Това са некротизиращо грануломатозно възпаление на ГДП и белите дробове, белодробен алвеолит и уремия на базата на бързо развила се бъбречна недостатъчност. Трима от болните на фона на високата активност на заболяването са насложили инфекция, двама са развили сепсис, един е с аспергилоза и дихателна недостатъчност. Смърт от различни усложнения на васкулита се наблюдава при 44.44% от болните. Причината за смъртта е инфекция на фона на провеждано лечение и на овладяна активност на васкулита, и настъпили усложнения от трайните увреждания на органите, вследствие болестта и страничните ефекти на проведеното лечение.

Водеща причина за смърт при нашите пациенти е уремията, резултат на некротизиращ гломерулонефрит и свързаните с нея увреждания на други органи и системи (33.33% от смъртните случаи). Това са една трета от болните, което показва лошото прогностично значение на бъбречната увреда при ANCA асоциираните васкулити. Микроскопски полиангиит е основната диагноза, довела до уремия. Една трета от починалите са били с инфекции, които са се оказали фатални. Преобладаващата част от болните с инфекции са с грануломатоза с полиангиит. При болните с грануломатоза с полиангиит по-честата причина за смъртен изход са късните усложнения (години след диагностицирането на васкулита), свързани с трайно органно увреждане и по-рядко това е активност на заболяването.

8.3. Анализ на пациентите, при които е постигната ремисия. Направихме анализ на пациентите в ремисия и ги сравнихме с починалите (табл. 43). В ремисия са 35 болни (24.65%). В тази група преобладават жените. Установихме несъществени разлики по отношение на скоровете за активност в сравнение с починалите. Средният BVAS при тези болни е 16.83, SD = 7.55, а FFS е 0.83, SD = 0.81. Над половината от болните не са имали лоши прогностични фактори при диагностицирането на болестта. Преобладават пациентите с многоорганно ангажиране – над 3 и повече системи. При пациентите с грануломатоза с полиангиит по-често се постига ремисия. Не се открива разлика в процента на белодробно и бъбречно ангажиране при болните с трайна ремисия. При пациентите с изолирано белодробно засягане смърт се наблюдава сигнификантно по-често в сравнение с ремисията (p = 0.0168) (табл. 43). С нарушения на бъбречната функция са 37.14%, средната стойност на креатинина е 158.44 μmol/l. (SD = 160.42), на диализно лечение са четирима болни (11.43%), като при половината от тях след проведената конвенционална терапия диализата е преустановена.

С наличие на ANCA са 85.71% от болните, преобладават тези с антитела срещу протеиназа-3 (45.71%) и няма такива с антитела срещу двата антигена едновременно. За сравнение в групата на починалите болни преобладават анти-MPO антителата. С повишени стойности на С-реактивен протеин, с анемия и повишени стойности на креатинин са по-малък процент от болните в сравнение с починалите.

При 71.43% ремисия е постигната след проведено лечение с циклофосфамид, а при 35% с ритуксимаб в режим за индукция на ремисия. При четирима има вливане на имуновенин. Това потвърждава важността на имуносупресивната терапия за прогнозата на AAV. Придружаваща инфекция е налице само при четирима (11.43%) от болните, което е сигнификантно по-малко от починалите и илюстрира защо е важно активното търсене и правилното лечение на инфекциите при тези болни.

Таблица 43. Сравнение на клиничната картина при болните с трайна ремисия и починалите

Система	Ремисия, N = 35	%	Ex. letalis, N = 18	%	p
Артрит	24	68.57	11	61.11	0.8127
Кожни прояви	16	45.71	9	50.00	0.9956
ГДП	20	57.14	7	38.89	0.3326
Бял дроб	18	51.43	16	88.89	0.0168
ССС	14	40	11	61.11	0.2430
Бъбрек	19	54.28	12	66.67	0.5673
НС	11	31.43	8	44.44	0.5265

8.4. Предиктори на смъртен изход. За да се определят значимите фактори, свързани с проява на смърт, бе извършен многомерен логистичен анализ, в който са включени изложените в таблици 41 и 43 показатели на наблюдаваните пациенти. Анализът е направен в два варианта – проява или отсъствие на смърт и проява на смърт спрямо проява на ремисия, като оценените значими фактори ($p < 0.05$) са обобщени в табл. 44. Тези анализи са посилни от едномерните анализи, поради факта, че отчитат взаимното влияние на всички изследвани фактори, а и тяхната вътрешна зависимост към проявата на изследвания резултат.

Резултатът от анализа на всички пациенти и на факторите от табл. 41 и 43 за установяване на значими фактори за проявата на смърт и тяхното влияние може да се обобщи така:

- С нарастване на BVAS с единица шансовете за проява на смърт се променят 1.149 пъти.
- Наличието на инфекции се асоциира с 4.409 пъти по-висок риск за проява на смърт.

- Отсъствието на ритуксимаб се асоциира с 13. 355 пъти по-висок шанс за проява на смърт.

Таблица 44. Модели проява на смърт и проява на смърт спрямо проява на ремисия

Модел	Фактор	Влияние	Odds ratio
Общ – проява на смърт	BVAS	+	1.149
	Наличие на инфекции	+	4.409
	RIT	-	13.355
Проява на смърт спрямо ремисия	BVAS	+	1.135
	Наличие на инфекции	+	3.804
	RIT	-	6.213
	FFS	+	2.76
	Бял дроб	+	2.97

Само за пациентите с ремисия или смърт резултатите се променят, като могат да се обобщят така:

- С нарастване на BVAS с единица шансовете за проява на смърт са 1.135 пъти по-големи от тези за проява на ремисия.
- Аналогичният показател за FFS е 2.76.
- Наличието на инфекции се асоциира с 3.804 пъти по-висок шанс за проява на смърт спрямо ремисия.
- Аналогичният показател за бял дроб е 2.97.
- Отсъствието на ритуксимаб се асоциира с 6.213 пъти по-висок шанс за проява на смърт спрямо ремисия.

Не се установи връзка на преживяемостта на пациентите с възрастта при поставяне на диагнозата, пола, наличието на ANCA, специфичността на ANCA. Има връзка с диагнозата. Пациентите с грануломатоза на Wegener преживяват повече от тези с микроскопски полиангиит, като разликата е статистически значима.

9. Роля на някои биомаркери в имунопатогенезата на AAV

Антинеутрофилноцитоплазмените антитела, насочени срещу протеиназа-3 и миелопероксидаза, играят несъмнено основна роля в имунопатогенезата на ANCA асоциираните васкулити. В последните години се установи, че и други антитела и цитокини също имат отношение към патогенезата, протичането и прогнозата при голяма част от пациентите. Ето защо си поставихме за цел да установим какви са нивата на някои основни участници в

патогенезата в серума на болни с AAV и дали тези нива корелират с болестната активност, с органното засягане, по-конкретно с васкулитните лезии и бъбречното увреждане и как се влияят от проведеното лечение, и това са нивата на LAMP-2, плазминоген, TNF, както и на ензима индоламин 2,3-диоксигеназа.

В настоящото изследване са включени 47 болни със сигурен AAV (от тях 31 с GPA и 16 с MPA) и 13 здрави контроли. От болните 21 са мъже и съответно 26 жени. Активността на болестта е измерена чрез BVAS. Определихме дали са имали някаква клинична или лабораторна активност извън BVAS по време на изследването. Разделихме болните на такива с активност и без активност, като приехме стойности на BVAS ≥ 4 за активност. С активност на васкулит, независимо от кой орган, в момента на изследването са 37 от пациентите (78.72%). Средният BVAS е 8.45 ($\pm$ 4.73).

Най-голям е процентът на пациентите с генерализирана форма (38.3%), следван от тези с локализирана (23.4%), пациентите със системна форма са 19.1% и с тежка форма са 19.1%. Активност от страна на горни дихателни пътища се установява при 26 от тях, при осем засягането на горните дихателни пътища е изолирано. Активност от страна на бял дроб има при 30, при 17 болни то е в комбинация с горни дихателни пътища и при 7 с горни дихателни пътища и с бъбрек. При 16 болни се установяват белодробни нодули, при 5 има данни за белодробен васкулит. Активност от страна на бъбрек има при 26 болни, при 18 допълнително и на бял дроб, при осем болни бъбречното ангажиране е изолирано. При 24 от пациентите с бъбречно ангажиране има протеинурия, всички болни са с нарушение на бъбречната функция със задръжка на азотни тела в серума. Средната стойност на креатинина при тези болни е 247.27 mcmol/l (SD = 310.3). При 25 болни с бъбречно засягане е проведена ПББ, полулуния се установяват при 21 от тях (80.77%). При 6 от изследваните болни има анамнеза за съдова тромбоза. При 21 от пациентите има предшестващ проведен курс на лечение с ритуксимаб за индукция на ремисия, а при 12 с циклофосфамид. По време на вземането на кръвните проби 18 от пациентите (38.30%) са с позитивни ANCA. При шест от болните по време на изследването се установяват антитела срещу протеиназа-3, при четири срещу миелопероксидаза, останалите

са с нормални стойности (всички пациенти по време на изследването получават терапия според препоръките на лекуващия си лекар). В следващите три години на наблюдение (от 2017 г. до 2019 г.) 18 от болните са в трайна ремисия (38.3%), 18 са подобрени (38.3%), но с персистираща активност, четирима са стационирани (8.5%), двама са с рецидив (4.3%), а петима са починали (10.6%). Характеристиката на болните, техните демографски, клинични данни и проведената терапия са представени на табл. 45.

Таблица 45. Епидемиологични и клинични данни на пациентите с AAV

Признаци	N = 47%	Средна стойност (± SD)
М/Ж	21/26 (44.7%/55.3%)	
BVAS		8.45 (± 4.73)
BVAS < 4	6 (12.8%)	1.17 (± 1.34)
BVAS ≥ 4	41 (87.2%)	9.51 (± 4.06)
GPA	31 (66%)	
MPA	16 (34%)	
Форма на болестта		
Локализирана	11 (23.4%)	
Рано системна	9 (19.1%)	
Генерализирана	18 (38.3%)	
Тежка	9 (19.1%)	
Клиника		
ГДП	26 (55.3%)	
Бял дроб	30 (63.8%)	
Бъбрек	26 (55.3%)	
ANCA (IIF)>1:20	18 (38.3%)	
Anti-PR3	6 (12.8%)	
Anti-MPO	4 (8.5%)	
↑Креатинин	9 (19.1%)	247.2 (310.3)
↑CRP	26 (55.3%)	111.7 (285.0)
Активност	36 (76.6%)	
Лечение		
Rit	21 (44.7%)	
CYC	12 (25.5%)	
Без имуносупресор	14 (29.8%)	
Изход		
Подобрени	18 (38.3%)	
Ремисия	18 (38.3%)	
Стациониран	4 (8.5%)	
Рецидив	2 (4.3%)	
Exitus	5 (10.6%)	

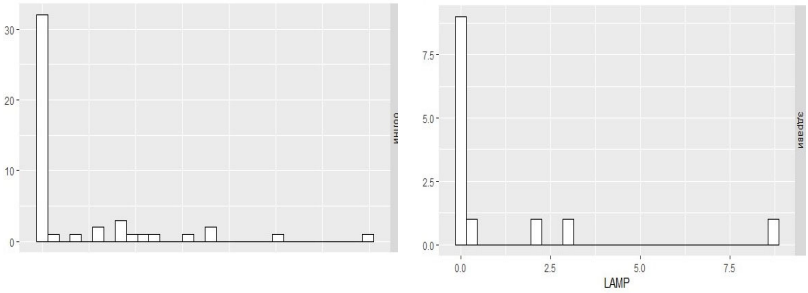
9.1. Роля на LAMP 2. Установихме, че при всички изследвани пациенти плазмените нива са под горните референтни стойности (0.312-20 ng/ml). Не установихме разлика в нивата между болните и здравите контроли. (табл. 46).

Таблица 46. Съпоставка на групата на AAV със здравите контроли относно нивото на LAMP-2

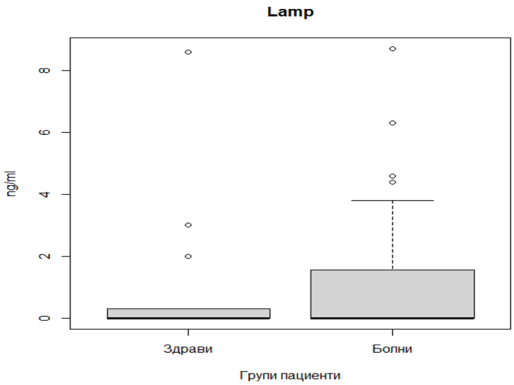
Групи	Средна аритметична	± SD	Медиана (диапазон)	95% доверителен интервал	Mann-Whitney (p)*
Здрави контроли	1.07	2.45	0.00 (0.00-8.60)	-0.41-2.55	0.7761
Болни	0.99	1.89	0.00 (0.00-8.70)	0.43-1.54	

SD – стандартно отклонение; Диапазон минимална-максимална стойност; Доверителният интервал е базиран на t-разпределението на Student
**Тест за значима разлика между изчислени средни аритметични за двете групи пациенти*

На фигура 9 и 10 е показано разпределението на LAMP-2 в групата болни и тази на здравите контроли. Поради това разделихме групите на такива, при които не се установява LAMP-2 (нива < 0.500 ng/ml), и такива, при които се открива LAMP-2 макар и в референтни граници. Болните, при които се откриват LAMP-2 макар и в референтни стойности са 14 (29.79%), при здравите контроли са 4 (30.77%). Резултатите от съпоставителния анализ са обобщени на табл. 47.



Фигура 9. Разпределение на LAMP-2 при болните и здравите контроли



Фигура 10. Медиана, средна стойност на LAMP-2

Проследихме нивата на LAMP-2 при отделните диагнози и групата на здравите пациенти (табл. 47). Проведени са съпоставки чрез теста на Mann-Whitney между GPA със здрави контроли; MPA със здрави контроли; GPA с MPA; болни с активност и здрави контроли; болни без активност и здрави контроли; болни с активност и без активност.

Таблица 47. Резулатати от съпоставката на изследваните болни относно нивото на LAMP-2

Величини	Здрави контроли	GPA	MPA	С активност	Без активност
Средна аритметична	1.07	0.99	0.99	1.12	0.69
Mann-Whitney p*	0.9756 (GPA)	0.4184 (MPA)	0.5305 (здрави)	0.7202 (без активност); 0.6655 (здрави)	0.9678 (здрави)

Не се установи разлика в серумната концентрация на LAMP-2 между двете диагнози (p = 0.4184). Не се установи значима разлика между болните с GPA и здравите контроли (p = 0.9756), както и между болните с MPA и здравите контроли (p = 0.5305). При болните, които в момента на изследването са имали

активност на заболяването, серумните нива на LAMP-2 са по-високи в сравнение с тези без активност (1.12 ng/ml, и съответно 0.69 ng/ml), p = 0.7202. Нивата при болните с активност са повисоки в сравнение с всички болни, както и със здравите контроли (p = 0.6655), без разликата да е значима.

Анализирахме разликите в основните характеристики на болните с установими нива на LAMP-2 и такива без LAMP-2 (табл. 48).

В групата на болните с налични нива BVAS е в граници между 0 и 17, средна стойност 9.93 (± 4.32), повечето от тях са класифицирани с GPA – 57.14%. При анализ на основното органно ангажиране установихме, че бъбречно засягане има при 9 от тях (64.29%), на ГДП при 8 (57.14%) и на бял дроб при 7 (50.00%).

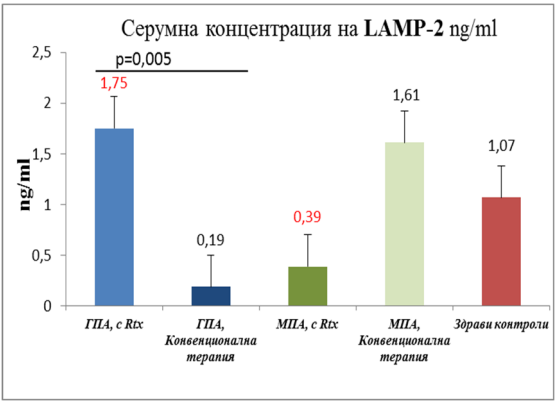
Таблица 48. Характеристика на болните и процентното разпределение със и без LAMP-2

	< 0.5; N = 33/70.21%	≥ 0.5; N = 14/29.79%	p*
М/Ж	13/20 (39.39%/60.61%)	8/6 (57.14%/42.86%)	0.4246
BVAS средна (± SD)	7.82 (±4.88)	9.93 (± 4.32)	0.0971
GPA	24 (72.73%)	8 (57.14%)	0.4801
MPA	9 (27.27%)	6 (42.86%)	0.4801
Клиника			
ГДП	18 (54.55%)	8 (57.14%)	1.0000
Бял дроб	23 (69.70%)	7 (50.00%)	0.3404
Бъбрек	17 (51.52%)	9 (64.29%)	0.6280
ANCA			
Anti-PR3	5 (15.15%)	1 (7.14%)	0.7837
Anti-MPO	3 (9.09%)	1 (7.14%)	1.0000
С активност	24 (72.73%)	12 (85.71%)	0.5585
Лечение			
Rit	16 (48.49%)	5 (35.71%)	0.6280
CYC	7 (21.21%)	5 (35.71%)	0.4984
Без имуносупресор	10 (30.30%)	4 (28.57%)	1.0000
Плазминоген			
Нисък	6 (18.18%)	3 (21.43%)	1.0000
Висок	24 (72.73%)	7 (50.00%)	0.2431

**Тест на Фишер за разлика между 2 пропорции; BVAS – Mann-Whitney p стойност*

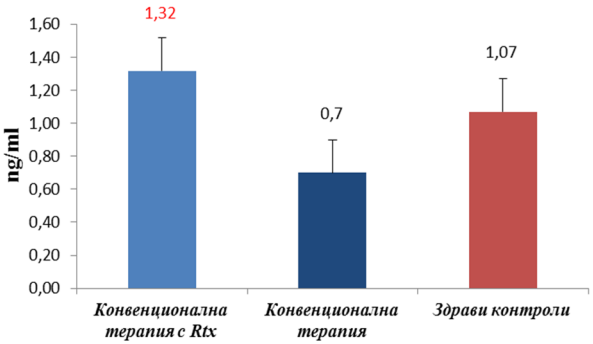
С активност на болестта са 12 (85.71%) от позитивните за LAMP-2 срещу 24 (72.73%) за негативните, с позитивни ANCA са само двама пациенти – един с anti-PR3-ANCA и един с anti-MPO-ANCA. LAMP-2 се установява само при 4 от 14 новодиагностицирани болни (28.57%), при тях не е провеждано имуносупресивно лечение, което води до извода, че нивата не се влияят от предишно имуносупресивно лечение.

При пет от болните с установими LAMP-2 е проведено лечение с ритуксимаб, при четири с циклофосфамид. Сравнихме нивата на LAMP-2 при пациентите с GPA и MPA според различните терапевтични режими (фиг. 11). Резултатите са противоположни. Установяват се сигнификантно по-високи серумни нива на LAMP-2 при пациентите с GPA, лекувани с ритуксимаб, спрямо тези на конвенционална терапия (p = 0.005). В групата на MPA болните, лекувани с ритуксимаб, са с по-ниски серумни нива на LAMP-2, като разликата не е значима.



Фигура 11. Средна серумна концентрация на LAMP-2 при пациенти с ААВ според терапевтичните режими и диагнозата

При лекуваните с ритуксимаб серумните нива на LAMP-2 са по-високи при всички болни, независимо от диагнозата (фиг. 12).



Фигура 12. Серумни нива на LAMP-2 според проведената терапия

От друга страна, при лекуваните с ритуксимаб при по-голям процент болни не се установяват LAMP-2 (48.49% съответно 35.71%), докато при лекуваните с циклофосфамид пропорцията е обратна, при по-голям процент се установяват LAMP-2 (35.71% и съответно 21.21%). Като по-дългосрочна прогноза в следващите две години на проследяване 46.15% от тези болни са се подобрили и 30.77% са в ремисия, починалите са 15.38%, което илюстрира, че вероятно те нямат лоша прогноза. Не се установява асоциация или положителна корелация между нивата на LAMP-2 и нивата на плазминоген.

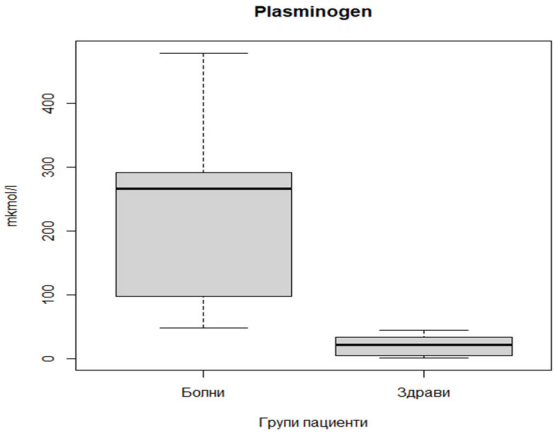
При сравнителен анализ на пациентите със и без LAMP-2 не се установява разлика в двете групи по отношение на диагноза, клиника, активност и изход на заболяването. Наблюдава се малко по-висока честота при болните с бъбречно ангажиране (69.23% срещу 50%), като резултатите са много близки.

9.2. Нива на плазминоген. Счита се, че нормалните серумни нива на плазминоген при здравите са между 60 и 215 µg/ml. С ниски стойности на плазминоген са 8 болни (17.02%) и само 1 (4.76%) от здравите контроли ($p = 0.0354$). Съпоставихме нивото на плазминоген при всички пациенти с AAV с това при здравите контроли чрез теста на Mann-Whitney за разлика между наблюдаваните средни нива. Резултатите показаха значимо по-висока концентрация на плазминоген при групата на болните (442 µg/ml медиана, диапазон 32.0-890.0) в сравнение със здравите контроли (266.0 µg/ml медиана, диапазон 48.0-478.0), $p = 0.011$.

Таблица 49. Съпоставка на групата на AAV със здравите контроли относно нивото на плазминоген

Групи	Средна стойност	± SD	Медиана (диапазон)	95% доверите-лен интервал	p
Здрави контроли	237.08	131.6	266.0 (48.0-478.0)	154.3-319.9	0.011
Болни	420.12	291.5	442 (32.0-890.0)	334.5-505.7	

SD – стандартно отклонение; Диапазон – минимална-максимална стойност



Фигура 13. Бокс-плот, показващ разпределение, медиана, средна стойност на плазминоген между болни и здрави контроли

Проследихме нивата на плазминоген при отделните диагнози и групата на здравите пациенти (табл. 50).

Не установихме разлика в серумната концентрация на плазминоген между двете диагнози (p = 0.326). Установихме значима разлика между болните с GPA и здравите контроли (p = 0.007), без да има такава между болните с MPA и здравите контроли. Правят впечатление високите средни серумни концентрации на плазминоген при болни, които в момента на изследването са без активност на заболяването (614.67 µg/ml). Нивата при болните без активност са достоверно по-високи в сравнение с болните с активност (p = 0.042), както и със здравите контроли (p = 0.0390).

Таблица 50. Резултати от съпоставката на изследваните болни относно нивото на плазминоген

Величини	Здрави контроли	GPA	MPA	С активност	Без активност
Плазминоген – средна стойност	237.08	452.84	356.75	376.33	614.67
p Mann-Whitney *		0.007 (ЗК) 0.326 (MPA)	0.089 (ЗК)	0.039 (ЗК) 0.042 (БА)	0.001 (ЗК)

SD – стандартно отклонение; Диапазон – минимална-максимална стойност
**Базата за сравнение е специфицирана след p стойността, в скоби*

Разделихме пациентите на три групи – с високи, с ниски и с нормални нива на плазминоген. Характеристиката на болните с различни серумни нива на плазминоген и разпределението им според серумните нива на плазминоген е представено на таблица 51.

9.2.1. Анализ на пациентите по групи. Не установихме съществена разлика в изследваните показатели при болните с повишени спрямо нормални нива и между понижените спрямо нормалните нива. Затова обединихме болните с нормални и повишени нива в една група и ги сравнихме с тези с ниски нива. Изследваните болни с нормални или повишени плазмени нива на плазминоген са 83%, с понижени – 17%. Изследвахме връзката между ниските нива на плазминоген и следните величини: BVAS < 4; BVAS ≥ 4; anti-PR3; anti-MPO; бял дроб и ГДП, бъбрек, ритуксимаб, циклофосфамид, без имуносупресор. При така проведения анализ единствената значима разлика, която се установи, е при пациентите с бъбречно ангажиране, където с ниски нива на плазминоген са 100% от пациентите в сравнение с обединената група, където са 46.2% (p = 0.0164), което потвърждава данните от предишния анализ (табл. 51).

Таблица 51. Характеристика на пациентите с AAV според стойностите на плазминоген

Признаци	**↑ N=32/ 68.1%**	**р повишен (спрямо норма)**	**↓ N=8/ 17.0%**	**р понижен (спрямо норма)**	**↑↓ N=7/ 14.9%**
М/Ж	13/19 (40.6%/59.4%)	0.6831*	2/6 (25.0%/75.0%)	0.0668*	6/1 (85.7%/14.3%)
BVAS (средна)	7.66 (5.08)	0.5460**	10.5 (3.55)	0.9660**	9.71 (4.03)
BVAS < 4	6 (18.8%)	0.4384	0 (0.0%)	1.0000	0 (0.0%)
BVAS ≥ 4	26 (81.3%)	1.000	8 (100.0%)	1.0000	7 (100.0%)
GPA	23 (71.9%)	0.9313	4 (50.0%)	0.7513	5 (71.4%)
MPA	9 (28.1%)	1.0000	4 (50.0%)	0.7513	2 (28.6%)
Форма на болестта					
Локализирана	10 (31.3%)	0.5355	0 (0.0%)	0.9449	1 (14.3%)
Рано системна	7 (21.9%)	0.3491	2 (25.0%)	0.5094	0 (0.0%)
Генерализирана	11 (34.4%)	0.6831	3 (37.5%)	0.8087	4 (57.1%)
Тежка	4 (12.5%)	0.7398	3 (37.5%)	1.0000	2 (28.6%)
Клиника					
ГДП	19 (59.4%)	1.0000	2 (25.0%)	0.2007	5 (71.4%)
Бял дроб	20 (62.5%)	0.8037	4 (50.0%)	0.3602	6 (85.7%)
Бъбрек	13 (40.6%)	0.4745	8 (100.0%)	0.3883	5 (71.4%)
↑Креатинин	4 (12.5%)	0.7398	3 (37.5%)	1.0000	2 (28.6%)
↑CRP	16 (50.0%)	0.3821	4 (50.0%)	0.3602	6 (85.7%)
ANCA (IIF) > 1:20	13 (40.6%)	0.6831	3(37.5%)	1.0000	2 (28.6%)
Anti-PR3 над 5	3 (9.4%)	1.0000	1 (12.5%)	1.0000	1 (14.3%)
Anti-MPO над 5	2 (6.3%)	1.0000	1 (12.5%)	1.0000	0 (0.0%)

Активност	22 (68.75%)	1.0000	8 (100.0%)	0.9449	6 (85.7%)
Лечение					
Rit	16 (50.0%)	0.3821	3 (37.5%)	1.0000	2 (28.6%)
CYC	8 (25.0%)	0.7906	1 (12.5%)	0.4586	3 (42.9%)
Без имуносупресор	8 (25.0%)	1.0000	5 (62.5%)	0.4264	2 (28.6%)
Изход					
Подобрени	12 (37.5%)	0.8037	4 (50.0%)	0.7513	2 (28.6%)
Ремисия	13 (40.6%)	1.0000	2 (25.0%)	0.8548	3 (42.9%)
Стациониран	2 (6.3%)	1.0000	2 (25.0%)	0.5094	0 (0.0%)
Рецидив	1 (3.1%)	0.8561	0 (0.0%)	0.9449	1 (14.3%)
Exitus	4 (12.5%)	1.0000	0 (0.0%)	0.9449	1 (14.3%)

р стойности – точен тест на Фишер за разлика между два наблюдавани относителни дялове (изключенията са специфицирани).
**тествани дялове за групата на жените*
*** Kolmogorov-Smirnov тест за разлика между наблюдавани средни нива.*

9.2.1. Нива на плазминоген в зависисмост от диагнозата. При GPA болните с нормални или високи нива на плазминоген са 71.8%, а при МПА преобладават болните с ниски нива на плазминоген (50%). Сравнявайки пациентите с двете диагнози помежду им, установихме, че тези с нормални или високи нива на плазминоген са значимо повече при GPA (71.8%) в сравнение с МПА (28.2%), p = 0.003. Пациентите с GPA и нарушена бъбречна функция имат сигнификантно по-ниски нива на плазминоген в сравнение с останалите пациенти с GPA-83 (4.6-870), съответно срещу 536 (387-890) μg/ml, p = 0.035.

9.2.2. Нива на плазминоген в зависисмост от активността на болестта и от нейната форма. От пациентите с ниски серумни нива на плазминоген 100% са с висока болестна активност, а тези от обединената в 87.2% са с висока активност. Средната стойност на BVAS е по-висока при пациентите с ниски нива (10.5, SD = 3.55), съответно 8.03, SD = 4.92 при тези с нормални и повишени (p = 0.2040). При пациентите с нормални серумни нива на плазминоген преобладава генерализираната форма, най-малко са болните с тежка форма (15.4%), а при тези с понижени нива преобладават тежката и генерализираната и няма болни с локализирана форма. Ремисия е постигната при 41% от пациентите в първата група и при 25% във втората група, рецидивите са повече в обединената група, същото се наблюдава и за починалите болни.

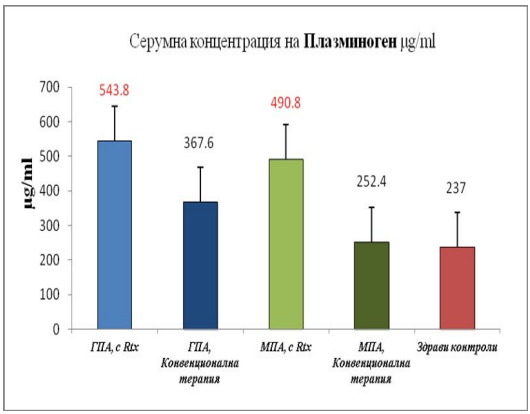
9.2.3. Нива на плазминоген в зависисмост от имунния статус и лабораторните показатели. Нивата на ANCA, anti-PR3, anti-MPO и стойностите на креатинин и С-реактивен протеин са измерени по време на събиране на пробите за плазминоген. Не се установява разлика в процента на позитивните ANCA в двете групи. Наблюдава се незначима разлика при специфичните антитела. Те се срещат по-често в групата с високи нива на плазминоген, като разликата не е значима, p = 1.0000 за anti-PR3 и за anti-MPO. Болните с повишени стойности на креатинин са процентно повече в групата с ниски нива на плазминоген (35.5% срещу 15.4%), няма разлика в процента на болните с повишен CRP в двете групи.

9.2.4. Нива на плазминоген в зависисмост от проведеното лечение. Преобладаващата част от пациентите, които не са получили имуносупресивно лечение, са с ниски стойности на плазминоген, като разликата не е статистически значима (p = 0.1050). Лекуваните с ритуксимаб или циклофосфамид са с преобладаващо високи нива на плазминоген (p = 0.9536 и съответно p = 0.6291). Установи се значима разлика в нивата при двата терапевтични режима. Средната стойност на серумните нива на плазминоген при лекуваните с ритуксимаб е 526 μg/ml, а на тези с конвенционална терапия 326.16 μg/ml (p = 0.019), (фиг. 14). Тази тенденция се запазва и при отделните диагнози, където серумната концентрация на плазминоген при ГПА и лечение с ритуксимаб е 543.8 μg/ml, без ритуксимаб 367.6 μg/ml, при МПА с ритуксимаб 490.8 μg/ml, без ритуксимаб 252.4 μg/ml (фиг. 15). Достоверната разлика между двата терапевтични режима е свързана с негативиране на ANCA. При ANCA негативните пациенти след лечение с ритуксимаб серумните нива на плазминоген са достоверно по-високи (522.47 μg/ml), докато при конвенционалната терапия са 269.5 μg/ml, p = 0.016. Това е свързано вероятно с факта, че при лекуваните с ритуксимаб ANCA негативните пациенти са над 2 пъти повече от ANCA позитивните (52% срещу 22.7%) (фиг. 16).

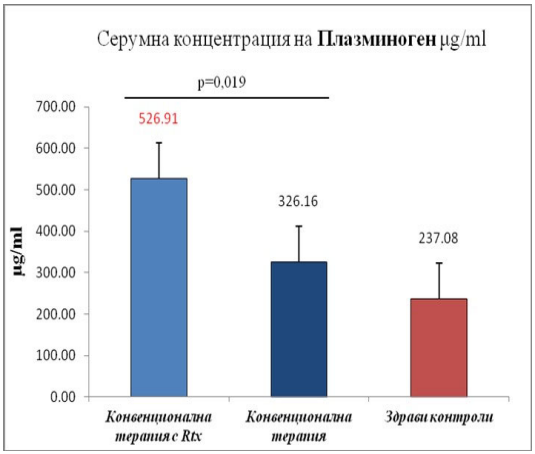
Серумното ниво на плазминоген при пациентите с бъбречно участие, които са провели курс с ритуксимаб, е 381.69 μg/ml, и съответно 252.3 μg/ml с циклофосфамид.

В продължение на горния анализ проведохме допълнителен анализ, за да установим прогностичната роля на плазминогена относно влиянието върху величините, които показаха значима линейна връзка с плазминоген. Приложена е логистична регресия, за да се изследва силата на плазминогена като предиктор за засягане на ГДП, бъбрек и влияние на проведеното лечение, както и върху изхода от заболяването. За различните терапевтични режими са проведени три бинарни логистични модела, като във всеки от тях са използвани два резултата. Данните са обобщени в табл. 52. Не се установи значима корелация между нивата на плазминоген и различните терапевтични режими, както и със засягането на бял дроб и ГДП. Единственият значим резултат,

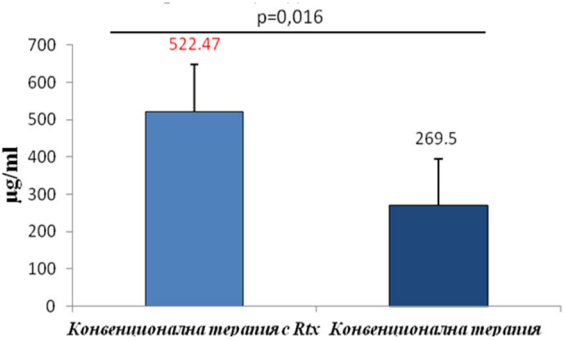
който се установи, е за прогностичната роля за бъбречно засягане, p = 0.010. С увеличаване нивото на плазминоген в серума с една единица шансовете за непроява на бъбречно ангажиране се увеличават 1.003 пъти, имаме отрицателна обратна връзка и високите нива на плазминоген се свързват достоверно с отсъствието на бъбречно засягане. Не установихме корелация между нивата на плазминоген и изхода на заболяването.



Фигура 14. Серумна концентрация при GPA и MPA в зависимост от проведената терапия



Фигура 15. Серумна концентрация на плазминоген при различните терапевтични режими



Фигура 16. Серумна концентрация на плазминоген в зависимост от проведената терапия при ANCA(-) пациенти

Таблица 52. Логистична регресия – обобщение

Променлива	Кодировка	Плазминоген odds ratio (95% CI)	p
Бъбрек	1 – да; 2 – не	1.003 (1.001-1.005)	0.010
ГДП	1 – да; 2 – не	1.000 (0.998-1.002)	0.962
Лечение	1 – CYS; 2 – Rtx	1.000 (0.998-1.003)	0.764
Лечение	1 – CYS; 2 – without	0.999 (0.997-1.002)	0.646
Лечение	2 – Rtx; 3 – witout	0.999 (0.997-1.001)	0.398
Изход	1 – exitus; 2 – рецидив	0.999 (0.994-1.004)	0.714
Изход	1 – exitus; 3 – други	1.000 (0.999-1.001)	0.945
Изход	2 – рецидив; 3 – други	1.000 (0.999-1.0010	0.936

За да потвърдим горните данни, направихме анализ само на болните с GPA с бъбречно засягане (групата с GPA е преобладаващата). Пациентите с GPA и нарушена бъбречна функция имат сигнификантно по-ниски нива на плазминоген в сравнение с останалите пациенти с GPA-83 µg/ml (4.6-870), съответно срещу 536 µg/ml (387-890), p = 0.035. За да установим предиктивната роля на нивата на плазминоген за бъбречно ангажиране, изчислихме receiver operating characteristic (ROC). Установи се негативна корелация между бъбречното ангажиране и серумните нива на плазминоген, ROC AUC 0.78 (95% CI 0.53-0.91), p = 0.035, протеинурията при GPA и серумната концентрация на плазминоген, Spearman´s Rho = -0.4, p = 0.015, което идентифицира серумния плазминоген като потенциален прогностичен маркер за бъбречно засягане.

9.3. TNFα и ANCA васкулити. Поради важността на TNFα измерихме серумните му нива и потърсихме корелация с клиничната картина и болестната активност при пациенти с AAV. Потърсихме и асоциация със серумните нива на плазминоген, тъй като антителата срещу плазминоген активно участват в процесите на ендотелна дисфункция и възпаление.

Референтните стойности за TNFα са в диапазона 15,25-1000 pg/ml. Според нашето изследване здравите контроли са с ниски или неустановими плазмени нива. По-високи плазмени нива от здравите контроли се наблюдават при 5 пациенти, като стойностите при тях също са в референтните граници (табл. 53).

Таблица 53. Съпоставка на групата на AAV със здравите контроли относно нивото на TNFα

Групи	Медиана	Ср. аритм.	± SD	95% CI – ДГ	95% CI – ГГ	p
Здрави контроли	6.0	63.7	130.9	2.1	63.6	0.367
Болни	2.4	84.2	256.2	4.3	80.9	

SD – стандартно отклонение; Доверителният интервал е базиран на t-разпределението на Student

Проследихме нивата на TNFα при отделните диагнози и групата на здравите пациенти (табл. 54).

Таблица 54. Резулатати от съпоставката на изследваните болни относно нивото на TNFα

Величини	Здрави контроли	GPA	MPA	С активност	Без активност
Средна аритметична	63.7	120.90	5.88	109.33	1.42
Mann-Whitney P*	0.441 (GPA)	0.663 (MPA)	0.4199 (Здрави)	0.0185 (без активност); 0.7985 (здрави)	0.0402 (здрави)

Не установихме разлика в серумната концентрация на TNFα между болните и здравите контроли (p = 0.367), също и между двете диагнози (p = 0.663). Освен това няма разлика между болните с GPA и здравите контроли (p = 0.441), между болните с MPA и здравите контроли (p = 0.419). Това, което прави впечатление, са по-високите средни серумни концентрации на TNFα при болни, които в момента на изследването са с активност на заболяването.

Нивата при болните с активност са достоверно по-високи в сравнение с болните без активност, средна стойност 109.33 pg/ml (минимална-максимална 0-990.7 pg/ml) при активност, SD = 288.09, 95% CI 5.28 и съответно без активност средната стойност е 1.42 pg/ml (минимална-максимална 0-7.95 pg/ml), SD = 288.09, 95% CI-0.2, (p = 0.00185). Болните без активност имат значимо по-ниски нива и от здравите контроли (p = 0.0402).

Таблица 55. Съпоставка на болните с активност и без активност относно нивото на TNF-alpha

TNF	Mean	Median	SD	Min	Max	95% CI LL	95% CI UL	p*
Без активност	1.42	0.25	2.52	0	7.95	-0.27	1.69	0.01815
С активност	109.33	3.83	288.09	0	990.7	5.28	105.04	

SD – стандартно отклонение; Диапазон-минимална-максимална стойност; Доверителният интервал е базиран на t-разпределението на Student

**Тест за значима разлика между изчислени средни аритметични за двете групи пациенти.*

Сравнихме серумните нива на TNFα при болните, които в момента на изследването имат белодробни нодули, и ги сравнихме с останалите. Наблюдавахме по-високи нива на този цитокин при пациентите с белодробни нодули, разликата не е значима (p = 0.8556).

Таблица 56. Съпоставка на болните с белодробни нодули и без нодули относно нивото на TNFα

TNFα	Mean	Median	SD	Min	Max	95% CI LL	95% CI UL	p*
Без нодули	67.95	2.93	246.46	0	990.7	-9.41	53.4	0.8556
С нодули	163.63	1.15	351.5	0	979.2	2.75	92.3	0.8556

SD – стандартно отклонение; Диапазон минимална-максимална стойност; Доверителният интервал е базиран на t-разпределението на Student
**Тест за значима разлика между изчислени средни аритметични за двете групи пациенти.*

Анализирахме отделно болните с GPA, тъй като само при тях има грануломатозно възпаление. Пациентите с активност и висок BVAS показват значимо по-високи нива на TNFα – 3.2 pg/ml (0-990) срещу 0.1 pg/ml (0-3.35) без активност (p = 0. 01815). Същите корелации има и между високи и нормални стойности на CRP – 16.7 pg/ml (0-132) срещу 0.5 pg/ml (0-2), p = 0.001. Установихме сигнификантно по-високи нива на TNFα при болните с белодробно ангажиране в сравнение с останалите болни, ROC area under curve (AUC) бе 0.8 (95% CI 0.66-0.94), p = 0.005, което го прави потенциален маркер за белодробно ангажиране при болни с GPA.

Разделихме пациентите на две групи – болни с по-високи нива от тези на здравите и такива с по-ниски нива на TNFα (63.7 pg/ml). Характеристиката на болните с различни серумни нива на TNFα и разпределението им според серумните нива на плазминоген е представено на табл. 57.

Установихме корелация между плазмените нива на TNFα и плазминогена. Всички пациенти с ниски серумни нива на плазминоген имат по-високи плазмени нива на TNFα (p = 0.0002). От пациентите с високи нива на плазминоген при 69% се установяват ниски нива на TNFα (p = 0.0119).

Таблица 57. Характерстика на пациентите с AAV според стойностите на TNFα

	> 63.7 = 5/10.6%	< 6 3.7 = 42/89.4%	p
М/Ж	0/5 (0/100%)	21/21 (50/50%)	0.0989
BVAS	9.60 (3.05)	8.31 (4.95)	0.4354
BVAS < 4	0 (0%)	6 (14.3%)	0.8446
BVAS ≥ 4	5 (100%)	36 (85.7%)	0.8446
GPA	5 (100%)	27 (64.3%)	0.2661
MPA	0 (0%)	15 (35.7%)	0.2661
Клиника			
ГДП	5 (100%)	22 (52.4%)	0.9599
Бял дроб	5 (100%)	25 (59.5%)	0.7216
Бъбрек	2 (40%)	24 (57.1%)	0.8002
ANCA			
Anti-PR3	1 (20%)	5 (11.9%)	1.0000
Anti-MPO	0 (0%)	4 (9.5%)	1.0000
Активност	5 (100%)	31 (73.8%)	0.4539
Лечение			
Rit	2 (40%)	19 (42.2%)	1.0000
CYC	1 (20%)	11 (26.2%)	1.0000
Без ИС	2 (40%)	12 (28.6%)	0.9912
Изход			
Подобрени	0 (0%)	18 (42.9%)	0.1685
Ремисия	2 (40%)	16 (38.1%)	1.0000
Стациониран	1 (20%)	3 (7.1%)	0.8995
Рецидив	0 (0%)	2 (4.8%)	1.0000
Exitus	2 (40%)	3 (7.1%)	0.1374
Плазминоген			
Нисък	5 (100%)	6 (14.3%)	0.0002
Висок	0 (0%)	29 (69.0%)	0.0119

Серумната концентрация на TNFα при болните, лекувани с конвенционална терапия, е 114.14 pg/ml, при лекуваните с ритуксимаб 50.17 pg/ml, (p = 0.021). Нивата са сигнификантно по-ниски при лекуваните с ритуксимаб. Същите данни се установяват и за пациентите с ГПА, лекувани с конвенционална терапия – 71.74 pg/ml, с ритуксимаб 174.02 pg/ml (p = 0.049). За пациентите с MPA не се установява разлика в нивата между двата терапевтични режима. Тези данни се потвърдиха и от анализа на болните с ГПА, които са негативирали ANCA след проведено лечение.

9.4. Роля на indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) във възпалителния отговор при AAV. Ензимът IDO се експресира от антиген-представящите клетки (APCs), епителните клетки, съдовия ендотел и туморните клетки.

Установихме наличие на IDO в серума на 19.15% от пациентите с васкулит и на 25% от здравите контроли. Счита се, че нормалните серумни нива на IDO при здравите са между 0.47 и 30 ng/ml. Съпоставихме нивото му при всички пациенти с AAV с това при здравите контроли чрез теста Mann-Whitney за разлика между наблюдаваните средни нива. Резултатите показаха по-висока концентрация при групата на болните в сравнение със здравите контроли, p = 0.5102 (табл. 58).

Таблица 58. Съпоставка на групата на AAV със здравите контроли относно нивото на IDO

Групи	Средна аритметична	± SD	Медиана (диапазон)	95% доверителен интервал	Mann-Whitney (p)*
Здрави контроли	3.59	9.49	0.00 (0.00-40.0)	-0.72-7.91	0.5102
Болни	4.54	12.16	0.00 (0.00-41.2)	0.97-8.11	

SD – стандартно отклонение; Диапазон минимална-максимална стойност; Доверителният интервал е базиран на t-разпределението на Student
**Тест за значима разлика между изчислени средни аритметични за двете групи пациенти*

Характеристиката на болните, техните клинични данни и проведената терапия са представени на табл. 59.

С повишени концентрации са 4 от болните (8.51%). Всички болни с високи концентрации са с GPA и имат активност на заболяването по време на изследването. При пациентите с MPA не се открива концентрация на IDO в серума. Средният BVAS при болните с повишен IDO е 9.00 (± 3.16), при останалите е 8.40 (± 4.92), p = 0.4357. Само двама от тях са ANCA позитивни, при един от тях се установяват антитела срещу протеиназа-3. Двама от болните са новодиагностицирани и при тях не е провеждана имуносупресивна терапия, при един има предшестваща терапия с ритуксимаб и при един с циклофосфамид.

Таблица 59. Характеристика на болните и процентното разпределение с нормални и високи стойности на IDO

	< 30 ng/ml; N = 43/91.49%	≥ 30 ng/ml; N = 4/8.51%	p*
BVAS средна (SD)	8.40 (4.92)	9.00 (3.16)	0.4357
GPA	28 / 65.12%	4 / 100.00%	0.3838
MPA	15 / 34.88%	0 / 0.00%	0.3838
С активност	32 / 74.42%	4 /100.00%	0.5902
Лечение			
Rit	20 / 46.51%	1 / 25.00%	0.7626
CYC	11 / 25.58%	1 / 25.00%	1.0000
Без имуносупресор	12 / 27.91%	2 / 50.00%	0.7244
Anti-TNF			
Нисък	30 / 69.77%	0 / 0.00%	0.0255
Висок	13 / 30.23%	4 / 100.00%	0.0255

**Тест на Фишер за разлика между 2 пропорции; BVAS – Mann-Whitney p стойност*

За да установим дали има корелация между проинфламаторните цитокини и IDO, сравнихме концентрацията на TNFα при болните с повишени и нормални стойности на IDO. Всички пациенти с повишени серумни нива на IDO (100%), имат едновременно и повишени стойности на TNFα. Средната стойност на TNFα при тези с високи нива на IDO е 915.35 pg/ml, а при пациентите с нормални нива е 6.88 pg/ml, което представлява сигнификантна разлика (p = 0.0011, Mann-Whitney test). Допълнително проведохме анализ за корелация. Корелационният коефициент на Спирман за IDO спрямо TNFα е оценен на 0.5216, неговата p-стойност е = 0.0001, което потвърждава положителна, сравнително силна и значима връзка между IDO и TNFα. Също така установихме положителна корелация между IDO и BVAS, коефициент на Спирман 0.4, p = 0.0220.

Проследихме нивата на IDO при отделните диагнози и групата на здравите пациенти (табл. 60).Установи се значима разлика в серумната концентрация между двете диагнози (p = 0.0260) (значимо по-висока концентрация при GPA). Установи се значима разлика между болните с MPA и здравите контроли (p = 0.0279), без да има такава между болните с GPA и здравите контроли. Това, което прави впечатление, е, че не се установява IDO при болни, които в момента на изследването са без активност на

заболяването (0.00 pg/ml). Нивата при болните с активност са по-високи в сравнение със здравите контроли (p = 0.9489), както и на здравите контроли са по-високи в сравнение с болните без активност (p = 0.0861). Поради малкия брой на болните не могат да се отчетат значими разлики, макар и да са близки до значимост.

Таблица 60. Резултати от съпоставката на изследваните болни относно нивото на IDO

Величини	Здрави контроли	GPA	MPA	С активност	Без активност
Средна аритметична	3.59	6.67	0.00	5.93	0.00
p*	0.0279 (MPA)	0.8548 (Здрави)	0.0260 (GPA)	0.1043 (без активност); 0.9489 (здрави)	0.0861 (здрави)

10. Практически насоки и подход при болните с AAV в ревматологичната практика

1. Обичайно пациентите с васкулит се представят с многолики и често неспецифични системни прояви. Някои пациенти в началото на заболяването могат да имат изолирани нетипични манифестации.

2. При подозрение за васкулит изследваме ANCA. Скрининогово изследване с имунофлуоресценция (IIF) за установяване на pANCA, cANCA и др. Положителните проби се потвърждават с ELISA за антитела срещу PR3 и MPO. Липсата на ANCA не изключва васкулит. Положителните ANCA не поставят диагноза васкулит. Срещат се и при други състояния.

3. Изследваме ANCA заедно с ANA, ACL, RF, Kg, C3, C4, HBV, HCV, HIV.

4. Трябва да си отговорим на няколко въпроса при среща с вероятен AAV:

– Дали това е васкулит или мимика на васкулит?

– Има ли подлежащо състояние и особено дали има подлежаща инфекция?

– Какво е разпространението на васкулита. Задължително да се тестват ГДП, бял дроб (избор на инструментално изследване е

КТ или МРТ), бъбречна функция (седимент, протеинурия, креатининов клирънс), за периферна невропатия ЕНМГ и за ангажиране на ЧМН.

– Какви са формата на васкулита и типът на възпалението?

– Колко е активен васкулитът? Активността определяме чрез BVAS и FFS.

5. Провеждането на биопсия е от изключителна важност за диагнозата. Васкулитът не винаги е очевиден и липсата на васкулит в изследвания материал не изключва диагнозата.

6. Изборът на терапията да е според локализацията, BVAS. Препоръчваме rutuximab при изолирани васкулитни прояви, cyclophosphamid – при грануломатозно възпаление. Медикаментът, който свързваме с по-добра прогноза при липса на противопоказания, е ритуксимаб.

V. ОБСЪЖДАНЕ

1. Нозологична структура на васкулитите

До момента липсва единна класификация на васкулитите, което се обяснява с голямото им разнообразие, липсата до голяма степен на анатомопатологична специфичност, на достатъчно познание за патогенезата им, наличието на припокриване в клиничното представяне между тях и с други системни заболявания. В текущата практика в клиниката по ревматология са преминали над 380 болни с васкулитни прояви. Като изключим AAV, най-често васкулитни прояви сме наблюдавали при СЗСТ и при групата на хиперсензитивните васкулити. Най-честите диагнози, при които се срещат васкулитни лезии, са СЛЕ, следвани от ПСС. Васкулитът при ПСС се наблюдава рядко, и то при ограничената форма, и се асоциира с антицентромерни антитела. В литературата има единични описания на кожен васкулит с периунгвални инфаркти и дигитални улцерации при идиопатичните възпалителни миопатии. Ние също сме наблюдавали единични случаи. Ревматоидният полиартрит учудващо участва в 3.09% от случаите. Счита се, че за една година < 1% от болните с ревматоиден полиартрит развиват васкулит. От първичните васкулити най-много болни са анализирани с ANCA асоциирани васкулити. От тях с най-висока честота са ГПА > МПА > ЕГПА. Следващите по честота васкулити са хиперсензитивните и PAN. Използването на CHCC класификацията и дефинициите на васкулитите, което доведе до отграничаването на PAN и MPA, рязко намалява честотата на нодозния панартерит. В настоящата работа се установява, че честотата на PAN при нашите болни е чувствително по-ниска от тази на ANCA васкулитите, и когато се класифицира MPA трябва да се използва CHCC класификацията.

Най-острата и опасна клинична проява на съдов конфликт е некрозата. В нито една от съвременните класификации не са включени васкулитите с некрози, въпреки че съдовата патология е с най-драматично протичане в ревматологията. Некрозите се явяват при различни видове васкулитни синдроми, при СЗСТ и при инфекции. Най-типичните представители на некротизиращите васкулити са PAN и групата на ANCA асоциираните

васкулити. Васкулитът с некроза е клинична диагноза, характеризираща се с некротични лезии по крайниците и/или във вътрешните органи. При нашите пациенти най-честите диагнози, при които се срещат некротични лезии, са ПСС, СЛЕ и хиперсензитивните васкулити. В 1/4 от случаите васкулитите с некрози не могат да бъдат класифицирани като нозологични единици. В групата на васкулитите без нозологична принадлежност сигнификантно по-често се срещат некротични лезии и те често са единствената проява на заболяването. Предполага се, че известен или неизвестен причинител с тропизъм към съдовата стена причинява тежка ендотелна дисфункция и отключва възпалителната каскада в съдовата стена, без да води до останалите типични възпалителни промени, отличаващи обособените васкулитни синдроми. Големите некротизиращи васкулити (грануломатоза на Вегенер и микроскопски полиангиит) участват в 12.6% от случаите с некрози. Честотата на некрозите при PAN е по-ниска в сравнение с AAV, което е свързано с големината на ангажираните съдове, при PAN това са средните, при AAV – малките съдове. Анализът много добре илюстрира защо СЛЕ и ПСС са сред най-тежките заболявания на съединителната тъкан, тъй като те често протичат с тежка ендотелна дисфункция на нивото на най-малките съдове. При СЛЕ и ПСС е най-голям рискът от развитие на некротични лезии. Обособените некротизиращи васкулити на малките и средните съдове правят по-рядко некрози по кожата и лигавиците в сравнение с тези без нозологична принадлежност. За поставянето на диагнозата и започване на подходящо лечение е особено важно познаването на васкулитните синдроми и широката диференциална диагноза.

2. Честота на някои инфекции и ролята им при развитието на ANCA асоциираните васкулити

Предполага се, че освен като тригериращ фактор за автоимунните реакции инфекциите също така участват в етиологията на васкулитите. Към момента най-убедителни са доказателствата за етиологична връзка със St. aureus. Данните показват, че честотата на инфекциите сред нашите пациенти не е висока (при 23,24% от пациентите, което е по-малко от предишни проучвания. Най-честите патогенни микроорганизми за инфекциите са St. aureus,

следвани от Klebsiella и Streptococcus. Основните органни локализации са горните дихателни пътища, белите дробове и кожата. Очакването, че при пациентите, лекувани с имуносупресори, честотата на инфекциите ще бъде по-висока, не се потвърди при нашия анализ. Това е свързано с факта, че поставянето на диагнозата често съвпада с диагностицирането на инфекциите и самото наличие на инфекции не позволява провеждането на имуносупресивно лечение при тези болни. Всички пациенти с инфекции са лекувани с кортикостероиди. Основен рисков фактор за появата на инфекции сред нашите болни с AAV са крайната степен на бъбречна недостатъчност и хемодиализното лечение. Пациентите с начална бъбречна недостатъчност не са показали по-висок риск от инфекции, при тях сериозните инфекции се срещат даже сигнификантно по-рядко. Счита се, че пациентите с AAV и тежки инфекции имат по-лоша прогноза. Инфекциите са отговорни за 50% от смъртните случаи при пациентите с AAV. Смъртността при нашите болни с AAV и инфекции е около три пъти по-висока от тези без инфекции, което представлява значима разлика ($p = 0.025$).

ANCA могат да бъдат открити при пациенти с инфекции случайно, независимо от наличието на васкулит. Те се откриват при инфекции със Staphylococcus aureus, бактериален ендокардит, лепроза, туберкулоза, вирусни инфекции, амебиаза. Ние установихме ANCA при 87,88% от болните с инфекции. ANCA се считат за един от основните маркери на AAV, като cANCA са специфични за грануломатозата на Вегенер, pANCA са по-малко специфични. pANCA се откриват и при доста неавтоимунни състояния като инфекции, също и при здрави хора. Ние намерихме категорична асоциация между pANCA и GPA с инфекции. При нашите болни 45,45% от пациентите с WG и антинеутрофилноцитоплазмени антитела са с наличие на pANCA, това е в пъти повече от обичайното за това заболяване, което е около 21%. При пациентите с WG без инфекции преобладават cANCA, при тези с инфекции се установяват значимо повече pANCA **($p = 0.0000$).** Не установихме връзка между конкретен бактериален причинител и определено специфично антитяло, но anti-PR3 е по-честа при стафилокок, клебсиела и хемофилус, anti-MPO при стрептокок.

3. Анализ на клиничното протичане и органната локализация при различните AAV в българската популация

Според анализа на формата на протичане на болестта според EUVAS почти всички болни с GPA и MPA стартират най-често като ранна системна форма, следвани от генерализирана и тежка, което показва, че при голяма част от нашите пациенти болестта протича тежко и агресивно, с ранно настъпване на поражения в множество органи и застрашаване на функциите им, като най-тежко е протичането при микроскопския полиангиит, следван от Чърг-Страус синдрома.

Грануломатозата с полиангиит и микроскопският полиангиит са две много близки състояния, често мъчно се различават едно от друго и поставянето на точна диагноза може да бъде трудно. Най-важната разлика между тях е в характера на засягане на респираторния тракт, където при WG има грануломатозно възпаление, но то не винаги се проявява клинично и рентгенологично. Манифестации от страна на ГДП сме наблюдавали основно при болните с грануломатоза с полиангиит, по-рядко при еозинофилна грануломатоза с полиангиит и в единични случаи при микроскопски полиангиит. Най-често наблюдаваната от нас манифестация е ринорея, често с кървави примеси, следвана от възпаление на параназалните синуси. Деструкция и смущения във функцията на засегнатите органи се наблюдават само при пациентите с грануломатозата с полиангиит. **Белодробното ангажиране** е характерно за всички AAV, ние установихме, че белодробните прояви са най-чести при пациентите с грануломатоза с полиангиит, следвани от микроскопски полиангиит и ЧСС. Разликите между GPA и другите два васкулита са значими. Най-честият белодробен симптом при всички състояния е кашлицата, като хемоптиза се среща основно при грануломатоза с полиангиит. Васкулитът, който най-често и най-бързо води до дихателна недостатъчност, е микроскопският полиангиит, което е свързано с наличието на белодробен капилярит. При проведеното КТ изследване на гръден кош най-честата находка са нодулите. Те са сигнификантно повече в случаите с вегенерова грануломатоза и белодробно ангажиране, доста по-малко при еозинофилната грануломатоза с полиангиит и много рядко при микроскопския

полиангиит. Могат да бъдат с кавитации или без, като около 25% от кавитациите се наблюдават при нодули, по-големи от 2 cm. Според дебелината на стената са тънкостенни (1-3 mm) или дебелостенни (> 3 cm). Нямат зонална предилекция и се разполагат обичайно перибронховаскуларно, субплеврално, центрилобуларно или ангиоцентрално или са случайно разпределени. Те налагат широка диференциална диагноза и задължително изключване на инфекция. Те са сигификантно повече в случаите с вегенерова грануломатоза и белодробно ангажиране, доста по-малко при еозинофилната грануломатоза с полиангиит и много рядко при микроскопския полиангиит.

Нивата на кавитиране, които ние установихме, са по-ниски (19.1% от случаите) от данните от предишно проучване, където кавитации се срещат в около 30-50% от нодулите. Причина за тези резултати може да е ранното диагностициране и лечение на тези болни, преди да се оформят кавитации в нодулите, но е възможно и да има пропуски при диагностицирането им. Не при всички наши болни рутинно е провеждана HRCT. Другият типичен белег на васкулит – алвеоларният тип нарушения и промените тип „матово стъкло“, които са израз на васкулит на малките съдове, се срещат значимо по-често при микроскопския полиангиит. Установихме, че пациентите с AAV, при които има засягане на дихателните пътища в голям процент са cANCA позитивни. Що се отнася до антипротеиназа-3 и антимиелопероксидаза позитивните пациенти, всички видове прояви от горните дихателни пътища се срещат сигнификантно по-често при антипротеиназа-3 позитивните в сравнение с anti-MPO позитивните. Моделът на белодробно ангажиране се различава при двете групи. Белодробните нодули и кавитации се срещат по-често при anti-PR3 позитивните пациенти, докато алвеоларен капилярит с белодробни хеморагии се открива по-често при anti-MPO позитивните пациенти. Дихателната недостатъчност се асоциира с MPO-ANCA. Триадата от лезии на горните дихателни пътища, некротизиращ грануломатозен васкулит на белите дробове и некротизиращ гломерулонефрит, описана от Godman и Churg през 1954 г., остава класическа за характеризиране на грануломатозата на Wegener. При нашите болни белодробната биопсия е най-често провежданата биопсия. Най-често наблюдаваните

хистологични находки включват комбинация от васкулит и некротизиращо възпаление, в половината от случаите се откриват некрози, което е показателно за този тип васкулити и е улеснило значително клиницистите.

Бъбречното засягане при AAV е второто по честота. Прояви на бъбречно засягане наблюдавахме при 65.51% от нашите болни, преобладават жените. То е една от най-клинично значимите и може би най-тежката клинична проява. Бъбречното засягане се характеризира с бързо прогресираща бъбречна недостатъчност, с микро- или макрохематурия, протеинурия, както и активен уринен седимент. Около 35% от пациентите се нуждаят от диализно лечение. Водещата диагноза според нашите данни е микроскопският полиангиит (96,15% от болните с MPA са с бъбречни прояви).

Началните прояви обичайно са тихи и безсимптомни, като микроскопската хематурия със или без протеинурия често води до увреждане на бъбречната функция. Първите и най-чести симптоми, които сме наблюдавали, са еритроцитурия и протеинурия. Те са малко по-чести при микроскопския полиангиит. При голяма част от пациентите бъбречното засягане още в началото на болестта е сериозно и води до бързо настъпване на бъбречна недостатъчност.

Активността, определена чрез BVAS, е висока при диагностицирането и тя е по-висока от стойността за всички болни с AAV. Над 70% от болните са с повишени стойности на азотни тела в серума при поставяне на диагнозата, като те са повече в групата на микроскопския полиангиит, бъбречното засягане още в началото на болестта е сериозно и води до бързо настъпване на бъбречна недостатъчност. Необходимост от диализно лечение са имали над една трета от пациентите, не е наблюдавана разлика при двата вида васкулит. С прояви и от двете системи (бял дроб и бъбрек) са 69.47% от болните, като сигнификантно повече са при грануломатозата на Вегенер, не се открива съществена разлика в честотата на белодробната хеморагия, но случаите при микроскопския полиангиит са по-често срещани. Другите органи, при които сме наблюдавали едновременно съдово поражение наред с гломерулите, са кожата, сърцето, белият дроб, ЦНС.

При една трета от болните болестта започва с бъбречни симптоми, нефритът е единствена клинична проява на болестта и

това са болните, при които най-бързо е поставена диагнозата чрез ПББ. Класическите хистопатологични находки за ANCA асоциираните гломерулонефрити включват наличието на фибриноидна некроза, гломерулни полулуния и липса или оскъдност на имунни депозити в гломерулите (pauci-immune гломерулонефрити). Бъбречната биопсия служи не само за диагноза при AAV, но има и прогностична стойност. Обобщените резултати според класификационната схема на Berden показват, че при нашите пациенти най-често наблюдаваният тип гломерулонефрит е полулунният, следван от смесения тип. Наблюдавали сме гломерулна склероза при 19% от биопсиите, което е малко по-често от предишни проучвания, където тя е 11-13%. Независимо че ANCA асоциираните гломерулонефрити по дефиниция са олигоимунни, при 38.8% от тях се установява отлагане на комплемент и имунни депозити.

Процентът на пациентите с ангажиране на бъбреците и положителни ANCA е сигнификантно по-висок от ANCA негативните, което показва, че вероятно при пациентите с бъбречно засягане антителата са основен патогенетичен фактор. Изненадващо често сме наблюдавали едновременно позитивиране на ANCA и ANA, без да корелират с антитела срещу dsDNA. При нито един случай на ANCA ГН не сме установили anti-GBM.

Предишни публикации сочат, че при пациентите с ANCA гломерулонефрити протеинурията при диагностицирането на ГН и в проследяващия период е основният рисков фактор за развитие на бъбречна недостатъчност. Ние изследвахме преживяемостта и предикторите на лош изход при групата болни с бъбречно засягане. Не успяхме да идентифицираме рискови фактори при диагностицирането на болестта за настъпването на краен стадий бъбречна недостатъчност. Такива прогностични фактори се установяват за общата преживяемост на пациентите. Високата активност и специфичността на ANCA, както и отговорът към индукционната терапия оказват съществена роля в дългосрочната прогноза. Едногодишната преживяемост в нашето проучване е 97.8%, петгодишната е 86.2% и тя е сравнима с тази в предишни проучвания на пациенти с васкулити на малките съдове с бъбречно засягане, където варира от 59 до 95% при различни групи пациенти.

При проведения Cox HR модел установихме, че лечението с ритуксимаб за индукция на ремисия е независим предиктор за добър изход, а наличието на anti-MPO и високият BVAS – за лош изход. Намерихме негативна връзка между антителата срещу миелопероксидаза и преживяемостта, шансовете за лош изход са шесткратно по-големи при тези пациенти. В нашия случай лечението с ритуксимаб е довело до най-висок процент болни, които са се подобрили или са постигнали ремисия и най-нисък процент на починали болни и при извършения мултивариантен анализ той се явява независим предиктор за добра прогноза. От друга страна, при самостоятелното лечение с кортикостероид, когато не е комбиниран с циклофосфамид, ритуксимаб или микофенолат мофетил, броят на починалите е най-висок, като разликата е статистически значима, което потвърждава становището, че кортикостероидите самостоятелно не са достатъчни за контрол на ANCA васкулитите и особено за ANCA ГН.

Анализирайки клиничната картина при болните, установихме, че голяма част имат **прояви, които са извън типичната клинична триада** при AAV (горни дихателни пътища, бял дроб и бъбрек). Най-хетерогенната нозологична единица при нашите AAV е GPA. При пациентите с GPA значимо по-често се срещат прояви от страна на ОДА, очите, кожата, нервната система в сравнение с тези с MPA. Не установихме разлика в процентното засягане на сърдечно-съдовата система и гастроинтестиналния тракт между двата основни ANCA васкулита. Голяма част от пациентите (65%) имат мускулоскелетни прояви, основно под формата на артралгии и миалгии. Кожните прояви са типичен модел на васкулит. Въпреки широкия спектър на заболявания като цяло кожните манифестации при васкулитите са ограничени до няколко класически презентации: уртикариални папули, макулозна пурпура, палпируема пурпура, ливедо ретикуларис, подкожни нодули, некрози и язви. Над 40% от нашите болни са с кожно ангажиране при диагностицирането на болестта и при част от тях кожната биопсия е насочила мисленето на лекаря в насока васкулит. Основните обриви, наблюдавани от нас, са палпируема пурпура, която е клиничната презентация на левоцитоклазичния васкулит, следвана от еритемомакулозни обриви. По-редки са

livedo reticularis, цианоза по пръстите и erythema nodosum. При 35.59% от болните с кожни прояви сме наблюдавали некротични лезии и те са сигнификантно по-често при болните с GPA. Установихме сигнификантни разлики във вида на кожните лезии при пациентите с PAN, където най-често срещаната кожна проява е livedo reticularis. При нашите болни очите се засягат при 22.54%, най-честата изява е конюнктивит, следван от еписклерит, заден увеит и проптоза. GPA е най-честата диагноза и при нея сигнификантно по-често настъпват нарушения във функцията на очите, основно болните с проптоза и отлагане на грануломи около очите. Ангажирането на ССС при системните васкулити може да се изяви в началото на заболяването или по-късно в хода на протичането и то сигнификантно повишава смъртността. При нашите болни и при трите васкулита в 37.76% се наблюдават прояви от ССС, най-често при GPA. По литературни данни засягането на сърдечно-съдовата система не е често наблюдавано при AAV (< 10% при GPA и MPA). Не сме установили сигнификантна разлика по отношение на клиничните прояви, при GPA се среща по-често острата застойна сърдечна недостатъчност в сравнение с МПА, където по-чести са миокардит и перикардит. Васкулитът на гастроинтестиналния тракт се среща рядко при болните с AAV (между 3 и 7%) с ограничен репертоар от клинични симптоми – коремна болка, кървене от ГИТ, перфорация, дължащи се на исхемия или некроза на червата, като трябва да се изключи заболяване, свързано със страничните ефекти на лечението. ГИ симптоми сме установили само при шест от болните, които са ГИ кървене, чревна перфорация и субилеус. Ангажирането на нервната система е изключително важно поради необходимостта от агресивно лечение. То може да бъде на периферната (множествен мононеврит, сензомоторна полиневропатия) или на централната нервна система (церебрален или спинален васкулит, парализа на ЧМН или пахименингит), като само хистологичното изследване може да потвърди наличието на васкулит.

Нервната система се засяга при 28.27% от нашите болни, което е по-рядко от литературните данни. GPA е васкулитът, при който сме наблюдавали най-често неврологично засягане (при 68.29% от случаите), следван от MPA (40.74%) и EGPA

(12.20%). От периферната нервна система най-често се засягат черепномозъчните нерви, следвани от множествен мононеврит и полиневрит. Трима болни имат органични промени (MRT данни) за цереброваскулит, който сме свързали с други белези на клинична и имунологична активност на васкулита. Налице са сигнификантни разлики в находките между AAV и PAN, което потвърждава, че тези най-тежки васкулити в ревматологичната практика, приличащи си по това, че поразяват едни и същи органи, всъщност водят до различни по характер поражения и имат различна прогноза.

4. Профилограми на протичане на отделните AAV и на PAN

Изготвихме профилограми на протичане при ANCA асоциираните васкулити, които обобщават еволюцията на заболяването при нашите болни. Те показват, че при грануломатозата на Вегенер, микроскопският полиангиит и панартеритис нодоза най-често се наблюдава един пристъп с последваща трайна ремисия и прогнозата на тези заболявания като цяло се е подобрила. За съжаление, втората по честота профилограма е тази с един пристъп, който не може да бъде овладян и често завършва с фатален край, тя най-често се установява при микроскопския полиангиит, където е при една трета от случаите. При синдрома на Чърг-Страус няма случаи с такова протичане, но тук са най-честите случаи на персистираща активност в сравнение с другите ANCA васкулити. Грануломатозното възпаление е свързано значимо с по-голям риск от рецидив в сравнение с чистия васкулит при нашите пациенти с ANCA васкулити.

5. Честота на известните антитела в българската популация с AAV

ANCA са много важна и почти задължителна част от диагнозата на ANCA асоциираните васкулити, те са съществени за разбирането на патогенезата им и са важен диагностичен инструмент. Нивата на ANCA могат да се свържат с активността на болестта и с релапсите. В публикуваните до момента данни ANCA се откриват при около 65-75% от болните с MPA, между 82 и 88% от болните с GPA, честотата при EGPA е между 40 и 75%. Получените данни при нашите пациенти показват, че пациентите с

GPA в 88.75% са ANCA позитивни, тези с MPA са позитивни в 88.46% от случаите, а с EGPA в 75% от случаите, само при 10.34% не се установяват антитела, при трима болни не е провеждано изследване на антитела. От публикуваните данни от 2023 г. за европейските пациенти се вижда, че само 9% са ANCA негативни. Данните за нашите ANCA негативни пациенти са близки с цитираните по-горе.

Анти-PR3 антителата се считат за сензитивен маркер за активна грануломатоза на Вегенер, въпреки че пациентите с активна GPA, която е ограничена само в горния респираторен тракт, имат анти-PR3 в 1/3 от случаите. Анти-PR3 се откриват и в 50% от случаите с МПА, по-малко при тези с некротизиращ олигоимунен ГН. Анти-MPO антитела се откриват сред около 80% от пациентите с активен идиопатичен олигоимунен гломерулонефрит (NCGN), при 50% от пациентите с активен микроскопски полиангиит, при 60-70% от пациентите с ЕГПА и при 20% с ГПА. При анализ на антителата, насочени срещу специфични антигени, установихме, че най-висока е честотата на антителата, насочени срещу протеиназа-3 (при 41.38%), при 33.79% от болните се откриват антитела, насочени срещу миелопероксидаза, и при 5.52% антитела срещу двата антигена. При нашите болни с GPA 60.0% са anti-PR3 позитивни, а от пациентите с MPA 67.3% са anti-MPO позитивни. При пациентите с EGPA преобладават антителата срещу протеиназа-3, което е сходно с резултатите от други проучвания. Установява се статистически значима връзка между GPA и anti-PR3 и между MPA и anti-MPO, което категорично потвърждава корелацията на антителата с двата васкулита. Тези данни категорично предполагат, че серотипът на ANCA трябва да се вземе предвид при класифицирането на пациентите.

Нашето проучване не установи статистически значима разлика в процента положителни ANCA пациенти, разделени според тежестта на болестта, като системната форма на васкулитите е с най-голям процент на положителни ANCA, а най-нисък при най-леката форма – локализираната. Тежката форма е на трето място по наличие на антитела. Тези данни са подобни на данните при ANCA негативните, което показва, че наличието или липсата на антитела не е определящ фактор за тежестта на болестта, но е

определящ за системността. Потвърди се връзка между генерализираната форма и наличието на двете антитела едновременно, както и между локализираната форма и анти-PR3. Предишни проучвания показват строга връзка между anti-PR3 и активността на AAV (BVAS). Такава тенденция се наблюдава и при нашите болни, пациентите с anti-PR3 са с по-високи стойности на BVAS, като разликата не е съществена. Не се установи корелация между изхода на болестта и отделните антитела. Процентът на починалите е по-висок в групата на болните с anti-MPO, а на постигналите ремисия – в групата на anti-PR3, но разликите не са съществени. Антинуклерните антитела, които са типични за някои колагенози, се смята, че не участват в патогенезата на системните васкулити, макар че те се позитивират неспецифично заедно с антикардиолипиновите при някои васкулити, какъвто е гигантоклетъчният артериит. Нашите ANCA позитивни пациенти са с висока честота на ANA и те се откриват в половината от случаите. РФ се позитивира често и се асоциира с артритни промени. Антигломерулобазалномембранни антитела не се позитивират при нито един от пациентите с AAV. Комбинацията на ANCA с anti-dsDNA и ACLA се асоциира с тежки васкулитни прояви. ANCA антитела не се установяват при PAN и наличието им по-скоро изключва диагнозата. ANCA антителата са маркер за клинично и патофизиологично разграничаване на васкулитите на малките съдове и липсват при пациенти с PAN. В настоящата работа установихме ANCA, и то без типичното светене, при трима болни с PAN, без да се позитивират антитела срещу протеиназа-3 или миелопероксидаза. Това потвърждава твърдението на CHCC, 1994, че ANCA не са свързани с PAN и наличието им е по-скоро изключващ критерий за диагнозата PAN.

6. Имунологични асоциации на клиника, локализации и протичане при различните антитела в българската популация

През последните години беше установено, че съществуват различия между пациентите с PR3-AAV и тези с MPO-AAV, като те са описани преди повече от 10 години. Сегашни проучвания показват, че класификационните системи, които се основават на специфичността на ANCA, по-добре отразяват спектъра на ANCA асоциираните васкулити. Счита се, че повече по брой

органи се засягат при PR3-ANCA асоциираните васкулити, а изолираното бъбречно ангажиране е по-често при пациентите с MPO-ANCA асоциираните васкулити. Комбинацията от засягане на ГДП, бял дроб и бъбрек е по-честа при PR3-ANCA васкулитите. При нашите пациенти с положителни PR3-ANCA повече от половината имат прояви от горния респираторен тракт, като синузит, епистаксис, ринит, септални ерозии и перфорации, отити, мастоидити, субглотисна стеноза. Те са наблюдавани значимо порядко при MPO-ANCA, като при тези болни не е имало деструкции и тежки прояви от страна на органите. Белият дроб участва по-често при пациентите с PR3-ANCA, но без да е налице статистическа значимост. Находките от образните изследвания на нашите болни показват, че нодули, кавитации и инфилтрати, белег на грануломатозно възпаление, се откриват два пъти по-често при пациентите с положителни PR3-ANCA, а промени, говорещи за наличие на васкулит като „матово стъкло“, се срещат еднакво често и в двете групи. Разликата е значима само по отношение на белодробните нодули, които са по-чести при PR3-ANCA. Значимо по-често наблюдавахме белодробна хеморагия при болните с MPO-ANCA, данните ни потвърждават тези на Tervaert et al., 1990. Подобни данни установихме и за нарушенията в белодробната функция, които са значимо по-чести при MPO-ANCA. Не установихме значима разлика в белодробното ангажиране по типа на интерстициалната белодробна болест при двете групи наши болни, което не съвпада с данните на предишни проучвания, свързващи с по-висока честота на ILD при пациенти с MPO-ANCA. Бъбречната болест е честа проява на AAV и се наблюдава еднакво често при MPO-AAV и PR3-AAV. Ние установихме, че пациентите с MPO-ANCA по-често имат гломерулонефрит от тези с PR3-ANCA, без резултатът да е значим. Установихме, че сърдечно-съдовата система се засяга по-често без статистическа значимост при MPO-ANCA васкулитите, подобно на досегашните данни, които са оскъдни. Нервната система се засяга почесто при PR3-ANCA, периферната система се поразява еднакво при двете групи, засягането на ЦНС е по-често при PR3-ANCA, като неврит на ЧМН сме наблюдавали само при PR3-ANCA. Засягането на НС е еквивалентно при пациентите с PR3-ANCA и

MPO-ANCA (по 7%) според Suppiah et al., 2011, Cattaneo et al., 2007). Кожни лезии сме наблюдавали малко по-често в групата на PR3-ANCA. Некрозите по кожата са сравнително рядко и в двете групи, по-често без значимост в разликата.

Двата серотипа трудно се различават помежду си по клиничните прояви, но все пак съществуват различия. ANCA специфичността се оказва важна, но не задължителна за разграничаване на двата васкулита. Клиничните прояви на AAV и грануломатозата на Wegener може да се разделят на предимно васкулитни, каквито са гломерулонефрит, алвеоларни хеморагии, кожен, очен васкулит, неврит, и на такива, дължащи се на грануломатозно възпаление: ретроорбитални и белодробни маси, синузити, субглотисна стеноза, трахеобронхиално и менингеално ангажиране. Грануломите са характерни за грануломатоза с полиангиит и са изключващ критерий за микроскопски полиангиит, където се наблюдава само васкулит. Антителата срещу PR-3 се считат за диагностичен маркер за грануломатоза. Ние също установихме определени различия в клиничните манифестации и протичането между тях, като те са изразени за симптомите, свързани с формирането на грануломи, което е сигнификантно по-често при PR3-ANCA, и несъществени за васкулитните прояви, като механизмът на тези различия остава неизвестен. Вероятно той е свързан с реактивността на PR3 с Т-лимфоцитите, които играят съществена роля във формирането на грануломи. Когато са налице едновременно грануломатозно възпаление и васкулитни прояви, не се установява разлика между двете антитела. Не установихме разлика в смъртността при пациентите с PR3-ANCA и MPO-ANCA, което съвпада с повечето анализи.

7. Анализ на различни терапевтични режими при болни с ANCA асоцииран васкулит

Приложението на циклофосфамид има революционна роля в лечението на AAV. Този алкилиращ агент е ефективен при контролиране активността на тази група болести. Друг революционен медикамент в лечението на AAV е ритуксимаб – химерично моноклонално антитяло, насочено срещу CD20. Съгласно пре-поръките на EULAR тежките форми на ANCA асоциираните васкулити се лекуват с циклофосфамид или ритуксимаб.

Анализът на проведеното лечение на ANCA асоциираните васкулити при нашите пациенти показва, че пациентите с по-малка тежест на заболяването са лекувани с по-ниска доза КС и по-мек имуносупресор като метотрексат или азатиоприн, понякога и циклофосфамид. Тези с по-тежка болест са лекувани с висока доза КС, пулс терапия с КС в комбинация с циклофосфамид или ритуксимаб, а при най-тежките форми към тях е добавен още един имуносупресор или плазмафереза. Според настоящото изследване циклофосфамидът е използван по-рядко – при 53.52% от болните, в сравнение с данните от литературата. Избягването на циклофосфамид при българските пациенти се асоциира с по-младата възраст на пациентите и с наличието на гломерулонефрит. Циклофосфамидът е предпочитан медикамент при болни, при които васкулитът протича с ангажиране на горни дихателни пътища и бял дроб (както грануломатозни, така и васкулитни белодробни прояви). Предпочитан медикамент при моноорганно засягане е ритуксимаб и основно при AAV с бъбречно ангажиране. Бързо развиващата се бъбречна недостатъчност е един от основните фактори, определящ директно лечение с ритуксимаб. Ритуксимаб е предпочетен медикамент на първи избор също при болни с рецидивиращи и трудно повлияващи се инфекции, както и след преживян миокарден инфаркт и сърдечна недостатъчност. В хода на лечението с циклофосфамид най-честите причини за заменянето му с ритуксимаб са недостатъчна ефективност на терапията, персистираща активност на болестта, рецидив на заболяването след постигнато клинично подобрение и нежелани лекарствени събития (панцитопения, повишени чернодробни ензими, съдови инциденти).

Обобщените резултати за изхода от лечението показват, че лекуваните с ритуксимаб пациенти статистически значимо по-често са се подобрили в сравнение с циклофосфамид, но пък лекуваните с циклофосфамид по-често са достигнали до ремисия на заболяването, без статистическа значимост. Според нашите резултати ремисия се постига най-добре след лечение с циклофосфамид, когато болните нямат противопоказания и го понасят добре за достатъчно дълъг курс на лечение. От друга страна, това е и групата с най-много починали пациенти, като най-честата причина за смърт са възникнали инфекции в хода на лечението. Най-

малко са починалите при лекуваните с ритуксимаб и при болните с микроскопски полиангиит, и при тези с грануломатоза с полиангиит. Ритуксимаб не превъзхожда циклофосфамид по отношение на клиничното подобрение, но статистически значимо подобрява преживяемостта. В България не се прилага комбинация на циклофосфамид с ритуксимаб. Режимът на прилагане на ритуксимаб след неуспех или противопоказания за циклофосфамид се оказва по-удачен при пациентите с ГПА. Наличието или липсата на ANCA преди лечението не влияе върху ефективността на лечението. 85.90% от нашите пациенти са имали ANCA преди приложението на ритуксимаб, след ритуксимаб при 82% антителата се негативират. Не установихме разлика между вида на антителата при останалите позитивни. Негативирането на ANCA се асоциира с клинично подобрение след лечение с ритуксимаб и ефективността на ритуксимаб е по-висока при anti-PR3 положителните, където повече болни са подобрени или са постигнали ремисия, но от друга страна, тук са повече починалите пациенти. Нашите данни потвърждават, че използването на ритуксимаб при AAV води до клинично подобрение и е добре поносимо при българските пациенти. Те дават още доказателства, че ритуксимаб може да бъде ефективен при трудни за лечение пациенти, неповлияли се от предишно лечение и такива, които са показали непоносимост. Медикаментът е ефикасен и добре понасящ се от проблемните пациенти. Той показва достатъчно добър ефект и при белодробни, и при бъбречни прояви, и при моноорганно засягане. Ефектът върху антителата е по-добър в сравнение с наблюдаваното досега в практиката.

8. Анализ на клиничната картина и причините за смърт при починалите пациенти

Благодарение на съвременното лечение васкулитите от животозастрашаващи състояния станаха хронични заболявания с чести рецидиви, болните с AAV продължават да бъдат с пократка продължителност на живота в сравнение с общата популация. Ние направихме анализ на смъртността и причините за смърт при нашите болни с AAV и определихме факторите, които предсказват лоша прогноза. Проучване на EULAR, публикувано през 2008 г., сочи, че от трите васкулита най-висока петгодишна

преживяемост е наблюдавана при GPA – 71-84%, за MPA нивата са 45-76% и за EGPA – 60-97%. За срока на проведеното от нас наблюдение общата преживяемост при нашите болни е 88.7%, което е близко и малко по-високо от данните на EULAR от 2008 г. По диагнози тя е 88.75% за GPA, 86.54% за MPA и 75% за EGPA. Едногодишната и петгодишната преживяемост са съответно 94.4% и 88.7%. Нашите пациенти с грануломатоза на Wegener преживяват повече от тези с микроскопски полиангиит. Разлика в преживяемостта при отделните ANCA васкулити започва да се наблюдава след четвъртата година, когато преживяемостта при микроскопския полиангиит значително намалява. Водещата причина за неблагоприятен изход при нашите болни е неовладяната активност на болестта, основно от страна на белите дробове и бъбреците, следвана от насложена инфекция, обичайно в първите шест месеца от започване на лечението. Това подчертава още веднъж дилемата на клиницистите как да лекуват – от една страна, е необходимостта от ранно и агресивно лечение, от друга – голямата вероятност за развитие на животозастрашаваща инфекция в хода на лечението. Установихме, че рискът от смъртен изход остава висок и след първата година от заболяването. Инфекциите остават преобладаващата причина и след първата година, следвани от сърдечно-съдови усложнения и уремия. При изолираното белодробно засягане сигнификантно по-рядко се наблюдава смърт в сравнение с ремисия. Болните от нашата кохорта с постигната ремисия са 24.65%, което е доста по-малко от това в контролираните проучвания, където тя е 75-85% и от това в проследяващите проучвания (75-85%). Ние открихме четири основни предиктора за лоша прогноза при поставянето на диагнозата. Това са високите стойности на BVAS и FFS, наличието на инфекции, както и белодробното ангажиране. Наличието на инфекции се асоциира с 4.409 пъти по-висок шанс за проява на смърт, белодробното засягане се асоциира с 2.97 пъти по-висок шанс за проява на смърт спрямо ремисия. Тези два показателя вероятно са свързани, пациентите с лезии в белите дробове много по-често развиват опортюнистични инфекции. В предишни анализи най-честите причини, които се асоциират със смъртен изход, са по-високата възраст на пациентите, мъжкият пол, високата активност на болестта, бъбречната

недостатъчност. Ние не установихме връзка на преживяемостта на пациентите с възрастта при поставянето на диагнозата, пола, наличието на ANCA, специфичността на ANCA. Независими предиктори за смъртен изход са високата активност на болестта, наличието на инфекции и липсата на лечение с ритуксимаб. Лечението с ритуксимаб се асоциира с по-голяма вероятност за благоприятен изход. Вероятно ритуксимаб по-бързо потиска активността на васкулита и предотвратява настъпването на трайни органни поражения.

9. Роля на някои биомаркери в имунопатогенезата на ANCA асоциираните васкулити

Антинеутрофилноцитоплазмените антитела, насочени срещу протеиназа-3 и миелопероксидаза, играят несъмнено основна роля в патогенезата на ANCA асоциираните васкулити. Продължават интензивно да се проучват и да се установяват нови фактори, които участват в имунопатогенетичните им механизми. Предполага се, че **LAMP-2** може да играе важна роля в имунопатогенезата на AAV, като на този етап данните са противоречиви. В настоящата работа изследвахме LAMP-2 като предполагаем маркер за активност. Предположението, че LAMP-2 биха играли роля в имунопатогенезата на ANCA васкулитите не беше потвърдено от нашето проучване и резултатите не показват корелация между плазмените му нива и изследваните клинични и имунологични параметри. Той се установява при малка част от болните, и то в ниски титри, което предполага, че не играе ключова роля в патогенезата. Установява се само при 23.40% от пациентите, които са с активност на заболяването по време на изследването, няма разлика в нивата при лекуваните и нелекуваните болни. Не установихме сигнификантна разлика в честотата и в нивата му при болните с олигоимунни гломерулонефрити, не установихме разлика в стойностите между лекуваните и нелекуваните пациенти, както и при болните с болестна активност и без активност. Установихме, че нивата на LAMP-2 са сигнификантно по-високи при пациентите с GPA и MPA с висока болестна активност и лечение с ритуксимаб в сравнение с тези на конвенционална терапия, като тази разлика е по-осезаема при болните с GPA.

Плазминоген/плазмин системата играе важна роля в разтварянето на фибрина и в разграждането на някои екстрацелуларни матриксни протеини, чрез тях оказва влияние върху

възпалителните процеси. В последните години беше доказана ролята на антителата срещу плазминоген в имунопатогенезата на част от пациентите с ANCA васкулити с бъбречно увреждане и активността на заболяването.

Основната цел на нашето проучване е да установим наличието на връзка между серумните нива на плазминоген с протичането, органното засягане и активността при пациенти с ANCA асоциирани васкулити. Сравнявайки серумните нива на плазминоген при пациенти с AAV със здрави контроли установихме, че нивата при болните са значимо по-високи от нивата при здравите. Сравнявайки серумните нива при отделните диагнози, както и при болните с активност и без активност, установихме корелация между ниските нива на плазминоген и активността на васкулита. В групата с високи нива преобладават тези с грануломатозно възпаление, а в групата с понижени нива – тези с васкулит. Не се установи разлика в белодробното ангажиране между двете групи. Единствената достоверна разлика между двете групи, която установихме, е по отношение на бъбречното участие. Всъщност 100% от нашите пациенти с ниски нива на плазминоген имат бъбречно ангажиране, освен това то е тежко – 100% са с нарушена бъбречна функция, средната стойност на креатинина при тях е по-висока в сравнение с болните с нормални и високи нива. Животински модели демонстрират, че антитела срещу плазминоген участват в патогенезата на гломерулонефритите и във формирането на полулуния в гломерулите, което е резултат от понижена фибринолитична активност, вследствие дисрегулация на плазминоген/плазмин системата. След проведения регресионен анализ се установи отрицателна обратна връзка между високите нива на плазминоген и отсъствието на бъбречно засягане. С увеличаване нивото на плазминоген в серума с една единица шансовете за липса на бъбречно ангажиране се увеличават 1.003 пъти, което се свързва достоверно с отсъствието на бъбречно засягане. Установи се значима разлика в нивата между различните терапевтични режими. Серумната концентрация на плазминоген е достоверно по-висока при болните, провели курс на лечение с ритуксимаб, в сравнение с конвенционалната

терапия. При комбинираната терапия с Rtx сигнификантно се увеличават нивата на плазминоген в серума, което корелира с отрицателния титър на ANCA. Има клиничен смисъл проследяването им при терапия с ритуксимаб, циклофосфамид за преценка на продължителността на терапията.

Образуването и развитието на грануломните некротични лезии при ANCA асоциираните васкулити е комплексен процес, в който участва не само хуморалният, но и клетъчномедиираният имунитет. **TNFα** е основен цитокин, участващ във възпалителния отговор и водещ до продукция на множество други проинфламаторни и регулаторни цитокини и хемокини. Патогенезата на некротичното грануломатозно възпаление в респираторния тракт е различна от тази на системния васкулит и е Т-клетъчно зависима. Ние не установихме статистически значими разлики в нивата на TNFα при пациентите в сравнение със здравите лица, както и между болните с GPA и с MPA. Намерихме корелация между засягането на ГДП и бял дроб и плазмените нива на TNFα при болните с GPA. Те са сигнификантно по-високи при болните с белодробно ангажиране в сравнение с тези без белодробно ангажиране. Също така установихме корелация между активността и нивата на TNFα, те са сигнификантно повишени при болните, които са в състояние на болестна активност по време на изследването в сравнение с тези без активност и от здравите лица. Предшестващото лечение оказва влияние върху нивата на цитокините. При пациентите на терапия с ритуксимаб статистически значимо се понижават нивата на TNFα в сравнение с нивата при пациентите на конвенционална терапия, което е свързано с по-големия процент на ремисия при тях. Открива се обратнопропорционална корелация с нивата на плазминоген, пациентите с високи нива на TNFα имат нисък плазминоген и висока активност.

Тези данни са в подкрепа на това, че този цитокин има отношение към ендотелните клетки и важна роля в продукцията на прокоагулантни фактори [72, 88, 89, 90].

Т-супресията е особено важна за силата на възпалителния отговор. **Indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO)** е ензим, който се експресира от антиген-представящите клетки, епителните клетки, съдовия ендотел и туморните клетки и катализира началните и следващите скорост лимитирани процеси в разграждането на есенциалния amino

acid tryptophan. Медиираните от IDO катаболни продукти, наречени kynurenines, играят важна имуносупресивна роля на първо място чрез регулация и анергия на Т-ефекторните клетки и индукция на пролиферацията на Т-регулаторните клетки.

Блокирането на този толерогенен път може да бъде нова терапевтична стратегия при автоимунни заболявания. Установихме положителна корелация между серумните нива на IDO и TNFα, проведохме анализ за корелация, който потвърди положителна, силна и значима връзка между IDO и TNFα. Също така установихме положителна корелация между IDO и BVAS. Проведеният непараметричен тест за съпоставки показа значима разлика в серумната концентрация между болните с GPA и MPA, между здравите контроли и болните с MPA, без да има такава между болните с GPA и здравите контроли. Нивата при болните с активност са по-високи в сравнение със здравите контроли и с болните без активност. Поради малкия брой на болните не могат да се отчетат значими разлики, макар и да са близки до значимост. Положителните корелации, които установихме, потвърждават имуносупресивната функция на IDO и ролята му в потискането на възпалителните механизми, които се стимулират от TNFα.

При пациентите на комбинирана терапия с ритуксимаб се понижават нивата на TNFα в сравнение с нивата на този цитокин при пациентите на конвенционална терапия, имуносупресивният ензим IDO също се понижава при тези пациенти. Това потвърждава данните, че неговата продукция зависи и се регулира от нивата на проинфламаторните цитокини. Предполага се, че при пациенти с AAV, които са в клинична ремисия, появата на леко възпаление води до повишена продукция на IDO и той може да е ефективен ранен маркер за включване на имунупресивна терапия или промяна в съществуващата.

VI. ИЗВОДИ

1. В текущата ревматологична практика ANCA васкулитите са най-често наблюдавани сред първичните васкулитни синдроми, най-често поставяната диагноза е GPA, следвана от MPA и CSS. PAN се установява сравнително рядко и неговата честота е сравнима с CSS.

2. Васкулитите с некрози и висок риск за живота произхождат основно от пристъпи на колагенози – СЛЕ и ПСС. Следва групата на болните с некротични лезии без други прояви и без достатъчно признаци на системен васкулит или СЗСТ.

4. AAV са самостоятелни единици и не се припокриват клинично и имунологично с други СЗСТ.

5. Най-често наблюдаваните инфекции са на горните дихателни пътища, белите дробове и кожата. Най-честите бактериални причинители са Staphylococcus aureus, следвани от Klebsiella и Streptococcus. Напредналата бъбречна недостатъчност и диализното лечение се свързват с по-висок риск от сериозни, животозастрашаващи инфекции.

6. Инфекциите рязко влошават протичането и прогнозата. Смъртността при болните с AAV и инфекции е около три пъти по-висока от тези без инфекции.

7. При GPA съществува асоциация между перинуклеарните антинеутрофилноцитоплазмени антитела и васкулитите с инфекции.

8. Най-важната разлика между грануломатозата с полиангиит и микроскопския полиангиит е в характера на засягане на респираторния тракт, където при едното заболяване има грануломатозно възпаление, то не винаги се проявява клинично и рентгенологично.

9. Моделът на белодробно ангажиране се различава при двете групи. Белодробните нодули и кавитации се срещат по-често при anti-PR3 позитивните пациенти, алвеоларен капилярит се открива по-често при anti-MPO позитивните пациенти. Не се установява разлика при белодробните хеморагии.

10. ANCA асоциираният ГН е опасна проява на болестта и е определящ за тежестта на протичане. Над 70% от болните са с повишени стойности на азотни тела в серума при поставяне на диагнозата. Необходимост от диализно лечение са имали една

трета от пациентите, без да се наблюдава разлика при двата вида васкулит. Полулунният ГН е най-често наблюдаваната хистологична находка. Преобладаващото антитяло при бъбречно засягане е anti-MPO ANCA и то се свързва с по-лоша бъбречна прогноза и с бъбречна склероза и белодробна фиброза.

11. Гломерулонефритът е самостоятелна съдова патология и не съществува изразена тенденция за едновременно съдово засягане на множество органи.

12. Понякога болестта започва с манифестации от нервната система, очите или сърдечно-съдовата система и те не са за подценяване и трябва активно да се търсят. Налице са сигнификантни разлики в находките между AAV и PAN, което потвърждава, че тези тежки васкулити в ревматологичната практика, приличащи си по това, че поразяват едни и същи органи, водят до различен тип поражения и клиника.

13. Ходът на болестта при GPA и PAN се е подобрил, при тях заболяването най-често протича с един пристъп, последван от ремисия или стабилно подобрение. Най-сериозно е протичането при MPA.

14. Васкулитите на средните съдове са с по-леко протичане от това на AAV.

15. В текущата ревматологична практика откриването на ANCA се явява съществен критерий за поставянето на диагнозата ANCA асоцииран васкулит. Те се установяват при почти 90% от българските пациенти. Съществува връзка между PR3-ANCA и GPA и между MPO-ANCA и MPA. Наличието или липсата на антитела не е определящ фактор за тежестта на болестта.

16. В настоящата работа антигломерулобазалномембранни антитела не се позитивират при нито един от пациентите с AAV. Комбинацията на ANCA с anti-dsDNA и ACLA се асоциира с тежки васкулитни прояви.

17. ANCA специфичността не е определяща за васкулитните прояви. Формирането на грануломи е сигнификантно по-често при PR3-ANCA.

18. Циклофосфамид, прилаган достатъчно дълго време, е медикаментът, който най-често води до ремисия и при GPA и при MPA.

19. Ритуксимаб не превъзхожда циклофосфамид по отношение на клиничното подобрение, но статистически значимо

подобрява преживяемостта. Наличието или липсата на ANCA преди лечението не влияе върху ефективността на лечението. Негативирането на ANCA се асоциира с клиничното подобрение след лечение с ритуксимаб при ANCA положителните. Ефективността на ритуксимаб е по-висока при anti-PR3 положителните.

20. Петгодишната преживяемост при българските пациенти с AAV е сравнима с тази на европейските пациенти. Болните с грануломатоза на Wegener преживяват повече от тези с микроскопски полиангиит. Водещата причина за смърт при нашите пациенти е уремията и свързаните с нея увреждания на други органи и системи, следват инфекциите и сърдечно-съдовите усложнения.

21. Предиктори на смъртен изход са високата активност на васкулита (определена чрез BVAS) и наличието на инфекции. Не се установи връзка на преживяемостта на пациентите с възрастта при поставянето на диагнозата, пола, наличието на ANCA, специфичността на ANCA. Лечението с ритуксимаб се асоциира с по-ниска вероятност от смърт. Постигането на ремисия все още е далеч от желаното.

22. Освен ANCA някои молекули, цитокини и други антитела също може да влияят върху имунопатогенезата, съдовата увреда и протичането и изхода на васкулитите. Установихме корелация между ниските нива на плазминоген с активността на васкулита и с бъбречното засягане. TNFα вероятно има отношение към активността, към формирането на грануломи и към прогнозата на болестта. Имуносупресивният ензим IDO и пътят на разграждането на триптофана имат значение за силата на възпалителния имунен отговор при AAV. LAMP-2 се среща при малка част от болните, и то в ниски титри, което не предполага да играе водеща роля в протичането.

23. Приложението на анти-CD20 моноклоналното антитяло Rituximab, оказва благоприятно влияние върху нивата на ключови имунологични показатели, свързани с процеса на съдова увреда, имащи съществена роля в имунопатогенезата на AAV. Терапията с Rtx сигнификантно увеличава нивата на плазминоген в серума, което корелира с отрицателния титър на ANCA. При пациентите на терапия с Rtx статистически значимо се понижават нивата на TNFα, което е свързано с по-големия процент на ремисия при този тип пациенти. Имуносупресивният ензим IDO също се повлиява значимо при пациенти с GPA на комбинирана терапия с Rtx.

VII. ПРИНОСИ

1. С оригинален характер

1. За първи път в България са анализирани и е направена оценка на клиничните и имунологичните характеристики на различните видове ANCA асоциирани васкулити, като е използван пълноценно пълен набор от инструментални изследвания.

2. За първи път при българската популация е направена комплексна оценка на протичането при множество органи и системи и е определен моделът на органно ангажиране при отделните васкулити.

3. Направен е анализ на васкулитите според специфичността на ANCA и са установени определени различия в клиничните манифестации за българските болни с AAV.

4. За пръв път у нас е направен анализ на различните терапевтични режими, на причините за прилагането и на резултата от лечението сред голяма група болни с AAV.

5. За първи път в България е описан и анализиран собствен опит на лечение на AAV с биологичен медикамент (ритуксимаб) и е сравнена ефикасността му със стандартна терапия. Установено е превъзходството му при PR3 положителните пациенти и по отношение на преживяемостта.

6. За пръв път е изследвана петгодишната преживяемост сред българските пациенти с AAV и е установено, че тя е сравнима с тази на европейските пациенти. Установено е, че пациентите с грануломатоза с полиангиит преживяват повече от тези с микроскопски полиангиит. Основната причина за смърт е уремията.

7. За първи път у нас са потърсени и са идентифицирани предиктори за смърт и съответно за по-добра преживяемост при болни с AAV. Като предиктори за смърт са определени високата активност на васкулита и наличието на инфекции. Изолираното белодробно ангажиране и лечението с ритуксимаб се асоциират с по-ниска смъртност.

2. Научно-приложни

1. Изследвани са серумни нива на плазминоген и е потвърдена корелацията с активността на васкулитните прояви и с бъбречното засягане.

2. Изследвани са серумни нива на TNFα и е потвърдена връзката му с активността, формирането на грануломи и белодробното засягане при група български пациенти с AAV.

3. Изследван е имуносупресивният ензим IDO и е потвърдена ролята му като модулатор на възпалителния имунен отговор при AAV.

4. Изследвани са серумните нива на LAMP-2 и не е потвърдена неговата роля в конкретно органно засягане, активността, имунния статус при AAV.

5. За пръв път е установено, че приложението на анти-CD20 моноклоналното антитяло Rituximab оказва благоприятно влияние върху нивата на плазминоген в серума, което корелира с отрицателния титър на ANCA, значимо понижава нивата на TNFα в сравнение с конвенционална терапия.

3. Приноси с потвърдителен характер

1. Потвърдена е небходимостта от участието на интердисциплинарен екип и използването на пълен набор от инструментални и клиниколабораторни средства за диагностицирането, лечението и наблюдението на болните със системни васкулити.

2. Потвърдена е важната роля и връзката между серумните нива на определени биомаркери, асоциацията им с конкретно органно засягане и връзката им с конкретно лечение, с оглед избор на своевременна подходяща терапия и мониторинг.

3. Потвърдена е необходимостта от бързо и адекватно лечение според активността и формата на заболяването.

VIII. ПУБЛИКАЦИИ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИЯТА

Публикации

1. **Йонева Цв,** Здравкова Я, Рашков Р et al. Васкулити – съвременна класификация и диагноза. Ревматология, 2015, 23(2): 3-18.
2. **Йонева Цв**, Рашков Р. Rituximab при лечението на ANCA-асоциираните васкулити. Ревматология, 2015, 23(3): 3-20.
3. **Yoneva Tsv**, Zdravkova Y, Kotov G, Rashkov R, Sheytanov I. Structure of the vasculitides observed in the Clinic of Rheumatology – Sofia. Rheumatology, 2020; 28(3): 15-24.
4. **Yoneva Ts**, Zdravkova Ya, Kalinova D, Kotov G, Ivanova-Todorova E, Rashkov R, Sheytanov I. Frequency of certain infections and their role in the development of ANCA-associated vasculitides. Bulgarian Journal of Clinical Immunology 2020; 13(1): 13-19.
5. **Йонева Цв**, Здравкова Я, Котов Г, Пенчева В, Георгиев О, Рашков Р, Шейтанов И. Сравнителен анализ на засягането на респираторния тракт при отделните ANCA-асоциирани васкулити при група български пациенти. Медицински преглед 2022; 58(3): 38-47.
6. **Yoneva T**, Zdravkova Y, Kotov G, Ivanova-Todorova E, Vasilev G, Rashkov R, Sheytanov I. Analysis of treatment outcomes in patients with antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis on rituximab therapy. Archives of Rheumatology 2023; 38(x):i-ix. **(IF 1.007).**

Участия в научни конгреси и конференции

1. **Йонева Цв**, Здравкова Я, Котов Г, Рашков Р, Шейтанов И. И други възможности за повлияване на труднозаздравяващи васкулитни улцерации. MedicRON Rheumatology & Oncology & Neurology 2024, 5-8.12.2024 г., Пловдив (Доклад).
2. **Йонева Цв**, Здравкова Я, Рашков Р, Шейтанов И. Различни терапевтични режими при болни с ANCA-асоциирани васкулити

– опит на Клиниката по ревматология, София. Втори интердисциплинарен ревматологичен форум 24-26.06.2022 г., Бургас (Доклад).

3. **Йонева Цв**. ANCA васкулити, как ги лекуваме днес. Първа научна конференция ХРОНИЧНИ ЗАБОЛЯВАНИЯ, 27-31.05.2021 г., Дюни (Доклад).
4. **Йонева Цв**, Здравкова Я, Рашков Р. ПАН и МПА – сравнителен анализ. Юбилейна национална конференция по ревматология с международно участие 12-15.05.2016 г. Поморие (постер).