

Медицински университет София, Медицински факултет,

Клиничен център по нефрология

УМБАЛ „Александровска“ ЕАД, София

Клиника по нефрология и трансплантация

# **Протеинурия при бъбречно трансплантирани пациенти**

Докторант – д-р Вера Евгениева Стаменова

Научен ръководител – проф. д-р Емил Паскалев

Димитров, дмн

Дисертационният труд съдържа 150 стандартни страници, 22 фигури, 17 таблици. В книгописа са цитирани 285 статии - 278 на английски език, 7 на български език.

## СЪДЪРЖАНИЕ

1. Увод	5
2. Цел	6
3. Задачи	6
4. Използвани съкращения	7
5. Литературен обзор	10
6. Материали и методи	64
7. Срезово проучване на протеинурията при бъбречно трансплантирани пациенти в България според степен, време на поява и честота.	68
8. Срезово проучване на влиянието на албуминурията върху бъбречната функция и честотата на остра и хронична реакция на отхвърляне	77
9. Ретроспективно лонгитудинално проучване при протеинурия на трети месец след БТ	81
10. Ретроспективно лонгитудинално проучване за ефекта от лечение с mTOR инхибитор върху протеинурията след бъбречна трансплантация.	94
11. Ретроспективно лонгитудинално проучване на ефекта от лечение с ACE инхибитор/ARB и сравнение с лечение с калциев антагонист	104

или комбинация от двете групи медикаменти

12. Заключение	116
13. Изводи	120
14. Книгопис	124
15. Спик на публикациите във връзка с дисертационния труд	146

## УВОД

Доказано е, че протеинурията при пациенти с хронични бъбречни заболявания е свързана с прогресия на бъбречното заболяване, висок риск от достигане на терминална бъбречна недостатъчност, повишена сърдечно-съдова заболеваемост, смъртност, както и обща смъртност. Въпреки по-малкото клинични проучвания при бъбречно трансплантирани пациенти данните в литературата сочат, че протеинурията след бъбречна трансплантация е самостоятелен рисков фактор за загуба на графта, повишен сърдечно-съдов риск и смърт с функциониращ графт.

В Клиника по нефрология и трансплантация на УМБАЛ „Александровска“ се наблюдават 530 бъбречно трансплантирани пациенти. В настоящето проучване са обхванати всички пациенти с функциониращ графт до 01.12.2016г. Изследвана е протеинурията, бъбречната функция, промяната им в определени интервали след БТ и е изследвано влиянието върху преживяемостта на пациента и графта.

Направен е литературен обзор, включващ 285 литературни източника – 7 на български и 278 на английски език. От данните в литературата ясно личи необходимостта от по-голям брой големи клинични проучвания и изясняване на въпроси, свързани не само с произхода на протеинурията след БТ, но основно с възможностите за повлияване и намаляване на риска, който тя представлява.

## ЦЕЛ

Целта на настоящия дисертационен труд е да се направи характеристика на протеинурията при бъбречно трансплантирани пациенти в България и да се определи риска, който тя носи за преживяемостта на пациента и графта, както и възможностите за повлияването и лечение ѝ.

## ЗАДАЧИ

1. Да се направи характеристика на протеинурията при бъбречно трансплантирани пациенти в България според степен, време на поява и честота.
2. Да се изследва значението на албуминурията след БТ за бъбречната функция и честотата на остри и хронични реакции на отхвърляне.
3. Да се изследва влиянието на протеинурията на трети месец от БТ върху функцията на бъбречния графт във времето.
4. Да се изследва влиянието на протеинурията на трети месец върху преживяемостта на пациента и графта на шестата година след БТ
5. Да се изследва появата на протеинурия при лечение с mTOR инхибитори, факторите, влияещи върху степента и тежестта ѝ и значението ѝ за промяна в бъбречната функция и преживяемостта.
6. Да се сравнят протеинурията, бъбречната функция и нивата на хемоглобина при пациентите на терапия с ACEinh/ARB, ССВ или комбинация от медикаментите.
7. Да се изследва ефекта от лечението с ACEинхибитор/ARB върху преживяемостта при пациенти с биопсично доказана патология на графта

## ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

ACEinh/ARB – инхибитори на ангиотензин конвертирация ензим/ блокери на ангиотензин 2 рецептор 1

AZA – azathioprine

BMI – body mass index

CCB – калциеви интагонисти

CNI – calcium channel blocker

CsA – cyclosporine A

DGF – delayed graft function

HLA – human leucocyte antigen

IL – interleukin

KDIGO – kidney disease improving outcomes

MDRD - Modification of Diet in Renal Disease

MMF – mycophenolate mofetil

mTOR inh- mammalian target of rapamycin inhibitors

TGF- $\beta$  – transforming growth factor beta

TNF- $\alpha$  – tumor necrosis factor alfa

VEGF – vascular endothelial growth factor

АКИ – албумин/креатининов индекс

АХ – артериална хипертония

БТ – бъбречна трансплантация

БФ- бъбречна функция

ГАГ – глюкозаминогликани

ГБМ – гломерулна базална мембрана

ГНМП – гломерулонефрит с минимални промени

ДАН – диастолично артериално налягане

ЗД – захарен диабет

ИНС – идиопатичен нефрозен синдром

МзПГН – мезангиопролиферативен гломерулонефрит

ММ – мултиплен миелом

МН – мембранозна нефропатия

МПГН – мембранопролиферативен гломерулонефрит

ОСГСХ – онищна гломерулна склероза и хиалиноза

ПББ – пункционна бъбречна биопсия

ПКИ – протеин/креатининов индекс

САН – систолично артериално налягане

СГФ – скорост на гломерулна филтрация (eGFR)

ТХБН – терминална бъбречна недостатъчност



ХБЗ – хронично бъбречно заболяване

ХТИН – хроничен тубуло-интерстициален нефрит

ХУС – хемолитично-уремичен синдром

## ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР

### Анатомия и физиология

Бъбреците са чифтен орган, разположени в ретроперитонеалното пространство на нивото на 12 торакален и 3 лумбален прешлен. Десният бъбрек обикновено е разположен 1-2 см по-ниско от левия. Нормалните размери при възрастен човек са 10-12 см надлъжен размер, 4-6 см напречен размер. Бъбреците са покрити отвън с фиброзна капсула (капсула на Герота). Върху фиброзната капсула има слой мастна тъкан – мастна капсула. Мастната капсула е покрита от бъбречна фасция, която има преден и заден лист /3/.

Под фиброзната капсула е разположена паренхимна зона с дебелина 1-2 см. Тя се състои от външен слой – кора и вътрешен слой – медула. Кората има зърнист строеж и съдържа гломерулите, кръвоносни съдове и каналчета. Медулата е изградена от пирамиди и колони на Бертини. Пирамидите са структури с по-тъмен цвят на фона на останалата медула, обърнати са с основата си към кората, а с върха – към легенчето на бъбрека. Всеки бъбрек има между 7 и 20 пирамиди. Върхът на всяка пирамида завършва с папила, на която има множество отворчета (зона, наречена *lamina cribrosa*). Колоните на Бертини се разполагат между пирамидите и представляват част от коровото вещество, преминаващо в медулата. Състоят се от кръвоносни съдове, каналчета и фиброзна материя /3/.

Пиелокаликсната система на бъбрека е изградена от малки чашки, големи чашки и легенче. Обикновено в една малка чашка се отваря една папила, но в полюсите могат да са 2-3 папили. При сливането на малките чашки се образуват големи чашки – 2-3 на брой. Големите чашки се отварят в легенчето.

В хилуса на бъбрека легенчето преминава в уретер, който се свързва с пикочния мехур. Пикочните пътища завършват с уретрата /3/.

Основната структурна и функционална единица на бъбрека е нефронът. Всеки бъбрек съдържа около 1 милион нефрона. Нефронът се състои от капилярно кълбце – гломерул, заобиколено от Бауманова капсула, която има париетален и висцерален лист. Всеки гломерул е съставен от няколко капилярни бримки – разклонения на аферентната артериола, мезангиални клетки и мезангиален матрикс, разположени във вътрешността на капилярното кълбце. Отвън капилярите на гломерула са покрити от епителни клетки – подоцити. Те заедно с техните слит диафрагми представляват един от основните компоненти на филтрационната бариера, включваща още фенестрирания ендотел на гломерулните капиляри и трислойната базална мембрана. Тази бариера не позволява преминаването на големи молекули в ултрафилтрат като ограниченията включват молекулния размер, форма и електричен заряд - в уринното пространство не се допуска преминаването на неутрални молекули с размер по-голям от 4,2 нм, а клирънс на анионни молекули с диаметър по-голям от 3,4нм практически липсва. /2, 83, 200, 3/. Пример за това е молекулата на албумина – негативно заредена с размер 3,6нм, по-малко от 1% се губи дневно с урината (под 30мг/24ч при серумна концентрация около 40г/л) /114/. След преминаването на кръвта през гломерулните капиляри се оформя ултрафилтрат, който има електролитен състав еднакъв с плазмения, но не съдържа формени елементи на кръвта и белтъци. Малки белтъчни молекули могат да преминат през филтрационната бариера, но обикновено се реабсорбират в проксималния тубул. Нормално в урината могат да присъстват до 150мг/24ч белтък и до 30мг/24ч албумин. Гломерулният ултрафилтрат постъпва в Баумановото пространство, а оттам преминава по тубулната

система на нефрона. Всеки нефрон има проксимален извит тубул, последван от прав сегмент, съдържащ бримката на Хенле с низходяща и възходяща част. В края на възходящата част при началото на дисталния извит тубул се намира юктагломеруларния апарат. От дисталния извит тубул следва свързващ сегмент и събирателно каналче /2, 3, 83/.

Бъбрекът е богато кръвоснабден и получава около 25% от минутния сърдечен обем. Главните съдове на бъбрека са бъбречната артерия – магистрален клон на аортата, и бъбречната вена, която се влива в долната празна вена. Дясната бъбречна артерия минава зад долната празна вена, а лявата бъбречна вена е разположена пред аортата. В хилуса артериите се разполагат пред вените и се разделят първо на 3 клона, като два минават пред легенчено, а една – зад него. След това артериите се делят на лобарни (навлизат в Бертиниевите колони), аркуатни (по основата на пирамидите), лобуларни (отделящи се към кората) и прави (към пирамидите). Аферентните артериоли на гломерулите се отделят от лобуларните артерии. От гломерулите излизат еферентните артериоли, които дават началото на перитубулните капиляри. Еферентните артериоли на юкстамедуларните гломерули отделят лъжливи прави артериоли- те формират капилярната мрежа на пирамидите /3/.

При преминаването си през гломерулите около 20% от плазмата се филтрира в тях или около  $130 \text{ мл/мин}/1,73\text{м}^2$ . Това представлява гломерулната филтрация – основен показател на бъбречната функция. В практиката скоростта на гломерулна филтрация се изчислява по различни формули, използващи серумната концентрация на креатинина. Креатининът е азот съдържащ отпаден продукт от метаболизма на креатинфосфата в мускулите. Образува се със сравнително постоянна скорост в организма и зависи от мускулната маса и в

по-малка степен от диетичния режим, който придобива по-голямо значение при ХБЗ /182, 205/. Удобството му за изчисляване на скоростта на гломерулна филтрация се определя от това, че той не се реабсорбира в тубулите, а секретията му е пренебрежимо малка. По този начин количеството плазма, изчистено изцяло от креатинина за единица време (клирънс на креатинина), отразява гломерулната филтрация /3/.

По-голямата част от уринния ултрафилтрат се реабсорбира в тубулите, като обемът на крайната урина е около 1,5-2 л/дневно. Съставът на крайната урина е 95% вода и 5% разтворени вещества – урея, натриеви, калиеви, хлорни, амониеви йони, креатинин, фосфати, сулфати, пикочна киселина, пигменти. Нормално не съдържа кръвни клетки, глюкоза, но може да присъства малко количество белтък – до 150мг/дневно, в които се включват 20-30 мг албумин, 10-20мг нискомолекулни белтъци, 40-60 мг се дължат на секретирани от тубулите протеини като протеин на Tamm-Horsfall и IgA /3, 83/.

#### Филтрационна бариера

Филтрационната бариера с нейните специализирани компоненти участва като интегрална структура в процесите на гломерулна филтрация. Гломерулният филтър осигурява преминаване на малки молекули в ултрафилтрат, но не допуска молекули със средно и високо молекулно тегло. Отделните компоненти на бариерата не са независими, а осъществяват непрекъсната връзка помежду си. Така например, интеракцията между подоцитите и ендотелните клетки се осъществява от съдово-ендотелния растежен фактор (vascular endothelial growth factor-VEGF), секретирани от подоцитите. При блокиране на взаимодействието, ендотелните клетки губят приплесната си форма и фенестрите и това води до появата на протеинурия. Подоцитният  $\alpha 3\text{-}\beta 1$

интегрин осъществява връзка с  $\beta 2$  ламинин на базалната мембрана. Дисрегулацията на алтернативния път на комплемента, водещ до промени в ендотелни компоненти е основен път за комплемент-медиация мембрабпролиферативен гломерулонефрит и атипичен ХУС /2, 167, 186, 220/.

Подоцитите са високоспециализирани клетки, изграждащи висцералния лист на Баумановата капсула и имат първостепенно значение за поддържане на интактна филтрационна бариера /114/. Структурата на подоцитите се характеризира с дълги израстъци – първични, от които се образуват вторичните израстъци или крачета /195/. Крачетата на съседни подоцити се застъпват под форма подобна на цип. Между съседни крачета се формират слит диафрагмите, които представляват междуклетъчни връзки, подобни на плътните, но имат специфични характеристики. Основните молекули, формиращи слит диафрагмите са нефрин и подоцин. Тези протеини се експресират само в подоцитите. Представяват интегрални мембранни протеини. Нефринът формира слит диафрагмите, а подоцинът има роля за преместването и достигането на нефрина до самата слит диафрагма и го прикрепва към актиновия цитоскелет на подоцита. Актинът е основен за архитектурата на крачетата на подоцитите /129/. При някои генетични заболявания загубата на нормалното подреждане на актин в крачетата на подоцитите, нарушената експресия на нефрин или подоцин, водят до загуба на нормалната архитектура в слит диафрагмите и протеинурия изявена в различна възраст и с различна тежест /200/. Днес се полагат много усилия за изучаване на структурата на слит-диафрагмите, отношенията между различните компоненти и ефектите от увреда на някой от тях. В много случаи модели са генетични заболявания, при които има мутация в гените, отговорни за експресията на даден протеин. Мутацията на гените NPHS1, NPHS2, ACTN4,

CD2AP, WT1, TRPC6, LAMB2, отговорни за експресията на нефрин, подоцин, алфа-актинин 4, CD2- асоцииран протеин и др., са генетична база за изява на нефротичен синдром /188/. CD2-асоциираният протеин е опорна молекула, която регулира актиновия цитоскелет. Протеинът директно взаимодейства с актин и други мембранни протеини и участва в процесите на мембранен транспорт като рецептор-медирана ендоцитоза и цитокинеза. Хапло-недостатъчност по гена за CD2-AP води до податливост към гломерулни заболявания /12, 212/. Разрушаването на архитектурата на подоцитните крачета, на взаимодействията на различните молекули, които ги изграждат, водят до отлепване от базалната мембрана или приплесването им и развитие на протеинурия. Типичен пример е болестта на минималните промени, при която този процес е обратим /273/, докато при ОСГСХ процесите не са напълно обратими /73/.

Следващия компонент на гломерулния филтър е базалната мембрана. Тя е съставена от 3 слоя – lamina rara interna , lamina rara externa и lamina densa, разположена между тях. Базалната мембрана се синтезира от подоцитите и еднотелните клетки /1, 200/. Съставена е основно от колаген тип 4, ламинин (има значение за поддържането на целостта на базалната мембрана и връзката ѝ с клетъчните структури на филтъра), ентактин/нидоген (обединява останалите структури на базалната мембрана), фибронектин (подобна функция), и протеогликани, съставени от кор протеин, свързан с хепарин сулфат, хондроитин сулфат или дерматан сулфат /1/. Смята се, че базалната мембрана има функция по-скоро на вискозен гел, отколкото на компонент с определени по местоположение пори /200/. Мембраната има отрицателен електричен заряд, дължащ се на сулфатирани глюкозаминогликани и освен филтър по размер на молекулите (3-4нм), служи до известна степен и като

електричен филтър /1, 40/. Днес се смята, че базалната мембрана допринася малко за селективността по отношение на електричния заряд на молекулите и ролята ѝ е свързана с основната част от резистентността на гломерулния филтър към водния поток и СГФ /40, 114/. Мутации в гена за колаген 4  $\alpha$ -5 веригата е причина за изява на синдрома на Алпорт, характеризиращ се с ламелираност, фрагментации на БМ и прогресивна гломерулосклероза, но рядко се изявява протеинурия /121/. Дефицитът на  $\beta$ 2 ламинин води до изява на фамилен нефротичен синдром с очни аномалии /283/.

Другият съществен компонент в селективността на филтрационната бариера са ендотелните клетки. Има съобщения, че те играят малка роля селективността на гломерулния филтър /237/, но след задълбочени изследвания върху структурата на фенестрите, гликокаликса и слоя гликопротеини на тези клетки се установява, че благодарение на нормалната им функция в циркулацията се задържат до 95% от протеините. Правилното формиране и функциониране на ендотелните клетки зависи от връзката им с подоцитите и базалната мембрана. Отделянето на VEGF-A от подоцитите е свързано с образуването на фенестри и правилната приплесната форма на ендотелната клетка. В проучване от 2007г Ballerman показва ефектите от блокране на действието на VEGF-A и TGF- $\beta$  сигналите и произлизащите от това протеинурия и намаляване на скоростта на гломерулна филтрация /30, 31/. Активацията на ендотелните клетки е съществен компонент на много имуно-медирирани заболявания на гломерула, а нарушенията в гликокаликса на ендотелните клетки водят до развитието на микороалбуминурия /156, 187/. Открити са и други съществени сигнални молекули, осъществяващи връзка между подоцитите и ендотелните клетки – stroma-cell derived factor 1 (SDF-1 или CXCL12), има отношение към нормалната гломерулогенеза, а прекомерно високите му нива се свързват с развитие на



типичен ХУС при деца /167/. Комплемент –медираната увреда на гломерулния ендотел води до изява на редица заболявания. Всичко това показва същественото значение на правилната ендотелна функция за запазване целостта на гломерулния филтър. Ендотелната дисфункция е обединяващ момент в патогенезата на редица състояние и заболявания, засягащи и бъбречната функция – хиперурикемия, АХ, системно възпаление, увреждания при ЗД. Албуминурията – осовният показател за ендотелна дисфункция в гломерула, е показател и за системна микроваскуларна дисфункция и това обяснява повишения сърдечно-съдов риск при пациенти с албуминурия.

Осигуряващи структурна поддръжка, регулиращи кръвния поток и ултрафилтрационната повърхност на гломерулните капилярите, както и обменните процеси на матрикса, мезангиалните клетки са последния компонент от изключително голямо значение за правилното функциониране на гломерулния филтър. Те осъществяват и почистваща функция на гломерулните капиляри – могат да осъществяват рецептор-независима пино- и фагоцитоза, както и рецептор- медирано захващане на различни молекули. Мезангиалните клетки експресират TGF- $\beta$ , важен за прогресията на бъбречните заболявания /145, 164/, както и рецептори за вазоактивни субстанции като AT2 /228/. Хемокини, образувани от мезангиалните клетки или подоцитите могат да реагират с рецепторите по повърхността на едните или другите клетки и да повлияят локалната миграция и връзката с базалната мембрана. В гломерула подоцитната увреда често е свързана с мезангиланоклетъчна пролиферация, а увреда в мезангиалните клетки води до отлепване на подоцитните крачета и протеинурия. Пролиферацията на мезангиалните клетки и разширението на мезангиалните оси са характеристики на много гломерулни заболявания като пролиферативни гломерулонефрити, диабетна гломерулосклероза /227/. В

комуникацията между мезангиалните клетки и ендотелните клетки основна роля играе PDGF-B и неговият рецептор – PDGF- $\beta$ , като в животински модел с мутация за липса на рецептор върху ендотелните или мезангиални клетки не е било възможно навлизането на мезангиалните клетки в капилярното клъбце и формирането на капилярните бримки на гломерула /92/. Всичко това говори за тясната и постоянна връзка между компонентите на гломерулния филтър, осигуряваща състава на уринния ултрафилтрат. Увредата на всеки от компонентите води до промяна в селективността на филтъра, както и до засягане на останалите структури.

Протеинурия – определение, методи за изследване, типове

Наличието на белтък в урината повече от 150мг/24ч се нарича протеинурия. В първите стадии на някои заболявания (диабетна нефропатия, хипертонична нефропатия) общото количество отделен белтък за 24ч може да бъде нормално, но да бъде повишено отделянето на албумин. Количество отделен албумин за 24ч между 30 и 300мг се определя като микроалбуминурия, количество над 300мг – макроалбуминурия. Тези граници за залегнали в препоръките на KDIGO за стадиране на ХБЗ и определят поведението и прогнозата при различния заболявания, засягащи и бъбрека. KDIGO още препоръчват използването на албумин/креатининов и протеин/креатининов индекс за първоначална диагноза на протеинурия, а терминът „микроалбуминурия“ да бъде заменен само с албуминурия като се определят границите ѝ в норма и патология. В граници на протеинурията до 2-2,5г/24ч обикновено липсват симптоми. Наличието на по-голямо количество отделен белтък (3-3,5г/24ч) се нарича нефротична протеинурия и протича със симптоми, обединени с определението нефротичен синдром. Обикновено

наличието на протеинурия е показател за наличие на бъбречно заболяване /104/. Изключение правят случаите на бенигна (изолирана) протеинурия. В тази група попадат така наречената функционална протеинурия (при фебрилитет, тежък физически труд, гърч, сърдечна недостатъчност; обикновено е под 0,5г/24ч, но може да достигне и до 5г/24ч (след маратон), идиопатичната транзиторна протеинурия, ортостатичната протеинурия (не надхвърля 2г/24ч, обикновено при подрастващи при стоене в изправено положение, липсва в първа утрешна урина, има нормален уринен седимент), и персистираща протеинурия /93, 276/. Всяка бенигна протеинурия изисква проследяване във времето заедно с уринен седимент, тъй като персистираща „физиологична“ протеинурия може да бъде изява на бъбречно заболяване. Добавянето на микроскопска хематурия към нискостепенна протеинурия трябва да насочи към подробно изследване и ПББ /93/.

Протеинурията може да се раздели още на селективна – при наличие на протеини с молекулно тегло до 70 хиляди Далтона (албумин, трансферин), и неселективна – при наличие на протеини с молекулно тегло над 150 хиляди Далтона (IgG, IgM). Определяне на селективността се извършва чрез изчисляване на съотношение IgG/албумин и  $\alpha$ 1 микроглобулин/албумин – при IgG/албумин  $<0,3$  и  $\alpha$ 1 микроглобулин/албумин  $<0,1$ , протеинурията се определя като селективна. Селективността има значение за определяне на прогнозата и в някои случаи- за изхода от терапията. При високоселективна протеинурия, увреждането на тубуло-интерстициума е много по-малко и прогнозата по-добра, а при ГНМП и ОСГСХ селективната протеинурия определя по-добър отговор към терапия /33, 112/.

Протеинурията може да бъде гломерулна, тубулна или да се дължи да прекалено голямото количество филтрирани белтъци поради повишеното им количество в плазмата. Гломерулна протеинурия се извява при промени в преселективните качества на гломерулната базална мембрана, като нарушение на гликокаликса, нарушение на базалната мембрана и подоцитите, или на хемодинамични фактори - при хиперфилтрация: АХ, ЗД, нефросклероза /17, 114, 203/. При тубулната протеинурия нарушенията в тубулите могат да бъдат вродени-, напр. Синдрома на Фанкони, или придобити - при остри и хронични увреди на тубуло-интерстициалното пространство, когато в урината се появяват нискомолекулни белтъци от тубулен произход –  $\beta$ 2-микроглобулин,  $\alpha$ 1 кисел протеин, лизозим. Дължи се на нарушена реабсорбция на филтрирани белтъци, както и на секреция на специфични тубулни протеини. Белтъците се секретират от клетки от различни части на нефрона и уринния тракт. Обикновено тубулната протеинурия не надвишава 2г/24ч /3/. Пререналната протеинурия (“overflow”), се дължи на поява в урината на абнормни количества на някой плазмен протеин, филтриран в гломерулите (overflow протеинурия), при липса на гломерулно или тубулно заболяване, напр. Bence-Johnes протеинурия, хемоглобинурия, миоглобинурия /3/.

Изследването на протеинурията е от съществено значение за диагнозата и проследяването на редица бъбречни заболявания /199/. Съществуват няколко метода за доказване на наличието на белтък в урината. Първият евтин, бърз и лесен метод е качествен - с помощта на тест-ленти се доказва наличието на протеини. Методът се основава на, т.нар. „грешка на индикатора“ - промяна в цвета на тест-лента, импрегнирана със сулфосалицилова киселина при реакцията ѝ основно с албумин в урината, като границата на откриване е 0,3г/л /199/. Тези ленти обаче имат ниска сензитивност по отношение на други

белтъци като тубулни протеини и леките вериги при ММ. Тест-лентите дават и полуколичествено определяне на протеинурията като 1+ албуминурия отговарят на 800мг/л, 2+ - на 1450мг/л, 3+ - на 3000мг/л, но съществуват широки вариации. Точното количествено определяне изисква методи, основаващи се на измерването на белтъка в 24 часова урина. Това е златният стандарт в определянето на количество отделен белтък в урината, като премахва разликите, дължащи се на циркадните промени. Той е най-точен метод и се използва при проследяване на пациентите и ефекта от провежданото лечение. Основава се на няколко типа техники -преципитационни методи (класическата биуретова проба), оцветяващи (пирогалол червено-молибдат) и имунотурбидиметрични методи (най-точни и с по-широк обхват в ниските стойности на протеинурията). Определянето на 24-протеинова екскреция също има своите недостатъци, дължащи се на грешки при събирането на урината (събирана по-малко или повече урина), не е удобен за амбулаторната практика. Добра алтернатива е определянето на албумин-креатининов и протеин-креатининов индекс. Стойностите в граници на нормата са под 2,5мг/ммол за мъже и под 3,5мг/ммол за жени за АКИ и <15мг/ммол за ПКИ. Тези методи са удобни, но се установява не достатъчно добра корелация с количеството отделен протеин при ниски стойности на протеинурията /139/, не е достатъчно изследвана надеждността им при проследяване на пациентите в хода на лечение /93/. Наличието на повишени стойности на АПИ и ПКИ трябва да се потвърди с провеждане на 24 часова колекция на урина за изследване на протеинурия. Специфични методи за изследване на белтък в урината като електрофорезата и имунофиксация се използват за откриване на моноклонални леки вериги, разпределяне на протеините по молекулно тегло за определяне на селективността на протеинурията, откриване на специфични протеини с

прогностично значение (neutrophil gelatinase- associated lipocalin (NGAL), N-acetyl  $\beta$ -D-glucosaminidase (NAG)) /162/.

Значението на протеинурията в нативните бъбреци не е само като маркер на бъбречно заболяване. Доказана е връзката между протеинурията, прогресията на бъбречното заболяване, общата и сърдечно-съдова заболяемост и смъртност /26, 62, 104/. Масивната гломерулна протеинурия води до бърза прогресия на бъбречната недостатъчност, независимо от тежестта на първичното заболяване /125, 212/. В проучване на италиански автори е доказано ,че при протеинурия по-голяма от 3,8г/24ч рискът от прогресия до ТХБН за 23 месеца е 32,9%, а при протеинурия под 1,9 г/24ч рискът е само 4,3% /84, 104, 211/. Съществува връзка между протеинурията, интерстициалното възпаление и фиброзата, като повишаването на протеинурията с 1г/24ч увеличава риска за тубулна атрофия с около 40% /84/. Все още има много неизяснени въпроси относно точния механизъм, по който филтрираните белтъци причиняват тубулна увреда /168/. Един възможен механизъм е проинфламаторният ефект на белтъците в урината чрез индукция на експресията на хемокини и адхезионни молекули от тубулните клетки – в изследване на тъканни култури от тубулни клетки на проксималния тубул, изложени на различни концентрации белтък (албумин, трансферин, липопротеини, компоненти на комплемента и други плазмени белтъци), те синтезират моноцит-хемоатрактантен протеин 1 (MCP-1), RANTES, фракталкин, които имат хемоатрактантен ефект и могат да привличат клетки на възпалението /10, 48, 84, 168/. Фракталкинът има и мембранно свързана форма и спомага за адхезията на мононуклеарните клетки по интегрин независим механизъм - чрез рецептор CX3CR1. Има изследвания и за директен токсичен ефект на албумина върху тубулните клетки, както и стимулиране на апоптозата

по дозо- и времево зависим начин. Някои други проучвания съобщават, че не самият албумин, а свързаните с него компоненти имат увреждащ ефект. Проучвани са липидни метаболити, активиращи каскади вътреклетъчно в тубулните клетки с резултат стимулиране на деленето. В проспективно проучване при пациенти с проведена ПББ при ХБЗ е установено, че високите нива на албуминурия, уринния MCP-1 и интерстициалните макрофаги предвиждат удвояване на серумния креатинин и/или ХБЗ 5 степен /82/. Активирането на комплемента води до цитотоксичен, проинфламаторен и фиброгенен ефект. Активирането става по алтернативния път в проксималните тубулни клетки с фиксация на C5b-9 върху клетъчната повърхност, промени в цитоскелета, продукция на супероксидни аниони, водороден пероксид и цитокини (IL-6, TNF  $\alpha$ ). Факторите на комплемента могат да бъдат филтрирани в гломерулите или да бъдат синтезирани на място от тубулните епителни клетки. В интерстициума миофибробластите произвеждат матриксна субстанция, а активираните макрофаги отделят TGF- $\beta$ , за който е доказано че има силно изразен профиброзен ефект и е главен стимул за епително-мезенхимната трансформация на тубулните епителни клетки /84, 281/. Освен хроничното възпаление, роля за увредата играят вероятно и белтъчните цилиндри, които се образуват в тубулите и причиняват механична им увреда. Ультрафилтрацията на цитокини и растежни фактори води до секреция на колаген тип I и IV, MCP-1, RANTES. Въпреки, че в много случаи първичната увреда е в гломерулите, промените в тубулите и интерстициума водят до развитие на фиброза и напредване на хроничното бъбречно заболяване до терминална недостатъчност /257/. В публикация от 2003г Timothy Meyer предлага обобщена схема на механизмите на тубулна увреда при протеинурия /168/:

Обструкция на тубулния лумен от белтъчни отливки

Облитерация на началото на проксималния тубул от адхезии в гломерула

Ефекти на филтрираните макромолекули върху тубулните клетки

Действие на протеини със специфични тубулни рецептори (напр. растежни фактори)

Увреждане в резултат на „ексцесивна“ ендоцитоза на филтрираните плазмени протеини

Токсични ефекти на молекули, свързани с плазмените протеини (напр липиди)

Токсични ефекти на хема

## Албуминурия

Отделно значение се отдава на албуминурията в границите 30-299мг/24ч като ранен признак и фактор за прогресия на ХБЗ и повишена обща и сърдечно-съдова смъртност при пациенти с или без загарен диабет /21, 26, 102/. Появата на албумин в урината се смята за изява на ендотелна увреда, като в някои проучвания са доказани и повишени нива на С-реактивния протеин, TNF-а и IL-6, свързани с появата и прогресията на албуминурията. Албуминурията е маркер за повишен риск от сърдечно-съдови инциденти при пациенти със ЗД, АХ и в общата популация /274/. При ЗД откриването на албуминурия в границите 30-299 мг/24ч маркира фазата, в която гломерулната хиперфилтрация се измества към фаза на прогресивна загуба на бъбречна функция /235/. Заедно с повишеното диастолно налягане, лошият липиден контрол, албуминурията е независим фактор за лоша прогноза /36, 260/. Намалването на албуминурията при ЗД може да забави прогресията към диабетна нефропатия, а също да намали с 50% кардиоваскуларния риск /161/. В проучване Cotter et al доказват, че при пациенти с АХ рискът от развитие на



албуминурия нараства с 5,3% за всеки 2mmHg повишаване на систолното артериално налягане , както и с 10,5% при повишаване на общия холестерол с 0,3ммол/л над горната граница /66/. Дори стойности под долната граница за албуминурия могат да бъдат свързани с повишен сърдечно-съдов риск /66/. Добрият контрол на АН с прилагане на първо място на медикаменти от групата на ACEi/ARB, прилагането на статини, добрият гликемичен контрол при пациенти със ЗД, контролът на телесното тегло, ограничаване на приема на готварска сол намаляват уринната албуминова екскреция, забавят прогресията на ХБЗ и намаляват сърдечно-съдовия риск, като тези мерки трябва да се вземат и при нормоалбуминурични пациенти с повишен риск /264, 274/.

Най-честата причина за гломерулна протеинурия и ТХБН при възрастни е захарният диабет. Разгърнатата диабетна нефропатия или макроалбуминурия се развива около 10-15 години след началото на ЗД тип I , но при тип II може да се презентира към момента на поставяне на диагнозата. При захарен диабет тип I след развитие на нефропатия пациентите в 50 % достигат ТХБН след 10 години и в 75% след 20 години, докато при тип II около 20% развиват ТХБН. Съчетанието на ЗД с ТХБН многократно повишава риска от сърдечно-съдови инциденти /3/.

Освен ЗД, най-чести системни заболявания, водещи до нефрозен синдром са системният лупус, както и други колагенози, първична или вторична амилоидоза. От първичните гломерулопатии - мембранозна нефропатия (30-40%), идиопатичен нефрозен синдром (ОСГСХ 20-30%, болест на минималните изменения се открива в около 15%), мезангиопролиферативен ГН в 10-20%. Нефрозен синдром може да бъде изява на малигнено заболяване в рамките на паранеопластичния синдром и еволюцията му обикновено е във връзка с

еволюцията на малигненото заболяване. Етиологията му се свързва с множество имунологични процеси и отделянето на цитокини, разстежни фактори, туморни антигени и др. При наличие на съмнение за засягане на бъбрека се препоръчва провеждане на бъбречна биопсия, като най-честите варианти на бъбречно засягане са мембранозен ГН – особено при белодробни и гастро-интестинални аденокарциноми, болест на минималните промени- често при хематологични малигнени заболявания, и мембранопрлиферативен ГН. В направени проучвания се препоръчва изключване на малигнено заболяване при наличие на нефрозен синдром при пациенти над 60 годишна възраст /28, 41, 268/. Чести вторични причини за изява на нефрозен синдром са бактериални, вирусни (особено хепатит С), протозойни и хелминтни инфекции, употреба на медикаменти (вкл. наркотици) /3/.

По-ниска персистираща протеинурия може да бъде изява както на тубулно, така и на големрулно увреждане от системно заболяване или начални етапи на диабетна нефропатия. При гломерулните заболявания ниската протеинурия може да бъде белег за ремисия или индолентен ход, но заболяването може и бързо да прогресира при наличие на провокиращ фактор. Тубулна протеинурия най-често причиняват хроничен пиелонефрит, подагрозна нефропатия, както и напреднали етапи на множество заболявания, отразяващо напредване на интерстициалната фиброза и тубулна атрофия.

### ХБЗ

При наличие на тежка протеинурия (в нефротични граници) често има и нарушаване на бъбречната функция. Хроничното бъбречно заболяване се определя като „нарушения в бъбречната структура или функция за повече от 3 месеца, с последствия, значими за здравето; класификацията на ХБЗ се

основава на причината, намалението на скоростта на гломерулна филтрация и албуминурията“ /61/. Хроничното бъбречно заболяване протича в пет степени, отграничени според намаляването на скоростта на гломерулна филтрация, определена чрез клирънса на креатинина – ХБЗ 1 при ИГФ над 90 мл/мин/1,73м<sup>2</sup>, ХБЗ 2- ИГФ 60-89 мл/мин/1,73м<sup>2</sup>, ХБЗ 3а-45-59 мл/мин/1,73м<sup>2</sup>, 3б- 30-44 мл/мин/1,73м<sup>2</sup>, ХБЗ 4 – 15-29 мл/мин/1,73м<sup>2</sup>, ХБЗ 5 – под 15 мл/мин/1,73м<sup>2</sup>. Албуминурията се разделя в три степени – под 30мг, между 30-300мг и над 300мг за 24ч /61/. Имайки предвид множеството функции, които осъществяват бъбреците, намаляването или пълното отпадане на тяхната функция водят до отклонения във вътрешната среда на организма, които са несъвместими с живота, ако не се започне бъбречно заместващо лечение.

Пациент, достигнал 4 степен хронично бъбречно заболяване или изчислена гломерулна филтрация под 30мл/мин/1,73м<sup>2</sup>, трябва да започне подготовка за бъбречно заместващо лечение. Изборът на метод на заместващо лечение е комплексен и зависи от възможностите на здравната система, желанието на пациента, общото му състояние, придружаващите заболявания, набор клинични и лабораторни изследвания, които да помогнат на лекаря и пациента да изберат най-подходящия метод /11, 271/. В България през 1962 година започва прилагането на хемодиализата като рутинен метод за бъбречно заместващо лечение, през 1969г е осъществена първата успешна трансплантация на възрастен, а от 1984г започва прилагането и на перитонеална диализа. От трите метода бъбречната трансплантация предлага статистически значимо по-ниска смъртност и сърдечносъдови инциденти, както и значимо по-високо качество на живот от хемодиализата и перитонеалната диализа /258/. UK Renal Association 2014 препоръчват да бъде направено

всичко възможно за извършване на бъбречна трансплантация преди започване на диализно лечение /271/.

Същността на бъбречната трансплантация се състои в оперативното отстраняване на графта от донор и присаждането му в тялото на реципиент с терминална бъбречна недостатъчност. Донорът може да бъде трупен – със или без сърдечна дейност, и жив – родствен или неродствен. От 2004г условията и реда за трансплантация на тъкани, органи и клетки в България са установени със закон, Министерът на здравеопазването провежда държавната политика за трансплантациите, а основен орган за управление, координация и контрол е Изпълнителната агенция по трансплантации.

В света първата успешна трансплантация е извършена през 1954г в САЩ между близнаци /95/. В България първата успешна органна трансплантация е бъбречна и е извършена през 1968г в института за спешна помощ „Пирогов“ на дете, проведена от проф. Минков, а през 1969г е първата успешна трансплантация на възрастен в УМБАЛ „Александровска“ от проф. Никола Атанасов и проф. Стоян Ламбрев /3/.

Бъбречно трансплантираният пациент, дори с нормални серумни нива на креатинин и изчислена скорост на гломерулна филтрация  $>90$ мл/мин, е пациент с хронично бъбречно заболяване /35, 61, 9/. Трансплантираният бъбрек може да бъде засегнат от почти всички заболявания, засягащи нативните бъбреци (изключение правят някои генетични заболявания). Един от основните маркери за бъбречно заболяване – протеинурията, е често наблюдавано усложнение след бъбречна трансплантация, като в първата година различни автори съобщават за честота между 11 и 45% /20/. Има разлика в съобщаваната честота, която се дължи на различия в определението на границата на

протеинурия – честотата е по-ниска при съобщаване на случаи с протеинурия над 1г/24ч и достига почти 50%, когато за граница на нормата се приеме 150мг/24ч (както е при нативните пациенти). Изследването за протеинурия при трансплантирани пациенти се основава на същите методи, както при нативни пациенти, като границите, приети за физиологични, са залегнали и в препоръките на KDIGO за проследяване на БТ пациенти /9/. От препоръките на KDIGO се посочва използването на същите граници поради липса на специфични данни и поради това, че малки количества протеинурия са свързани с по-лоша прогноза за пациента и графта. Използването на АКИ и ПКИ все повече навлизат в практиката поради удобството им за скрининг и проследяване /192, 246, 256/. Наличието на абнормни резултати трябва да бъде потвърдено с 24-часова протеинурия /14/. Когато протеинурията се открие за първи път трябва да бъдат изключени фактори за появата ѝ като инфекция на пикочните пътища, висока температура, консумация на богата на протеини храна, голямо физическо натоварване, неконтролирана АХ и особено при хипертонична криза. В тези случаи се говори за интермитентна протеинурия, която обикновена е нискостепенна (под 1г/24ч) и отзвучава с овладяване на състоянието /6/. При изключване на тези фактори и нарастване на протеинурията до 0,5-1г/24ч се препоръчва провеждане на ПББ за уточняване на причината и преценка на поведението /201/. Препоръките на KDIGO включват редовно проследяване на протеинурията след провеждане на БТ – поне веднъж в първия месец, през три месеца за първата година, след което веднъж годишно, ако няма усложнения. При основно заболяване ОСГСХ проследяването е първо ежедневно за 1 седмица, след което веднъж седмично за 4 седмици, след което се продължава по утвърдената схема за всички трансплантирани пациенти /9/.

Честотата на протеинурията не се различава съществено при трансплантация от жив родствен или трупен донор /249/. В проучване на Halimi J.M. от 2013 се съобщава за повишаване на честотата на протеинурията при трансплантирани пациенти през последните години /107/. Като възможни причини се посочват изборът на по-възрастни (гранични) донори и реципиенти и свързаните с това по-високи сърдечно-съдови и метаболитни рискове.

Дали протеинурията причинява увреда в бъбречния трансплантат по същия механизъм както и в нативните бъбреци, е въпрос на който все още се търси отговор. Вероятно протичат същите процеси, но допълнително усложнени от имунологични механизми, специфични за алографта – големрулопатия, остра и хронична реакция на отхвърляне. Както при нативни бъбреци при трансплантиран орган основна роля играе стимулирането на комплемента – интрагломерулното отлагане на C3 е свързано с тежестта на протеинурията, а тежестта на интерстициалното възпаление е независим рисков фактор за загуба на графта. Произлизащи от донора C3 и несистемни C3 на реципиента са в основата на увредата от исхемия-реперфузия, като се разработват нови медикаменти, блокиращи комплемента с цел повлияване именно на тази увреда /285/. Комплементната каскада има отношение и към регулацията на Т-клетъчния имунитет. Взаимодействието на Т-клетките с антиген-представящи клетки е свързано с отделяне на C3, fB, fD, C5 и C5aR (рецептор). Костимули намаляват разграждащите комплемента фактори /278/. Локално секретирани C3a и C5a се свързват към рецепторите като авто- и паракринни стимулатори на Т-клетките и антигенпредставящите клетки. Повишаването на антиапоптозните протеини Bcl2, намаляването на проапоптозните Fas има за резултат увеличена Т-клетъчна пролиферация и намалена Т-клетъчна апоптоза. Активацията на комплемента води до отделяне на IL-12, IL-23 и

костимулиращи молекули CD80 CD86 от активираните дендритни клетки и макрофаги. Компонентите на комплемента са съществен медиатор за взаимодействието на Т-хелперите с цитотоксичните CD8+ Т-клетки и стимулиране на реакция за отхвърляне. Свързването с рецептори по повърхността на регулаторните Т-лимфоцити води до потискане на функцията им, която е съществена за индуциране на имунологична толерантност и дългосрочен успех на трансплантацията /68/. Разработването на нови медикаменти, насочени към компоненти на комплемента може да доведе до удължаване живота на бъбречния графт, успешна терапия при Т-клетъчно медирана реакция на отхвърляне и минимизиране на CNIs и нефротоксичността, която те причиняват.

#### Причини за протеинурията след бъбречна трансплантация

Причините за протеинурия при трансплантирани пациенти са разнообразни и могат да се проявят в различен период след трансплантацията. Протеинурията може да се дължи на имунни (гломерулопатия на графта, реакция на отхвърляне, да е рецидив на основното заболяване, de novo ГН) или неимунни фактори (увреда от исхемия-реперфузия, да произлиза от нативните бъбреци, лечение с mTOR инхибитори, CNIs токсичност, несъответствие между нуждите на реципиента и графта) /249/. Протеинурията може да се изяви рано след бъбречната трансплантация (до 6 месеца) или късно (след първата година), да бъде интермитентна или персистираща. Ранна масивна протеинурия след трансплантацията може да се дължи на увреда на графта преди или след бъбречната трансплантация, да бъде отражение на персистираща функция на собствените бъбреци и да произлиза от тях. При първично заболяване ОСГСХ може да се очаква ранен рецидив в бъбречния трансплантат. Ранната

протеинурия е изява и на гломерулопатия на трансплантата, както и предиктор за развитие на захарен диабет след БТ /107, 208/. Късна персистираща протеинурия (след 1вата година) най-често се дължи на хронични увреди на графта, рецидив на гломерулонефрит, токсичност на имunosупресивните медикаменти /79/.

Най-общо протеинурията може да бъде разделена на 2 типа – дължаща се на нарушена реабсорбция в проксималния тубул и такава, която се дължи на повишено преминаване на протеини през гломерулния филтър. Най-често първият тип протеинурия е нискостепенна до 1000мг/24ч и засяга протеини с ниско молекулно тегло като ретинол-свързващ протеин (21кД) ,  $\beta$ 2-микроглобулин (12кД). Чести причини за нискостепенна протеинурия са остра реакция на отхвърляне, увреждане от исхемия-реперфузия, нефротоксични медикаменти, хронична CNIs токсичност. Гломерулната протеинурия от друга страна, е свързана с отделяне на албумин и белтъци с високо молекулно тегло – като ИгГ (150кД), обикновено е повече от 1500мг/24ч и се дължи на гломерулопатия на графта, рецидив или *de novo* гломерулонефрит, mTOR инх и др. /39, 169/. Дълго време се е смятало, че нискостепенната протеинурия (<1000мг/24ч) няма съществено значение за дългосрочната прогноза за функцията на графта. Днес се знае, че протеинурията на 1ви и 3ти месец след трансплантацията, особено нискостепенна, е предиктор за загуба на графта, независим от хистологичната находка и функцията /108, 123/. Протеинурията има отрицателен ефект както върху преживяемостта на графта, така и върху тази на пациента, като при сравняване на пациенти с и без протеинурия този ефект е независим от основното заболяване, довело до изявата ѝ. В проучване от 2001г Roodnat et al. доказват, че рискът от смърт при пациенти с протеинурия



на първата година е почти два пъти по-голям от този при апротеинурични пациенти /209/.

#### Отложена функция на графта

Отложена функция на графта се дефинира като необходимост от хемодиализа в първата седмица след БТ. Тя е проявление на ОБУ в бъбречния трансплантат, свързана е с намалена преживяемост на графта в дългосрочен план и може да се усложни с остра реакция на отхвърляне и хронична нефропатия на БТ. В литературата се съобщава честота между 21,3-37,4 %. В метаанализ на 34 проучвания от 1988 до 2007 година се правят изводите, че пациентите, развили отложена функция на графта имат 49% обща честота на остра реакция на отхвърляне, сравнено с 35% при пациентите без отложена функция на графта /279/. Отложената функция на графта може да се дължи на причини, произлизащи от графта преди трансплантацията– исхемия, възпалителен отговор, или след трансплантацията – реперфузия, реакция от вродения или придобит имунитет.

#### Исхемия-реперфузия

Протеинурията при този тип увреда обикновено бързо намалява, като в първите дни е неселективна и се дължи на гломерулна увреда, след което е предимно нискостепенна и е от тубулен произход /25/. Промените не се съпровождат от видими увреди в ГБМ, подоцитите или ендотелните клетки, което обединява различни автори около становището, че се касае за увреда на повърхностния слой от ГАГ и протеогликани на ендотела. Увредата предизвиква специфичен възпалителен отговор в графта, активиране на вродения и придобит имунитет и програмите за клетъчна смърт. Дългосрочните

негативни ефекти върху графта са свързани и с установените фибротични промени в графта и епително-мезенхимна трансформация, предизвикани от компоненти на комплементната каскада /221/.

#### Протеинурия от нативните бъбреци

Все по-големи усилия се полагат за извършване на бъбречна трансплантация преди започване на диализно лечение или малко след това поради доказаното отрицателно въздействие на времето, прекарано на диализа върху преживяемостта на графта и пациента /165/. Това води до все по-често трансплантиране на пациенти с голяма остатъчна диуреза и протеинурия от нативните бъбреци. След трансплантацията при такива пациенти се установява протеинурия, която не се дължи на патология на графта. Обикновено този тип протеинурия намалява бързо след трансплантацията и като правило не е масивна (около 0,5г/24ч) /76/. Myslak, Amer et al правят проучване на 115 трансплантирани пациенти с протеинурия от нативните бъбреци и ги проследяват поне 1 година след БТ. В проучването на Myslak и Amer дори пациенти с масивна протеинурия при бъбречна амилоидоза са показали спад на протеинурията <1500мг/24ч след 3 седмици пост-трансплантационно /179/. От проведените проучвания и обзори са направени изводите, че при нормално функциониращ графт наличието на протеинурия над 3000мг/24ч или увеличение с повече от 500мг/24ч на 3та седмица след трансплантацията, както и наличието на протеинурия повече от 1500мг/24ч 1 година след трансплантацията насочват към гломерулно увреждане на графта /179, 249/. Бързото намаляване на протеинурията от нативните бъбреци след БТ се обяснява с бързия спад на бъбречния кръвоток и ГФ в тях. Това е демонстрирано в проучване през 2005 г от D'Cunha, Parasuraman et al, които

правят сцинтиграфии 1 седмица преди БТ и 3 седмици след нея. На сцинтиграфиите ясно личи намаленото натрупване на радионуклида в нативните бъбреци и натрупването му в добре функциониращия графт /76/. В друго проучване Suarez-Fernandes et al правят наблюдение, че протеинурията от собствените бъбреци може да се задържи в по-високи граници при лоша функция на графта, поради запазване на по-висока ГФ в нативните бъбреци /249/. Диференциалната диагноза между протеинурията от нативните бъбреци и графта може да бъде трудна. В контролни биопсии са описани нормален хистологичен вид на гломерулите, но наличие на резорбирани протеинови инклузии в тубулните клетки, говорещи за протеинурия от графта, въпреки липсата на гломерулна патология в биопсичния материал /179/. Това налага стриктното проследване на тези пациенти и своевременно диагностично уточняване при персистиране на протеинурията в граници над 1500мг/24ч.

#### mTOR инхибитори

Друга причина за новопоявила се или влошаване на съществуваща протеинурията при трансплантирани пациенти е имunosупресивен режим, включващ mTOR инхибитори. mTOR инхибиторите са сравнително нов клас имunosупресори, разработени с надеждата, че ще заместят CNIs поради липсата на нефротоксичност. mTOR инхибиторите обаче проявяват редица странични ефекти (хиперлипемия, тромбоцитопения, левкопения, анемия, влошено зарастване на рани, забавят възстановяването след остра тубулна некроза, могат да причинят тромботична микроангиопатия), което до известна степен ограничава приложението им /172/. Един от страничните ефекти е появата на протеинурия или влошаването на съществуваща вече такава.

mTOR инхибиторите- sirolimus (rapamycin) и everolimus (представлява производно на sirolimus) се свързват с имунофилин FKBP12, като по този начин блокират киназа, наречена mammalian target of rapamycin (mTOR). Тази киназа е важна за транслацията на матрична RNA на определени протеини, необходими за прогресията на фаза G1 в S от клетъчния цикъл. Блокират се някои пострецепторни имунни отговори, както и IL-2 и IL-4 зависимата пролиферация на Т и В клетките. Блокира се пролиферацията и на някои други клетки в организма като фибробласти, ендотелни клетки, хепатоцити и гладко-мускулни клетки (блокират се растежните им фактори- BFGF, PDGF, VEGF, TGF- $\beta$ ). mTOR инхибиторите намаляват честотата на малигнени заболявания, а при развитие на малигнено заболяване промяна в имunosупресивния режим към mTOR инхибитор може да доведе до подобряване на хистологичната находка, забавяне на прогресията и дори до регресия на малигненото заболяване /16, 99, 130, 172/. Everolimus, разработен като част от режимите за предпазване от отхвърляне при органна трансплантация, сега е одобрен препарат в онкологичната практика /146/. Особено внимание заслужава използването му в лечение на бъбречно клетъчния карцином и туберозната склероза /132, 137/. Като част от режимите в практиката при бъбречна трансплантация се посочват добри резултати по отношение на преживяемостта на графта и бъбречната функция при едновременната употреба с ниски дози CsA /55/.

В проспективно проучване от 2005г Vumbea, Kamar et al. изучават дългосрочната ефективност и сигурност при преминаване от лечение със CNI поради нефротоксичност, доказана биопсично, към лечение с mTOR инхибитор – сиролимус /49/. Промяната на лечението е рязка или постепенна и пациентите се проследяват на 0, 1, 6 месец, 1г, 1,5г и 2г след промяната. В проучването се доказва подобряване на бъбречната функция (чрез изчислена СГФ), но при

33% от пациентите се развива високостепенна протеинурия. Авторите установяват, че мажду първия и шестия месец няма значима разлика в количеството на протеинурията, но след шестия месец 28% развиват протеинурия по-голяма от 1г/24ч, 5ма развиват нефротична протеинурия с влошаване на бъбречната функция. При тези пациенти е проведена ПББ и е доказано развитието на de novo ОСГСХ. От проучването на Bumbea, Kamar et al. авторите правят изводи за наличието на 3 основни фактора за положителен ефект след промяна на лечението от CNI към mTOR инхибитор – липса на протеинурия, употреба на антихипертензивна терапия преди промяната в лечението (по възможност ACE/ARB) и нивото на LDH един месец след промяната.

Diekmann et al съобщават, че единственият и независим фактор за положителен резултат след промяна в лечението от CNI към mTOR инхибитор при хронична дисфункция на графта е протеинурия <800мг/24ч /78/. В по-ново проучване от 2014 , проведено в Германия се установява, че по-лоша прогноза има дори при протеинурия между 300-500мг/24ч, а за новопоявила се протеинурия рисков фактор е протеинурия по-голяма от 71мг/л. За пръв път се доказва връзка между тази ниска протеинурия, риска от поява на протеинурия при прехвърлянето към mTOR инхибитор и влошена преживяемост на графта /181/. В проучване от 2009г, обхващащо 555 пациента, прехвърлени от лечение с CNIs към sirolimus са направени изводите, че при клирънс на креатинина над 40мл/мин и протеин/креатининов индекс равен или по-малък от 11мг/ммол пациентите имат по-добра бъбречна функция от тези, които са продължили терапия с CNIs /225/. В проучване от 2013г отново пациентите, показали най-добри резултати след прехвърлянето от лечение със CNI към SRL са били с протеинурия под 500мг/24ч /124/.

Има известно разминаване във вижданията за времето на поява на протеинурията след преминаване на лечение с mTOR инхибитор. Според едни автори изявата е около шестия месец след промяната на лечението /49/. Според други автори протеинурия над 1 г/24ч се наблюдава по-малко от 3 месеца след промяната /149/. При de novo лечение с mTOR инхибитор изява на протеинурията отново се наблюдава след няколко месеца. Наблюдавано е постепенно покачване на протеинурията до 24 месец след промяна на лечението или започване de novo.

Положени са много усилия и многобройни проучвания за изясняване на механизма, по който mTOR инхибиторите причиняват протеинурия. Първоначалните виждания за произхода на протеинурията при промяна на имunosупресивния режим от лечение със CNIs към mTOR инхибитор са, че това може да се дължи на премахване на антипротеинуричните ефекти на CNIs или на налична хронична нефропатия на графта. След промяна в лечението е доказано увеличаване на интрагломерулното налягане и хиперфилтрация, която от части може да обясни протеинурията /224/. Това отчасти може да се избегне при комбинация от mTORi и CNIs. По-късни и задълбочени проучвания при първично лечение с mTOR инхибитори показват няколко възможни механизма на увреда. Предлага се тубулно нарушение с намалена резорбция на албумин в проксималния тубул /247/. Описан е случай на поява на протеинурия рано след БТ при започване на лечение със sirolimus. На светлинна микроскопия липсват гломерулни увреди, а в клетките на проксималния тубул не се открива реабсорбиран албумин /247/. В това проучване не се обяснява обаче достатъчно ясно наличието на високомолекулни белтъци в урината, а в по-късни проучвания е изказано становище, че сиролимус не намалява рецептор-медираната ендоцитоза в

проксималните тубули /177/. В други проучвания е доказано, че mTOR инхибиторите директно повлияват филтрацията на протеини в гломерулите и особено в подоцитите /249, 267/. Сиролимус намалява експресията на протеини, съставлящи слит-диафрагмата. Установена е намалена експресия на нефрин в тъканни култури на подоцити, намаление на експресията на асоциирани със слит-диафрагмата протеини подоцин, CD2AP, актинин 4 /37, 244/. Letavernier предполага, че това може да е свързано с кръвните нива на сиролимус /150/. В проучванията си той съобщава причинена от mTOR инхибиторите de novo ОСГСХ. Развитие на ОСГСХ се наблюдава и при преминаване от лечение с CNIs, като в този случай склеротичните лезии са по-силно застъпени. Letavernier доказва, че в лезиите, характерни за ОСГСХ има дедиференциация на подоцитите с намаление или липса на подоцит-специфични епитопи – синаптоподин и p57, а се наблюдава експресия на цитокератин и PAX2, характерни за незрял фетален фенотип (загубата на експресията на тези молекули настъпва в специфични етапи на феталното развитие). Други автори доказват, че само намалената нефринова експресия не е достатъчна за развитие на протеинурия и вероятно се намесват генетични фактори, а също и по-високи серумни нива на сиролимус /37, 44/. Доказано е, че в лезиите при ОСГСХ, причинена от сиролимус, а също и в тъканни култури на подоцити има намаление на синтезата на VEGF, който е важен за преживяемостта на подоцитите и ендотелните клетки. Сиролимус намалява и фосфорилацията на Akt, част от каскада, важна за диференциацията, адхезията и организацията на цитоскелета на епителните клетки /151/. Наблюдавано е влошаване на протеинурията и гломерулната патология при пациенти с рецидив на основно заболяване (най-често IgA ГН) и преминаване

на лечение със сиролимус, както и изява на протеинурия при субклинично протичане на рецидива /20, 249/.

mTOR инхибиторите обаче показват двойствен ефект върху протеинурията. Блокирането на комплекса mTORC1 от everolimus има протективна роля и предпазва от развитието на протеинурия при модел на болест на минималните промени /126/. mTOR инхибиторите блокират mTORC1 сигнален път в подоцитите, който при абнормна активация води до поява на диабетна нефропатия, което предполага, че тези медикаменти могат да имат протективна роля при пациенти с диабет /152, 153/. При *in vivo* експериментален модел за хронична хиперфилтрация и възпаление, постигнат чрез намалена нефронна маса, гаратусип възстановява експресията на нефрин, както и намалява ултраструктурните промени в гломерулите и протеинурията /259/. Нефропротективния ефект на sirolimus е показан и в експериментален модел на мембранозна нефропатия, където отново протеинурията намалява, възстановява се експресията на нефрин и подоцин /248/.

От направените проучвания и изследвания става ясно, че ролята на mTOR инхибиторите за развитието на протеинурия не е еднозначна. По-строгите критерии при започване на лечение и подбор на пациентите са довели до по-добра поносимост на лечението и изместване на възрастовия диапазон на популацията. Това от една страна се дължи на провеждането на трансплантация при по-възрастни пациенти, както и на проучванията за антитуморния ефект на mTORi и употребата им при пациенти, развили такива усложнения. Строго проследяване на протеинурията е необходимо при всички пациенти, лекувани с mTOR инхибитор. Предвид сериозния отрицателен ефект на протеинурията върху преживяемостта на графта и пациента, развитието на



това усложнение може да наложи прекъсване на лечението с mTOR инхибитор, включването на CNIs и ACEi/ARB, както и стриктно проследяване на състоянието на пациента.

## CNIs

Друг специфичен за трансплантираните пациенти увреждащ фактор са калциневриновите инхибитори – cyclosporine A и tacrolimus. Свързвайки се с цитоплазмени имунофилини те инхибират калциневрин – калмодулин-активирана серинфосфатаза, важна за дефосфорилацията на неактивния ядрен фактор на активираните Т-клетките (NF-AT). Този фактор осъществява действието си в клетъчното ядро и отключва верига процеси, водещи до Т-клетъчна активация [160]. Въвеждането на калциневриновите инхибитори в имunosупресивната практика води до драстично намаляване на честотата на острите реакции на отхвърляне, подобрена преживяемост на пациентите и трансплантата и е основата на съвременните успехи в трансплантологията. Блокирането на калциневрин освен до блокиране на NF-AT причинява дисрегулация в активността и на други субстрати, което е предпоставка за страничните ефекти на калциневриновите инхибитори. Наред с артериална хипертония, хиперлипидемия, развитие на захарен диабет, хиперурикемия, основният им недостатък е нефротоксичността. Те причиняват повишено освобождаване на трансформация растежен фактор  $-\beta$  (TGF- $\beta$ ), което води до повишено натрупване на матриксни протеини и тъканна фиброза. Имат директен вазоактивен ефект, причиняващ вазоконстрикция, както и повишаване на активността на RAS системата, ендотелин, тромбоксан и симпатикусовата NS. Наред с това намаляват активността на вазодилаторни субстанции като тромбоксан E2, азотен оксид. Това води до обратим хемодинамичен ефект

върху бъбречните съдове. Необратими обаче са хиалинозата на аферентните артериоли и тубулоинтерстициалната фиброза. CNIs причиняват директен токсичен ефект върху тубулните епителни клетки с развитие на вакуолизация, както и активация на апоптозни гени, водещи до повишена апоптоза на тубулни и интерстициални клетки с развитие на тубулна атрофия /180/. Нефротоксичността на калциневриновите инхибитори е свързана с влошена дългосрочна преживяемост на графта /163/. Хроничната увреда води до развитие на нискостепенна протеинурия с тубулен произход, но гломерулите също могат да бъдат засегнати. Доказано е развитието на ОСГСХ, свързана с прилагането на CNIs, като развитието на протеинурия над 2г/24ч води до бърза загуба на графта /175/. Въпреки големите надежди за избягване на CNIs с въвеждането на mTOR инхибиторите, на този етап CNIs превъзхождат останалите имunosупресори по отношение на честота на остри реакции на отхвърляне и преживяемост на пациентите. Преди въвеждането на друг клас медикаменти с доказан сигурен профил на ефикасност и безопасност, за намаляване на нефротоксичността остава единствено опит за избягване или минимизирането на CNIs в различни имunosупресивни протоколи.

Гломерулна протеинурия при рецидив, de novo гломерулонефрит и гломерулопатия на трансплантата

De novo протеинурия с гломерулен произход при трансплантирани пациенти може да се дължи на рецидив на гломерулонефрит, de novo развитие на гломерулонефрит, гломерулопатия на графта като резултат от анти тяло-медирана реакция на отхвърляне, хронично отхвърляне, затлъстяване, АХ, HCV, HBV. Презентацията на заболяването може да бъде с поява на високостепенна протеинурия или нискостепенна протеинурия с тенденция за

нарастване. Може да се наблюдава ограничаване на бъбречната функция, хематурия, хипертония. Диагнозата може да бъде уточнена единствено с бъбречна биопсия, като в някои случаи изследването изисква много внимателна преценка поради сходните характеристики на някои заболявания – напр. на светлинна микроскопия МемПГН може да прилича на гломерулопатия на трансплантата, а рецидив на гломерулонефрит няма как да бъде отличен от *de novo* такъв без данни за основното заболяване на пациента /70, 93, 176/. Всички гломерулни заболявания на нативните бъбреци биха могли да засегнат и бъбречния трансплантат /93/. Те, заедно с диабетната нефропатия, са едни от основните причини за развитие на ТХБН и пациентите, достигнали до този стадий често биват трансплантирани. Рецидив на основното заболяване се наблюдава в 10-20% от пациентите и в 8% става причина за недостатъчност и загуба на графта /176/. Рецидивът на основното заболяване е на трето място по честота като причина за загуба на графта след десетата година, като преди това стоят хроничното отхвърляне и смърт с функциониращ графт. Установяване на точната честота на рецидив на гломерулонефрит е трудно, защото изисква наличие на биопсия на нативните бъбреци на пациента, някои гломерулопатии протичат безсимптомно в трансплантата и биха били открити само при протоколни биопсии. От такива биопсии е установено, че честотата на рецидив на основното заболяване се повишава с времето след трансплантацията като на 2рата година е около 2,8%, на петата 9,8%, а след осмата година възлиза на 18,5%. Тези пациенти са застрашени от недостатъчност графта двойно повече от пациентите без рецидив /147/. Вероятността за рецидив при различните гломерулонефрити не е еднаква, както и последствията от рецидива /240/. Така например при anti-GBM ГН рядко се наблюдава рецидив, особено ако трансплантацията се проведе след повече

от 6 месеца пълна ремисия, но при рецидив прогнозата за графта е лоша. IgA НП рецидивира в 30-60% от случаите, като честотата е определена с протоколни биопсии. Това е логично, имайки предвид факта, че това е най-често срещаният ГН. В голям процент от пациентите обаче протичането е безсимптомно или леко, а загуба на графта се наблюдава в 10-30% от засегнатите пациенти /176/. В по-нови и по-големи проучвания се съобщава, че IgA НП е независим рисков фактор за по-лоша прогноза за графта в дългосрочен план /173/. Има изказани съмнения за по-голяма вероятност за рецидив при живородствено донорство. По-късни проучвания обаче демонстрират, че такава разлика няма и пациентите не трябва да бъдат съветвани против живородствено донорство /173/. Имуносупресивните медикаменти, използвани в практиката днес не могат да предпазят пациентите от рецидив на IgA НП, няма данни и че могат да променят хода или клиничната презентация при рецидив /56, 91/. Препоръките са използване на общи средства, ACEi/ARB, както и все повече съобщения за положителни резултати след тонзилектомия /269/. Рецидивът при нефрит при HSP е проучен по-слабо, като съобщаваната честота е 35%, а загуба на графта за 5 години може да настъпи при 11% от пациентите /93/.

ОСГСХ представлява разнородна група заболявания, като рецидив се наблюдава основно при първично заболяване /147/. Съобщава се вероятност за рецидив при 30-60% от пациентите, но точната честота остава неясна поради липса на диагноза на първичното заболяване при всички пациенти. Основни рискови фактори са: поставяне на диагноза преди 15 годишна възраст с бърза прогресия на заболяването до ТХБН (по-малко от 3 години), рецидив при предишна трансплантация, дифузен мезангиален хиперцелуларитет в нативните бъбреци, мутация в гена за подоцин и при вариант с колапс на

капилярните бримки /34, 233/. Рецидивът на ОСГС в до 50% води до загуба на графта, обикновено се наблюдава рано след БТ- още в първия месец и протича с масивна протеинурия, влошаване на АХ, намалена функция на графта и може да стане причина за първична афункция на графта. В нови проучвания се съобщава за наличието на разтворим урокиназа-подобен плазминоген активаторен рецептор (suPAR), като циркулиращ фактор, свързан с развитие на заболяването /242/. Важно е пациентите, подготвени за трансплантация да бъдат апротеинурични, за да може евентуален рецидив да бъде диагностициран достатъчно рано /265/. Често може да се съчетае с остро отхвърляне и ОБН. При повторна БТ вероятността от рецидив нараства на 75%. Лечението на рецидивиращата ОСГСХ е трудно, но има съобщения за добро повлияване от приложение на плазмафереза и rituximab /59, 265/.

При мембранопротеративния гломерулонефрит има разлики в честотата на рецидивирание и прогнозата за графта при различните типове. Във връзка с обновената класификация на този гломерулонефрит през 2016г и установяването на основната роля на комплементната каскада в патофизиологията на тази група заболявания, МПГН се разделя на две групи – имунокомплексен МПГН и комплемент-медиран МПГН. Насока за поява на рецидив е влошаването на бъбречната функция и поява на протеинурия, като рецидив е бил наблюдаван още в първите 8 месеца след БТ. Комплемент-медираната форма на МПГН – преди означавана като МПГН тип II, сега се разделя на С3 гломерулонефрит и МПГН с интрамембранни плътните отлагания. Основата на тези заболявания – вродени или придобити промени в алтернативния път на комплемента, персистира често и след провеждането на БТ. При споменатите две заболявания не се препоръчва и живородствено дарство. С3 гломерулонефрита рецидивира в до 100% по изследвания,

следващи новата класификация, а загуба на графта настъпва в до 50% от пациентите. Атипичният ХУС рецидивира в до 75% от възрастните и води до недостатъчност на графта при 86% /218/. Рецидивът може да не бъде разпознат веднага, поради липса на информация за основното заболяване, но и поради възможността ХУС да се развие вторично на базата на употреба на CNIs, sirolimus, ОКТЗ. При пациенти с първично заболяване ХУС се препоръчва при всяка дисфункция на графта да бъдат изследвани наличие на протеинурия и брой тромбоцити. При загуба на алографт от рецидив не се препоръчва следваща трансплантация. Комплемент-медиацията МПГН се е срещал по-рядко сред проведените биопсии – 12%, но в по-голям процент е имал лоша прогноза – 50% /15/. Лечението се състои в прилагане на eculizumab – моноклонално антитяло, насочено срещу C5 пептид от комплементната каскада и блокиращо формирането на C5-9 мембраноатакуващ комплекс /218/. При пациенти с активни лезии при ХУС на терапия с eculizumab и без добър отговор се проучва терапия с инхибитори на C3 съставка на комплементната каскада.

При имунокомплексната форма на МПГН се наблюдава свръхстимулация на комплементната каскада, като тази стимулация се дължи на формирането и отлагането на имунни комплекси. Преди определян като МПГН тип I, днес той се характеризира с отлагането на имуноглобулини в мезангиума и субендотелно и се дължи на автоимунни заболявания, инфекции или моноклонални гамопатии. Наблюдаван е по-често в проведените биопсии – 88%, а загуба на графта е настъпила в до 45% от пациентите /15/. Терапията се състои в пулсови дози КС, rituximab и плазмафереза.

Определени рискови фактори за рецидив на МПГН са живородствено донорство, трансплантация преди провеждане на диализа, ниски нива на комплемента и наличие на моноклонална гамапатия /15/.

Според старата класификация рискът от рецидив при МПГН тип 1 е около 30 до 65%, а загуба на графта настъпва в до 30%. Рецидивът настъпва между 1 седмица и 14 месеца след БТ като в по-голяма част от пациентите може да остане субклиничен. При хипокомplementемия прогнозата е по-лоша и рискът е по-голям – до 90% рецидив /218, 249/. Протича с високостепенна протеинурия, хематурия и бавно намаляване на функцията на графта, като съобщаваната честота за загуба на графта се различава значително в различните проучвания – от до 30% до повече от 80% /43, 249/. Рискът от рецидив при последваща БТ е до 80%. Установена е по-голяма честота на рецидив при живородствено донорство /218/. МПГН при отлагане на леки вериги (най-често при моноклонална гамапатия с неизвестно значение), при наличие на хепатат С, автоимунни заболявания се обозначава като вторичен, а хистоморфологично протича като тип I или III, рецидивира бързо и има агресивен ход /231, 249/. Няма големи рандомизирани проучвания за лечението на МПГН, а още по-малко на рецидив след БТ. Превенцията се състои в лечение на заболяването, довело до поява на ГН (ако е възможно), а при рецидив – плазмафереза, лечение с циклофосфамид или ритуксимаб /50, 218/. Има съобщения за протективна роля на CsA по отношение на тежестта на заболяването и особено формирането на полулуния /13/. Съобщения има и за прилагане на по-високи дози ММФ /277/.

Болестта на плътните отлагания (МПГН тип 2) рецидивира в по-голям процент от случаите – до 80%, съобщава се за връзка между тежката протеинурия при

първичната болест и рецидив на болестта, като наличието на полулуния говори за по-лоша прогноза /43/. Характеризира се с електронно-плътни депозити в lamina densa на базалната мембрана и отлагане на C3 без IgG. При някои пациенти може да има нарушение в регулацията на каскадата на комплемента с недостатъчност на фактор Н. Лечението се състои в преливане на ПЗП преди и след трансплантацията /23, 236/, прилагане на плазмафереза и rituximab, които може да имат ефект в някои случаи /202/.

Идопатичната мембранозната гломерулпатия е друг гломерулонефрит на нативните бъбреци, който често рецидивира в бъбречния трансплантат. Характеризира се със задебеляване на гломерулните базални мембрани, имунофлуоресцентно се открива дифузно грануларно отлагане на C3 и IgG по хода на базалната мембрана - субепително. Този гломерулонефрит е една от честите причини за нефрозен синдром при възрастни пациенти без ЗД и в 1/3 от случаите води до ТХБН /135/. Хистологична находка на мембранозен ГН може да бъде установена в около 40% при протоколни биопсии на пациенти с това първично заболяване, в първите месеци след БТ, като първоначално пациентите може да бъдат апротеинурични /72, 202, 249/. Механизмът на развитие на болестта се дължи на автоантитяло, насочено срещу М-тип рецептор на подоцитите за фосфолипаза-2 /24/. От направени през 2010 година изследвания се доказва наличие на антитела срещу фосфолипаза А2 рецептора и при рецидив на болестта в бъбречния трансплантат /243/. В по-ново проучване на 15 пациента с рецидив на мембранозна нефропатия е установено, че наличието на активност на anti-PLA2R1 от клас IgG4 при проследяването на пациентите след трансплантацията е сериозен предиктор за рецидив /229/. Често мембранозната нефропатия се развива и de novo след бъбречна трансплантация и дори е по-честа форма от рецидивиращата,



характеризира се с по-бавно и по-късно развитие /93, 202/. Обикновено рецидив се наблюдава между втората и трета година след БТ, но е наблюдаван и 2-3 месеца след БТ /202/. Клиничният ход се характеризира с прогресираща протеинурия до нефротичен синдром. Както и при МН в нативните бъбреци, са описани случаи на спонтанна ремисия на протеинурията /154/. Трансплантацията на пациенти с мембранозна нефропатия не оказва негативен ефект върху дългосрочната преживяемост на графта, като при развитие на рецидив води до загуба на графта в около 10%. По-млада възраст при трансплантацията оказва негативен ефект върху вероятността за рецидив /135/. Тези пациенти напредват до ТХБН за няколко години. Освен симптоматични мерки като ACEi/ARB, антикоагуланти, антихиперлипемични средства обещаващи резултати дава лечението с rituximab /241/.

Значително по-ниска честота на рецидив се съобщава при първична увреда на бъбреците от други гломерулни заболявания. При лупус рецидив се наблюдава между 1-30% от трансплантираните като се наблюдава рано (дни) или късно (години) след бъбречната трансплантация. Важно е различаването на симптоматичен рецидив на нефрит от хистологични промени без клинична изява. Клинично изявен рецидив се наблюдава в около 10% и се изявява с нарушена бъбречна функция, рязко или постепенно покачване на серумния креатинин и поява на протеинурия и/или хематурия /155/. Обикновено протичването е по-благоприятно от това на основното заболяване, лупусната нефропатия в графта е най-често клас II мезангиопролиферативен ГН, по-рядко клас III и клас V /174/. Препоръчва се болестта да е в ремисия при трансплантацията, поради което пациентите с ТХБН и активност на заболяването започват диализно лечение, като се смят че за 3 до 6 месеца на диализа настъпва така наречено „burnout” на активността на заболяването без

негативен ефект върху преживяемостта /155/. Като рискови фактори за рецидив се посочват расови особености, женски пол, по-млада възраст /63/. Дългосрочната прогноза при пациенти с лупусен нефрит не се различава от тази при останалите бъбречно трансплантирани пациенти /63, 155, 174/.

ANCA-асоциираните васкулити рецидивират в до 17% от случаите, като при използване на такролимус в имunosупресивния режим съобщаваната честота е 4% /100/. Препоръчва се трансплантацията да се проведе при ремисия на болестта. Рецидив може да се появи по всяко време след трансплантацията /226/, но само в малък процент води до загуба на графта /97/. Няма разлика в честотата при различните васкулити и наличието на циркулиращи ANCA не е било предиктор за рецидив. При пациенти с много високи титри обаче е описана по-голяма опасност за рецидив на болестта /53/. Лечението включва комбинация от кортикостероиди и циклофосфамид. Съобщени са добри резултати от прилагане на ритуксимаб при рецидив на васкулита /98/.

След трансплантация могат да рецидивират и много вторични нефропатии. Амилоидозата представлява разнородна група заболявания, които при засягане на бъбрека се характеризират с извънклетъчно отлагане на фибрили от неправилно нагънати белтъчни вериги. При засягане на бъбрека те нарушават тъканната архитектура, което води до клинична изява на нефротичен синдром. Различните типове амилоидоза имат различна прогноза след провеждане на БТ. При пациенти, достигнали ТХБН в резултат на амилоидоза тип АА БТ е най-добрата терапевтична възможност /53/. Най-честите причини за развитие на АА амилоидоза са хронични възпалителни заболявания като туберкулоза, фамилна средиземноморка треска, ревматоиден артрит, болест на Крон и др. /144, 230/. Рецидив се наблюдава в

14%, като при амилоидоза е намалена 10-годишната преживяемост на пациентите, но прогнозата за графта не се различава от тази при останалите пациенти. Има съобщения, че терапията с колхицин предпазва от рецидив при пациенти с амилоидоза в резултат на фамилна средиземноморска треска /142/. Преди извършване на трансплантацията трябва да се направи опит за лечение на заболяването, довело до развитие на амилоидозата. При AL амилоидоза, отлаганията са от имуноглобулинови леки вериги и рискът от рецидив е много висок. Преди трансплантацията е необходимо лечение на малигненото заболяване, довело до развитие на амилоидоза /46/.

Диабетната нефропатия е на първо място като причини за нефротична протеинурия и развитие на ТХБН почти в целия свят. Бъбречната трансплантация е най-добрата терапевтична възможност при тези пациенти, но преживяемостта е намалена поради развитие на сърдечно-съдови, инфекциозни усложнения и по-голяма честота на остри реакции на отхвърляне /196/. Диабетната нефропатия рецидивира в около 30 % от пациентите, като се характеризира с развитие на протеинурия, намалена функция на графта, хипертония и характерни хистологични промени /196/. Рецидивът най-често настъпва след шестата година, но са описани случаи на диабетна нефропатия и след третата година. Не е достатъчно изяснена честотата на недостатъчност на графта в резултат от диабетна нефропатия поради значително по-високия процент на смърт с функциониращ графт поради сърдечно-съдови усложнения /217/. При развитие на диабет след трансплантацията процентът на de novo диабетна нефропатия е същият, както и при трансплантирани диабетици, а съобщаваната честота на ТХБН в резултат на диабетна нефропатия е около 30% /204/. Захарният диабет намалява общата преживяемост, както и тази на графта.

Фибрилерните и имунотактоидни гломерулопатии рецидивират в около 50% , като се характеризират с бавно намаляване на бъбречната функция /223/.

Много първични и вторични гломерулни заболявания могат да рецидивират след бъбречна трансплантация и да доведат до загуба на графта. Засягането на алогографт при последваща трансплантация не е задължително и пациентите не трябва да бъдат спирани от такава /134/.

Новопоявила се гломерулна протеинурия може да се дължи и на развитие на гломерулонефрит в трансплантирания бъбрек без това да е основното заболяване на пациента. Най-често de novo се проявяват ОСГСХ, мембранозна гломерулопатия и мезангиокапилярен гломерулонефрит /85, 115/.

Специфични имунологични причини за протеинурия

Старият термин „хронична нефропатия на графта“ е включвал голям брой състояния с клинична изява на протеинурия, понякога в нефротични граници, бавно намаляване на бъбречната функция, АХ и характерни хистологични белези. Той е представлявал водеща причина за недостатъчност на графта след БТ без обаче да се посочват специфичните причини за това. През 2005 е направена промяна в класификацията на Banff като неспецифичният термин „хронична нефропатия на графта“ е премахнат, а са обособени следните състояния: Хронична антитяло-медирана реакция на отхвърляне с дупликация на базалните мембрани на гломерулни и перитубулни капиляри, отлагане на С4d и наличие на антидонорни HLA антитела; хронична активна Т-клетъчно медирана реакция на отхвърляне; IF/TA без специфична етиология; неимунни увреди, като токсичност на CNIs /239/. Терминът гломерулопатия на трансплантата обозначава специфични за алогографта промени в гломерулите,

които не се дължат на рецидив или de novo гломерулонефрит. Гломерулопатията на трансплантата се отдава на промени, дължащи се на хронична антитяломедирана реакция на отхвърляне и е самостоятелно свързана с късна дисфункция и висок процент загуба на графта /93, 253/. Дължи се на многократни епизоди на ендотелна активация и се характеризира с редупликация на базалните мембрани на гломерулните и перитубулни капилляри, разширение на мезангиалния матрикс, липса на имунни депозити и наличие на отлагане на C4d в перитубулните и гломерулни капилляри /113/. Това представлява изява на капилярна увреда във връзка с възпаление на интерстициума, перитубулните капилляри и гломерулите. Ултраструктурните промени, характерни за ендотелна активация се явяват много преди дубликата на базалните мембрани, което показва, че ендотелната активация и дисфункция е в резултат на имуно-медирана увреда от алоантитела, които обаче не водят до комплемент-медирана цитолиза /113, 272/. Когато се установи протеинурия при пациенти с наличие на антидонорни антитела (най-често HLA клас II), развитието на гломерулопатия е много вероятно и ранната намеса може значително да подобри дългосрочната прогноза /86, 171/. Клиничната манифестация на гломерулопатията включва протеинурия, която може да достигне до нефротични стойности, артериална хипертония и последващо намаляване на функцията на графта. Средната продължителност от трансплантацията до провеждане на биопсия по клинични показания е от 2 до 9 години, а прогнозата за преживяемостта на графта е лоша /122, 158/. Има и случаи, при които протеинурията е в ниски стойности, като нарастването ѝ има неблагоприятна прогностична стойност /85/. Доказано е, че пациентите с гломерулопатия на трансплантата имат по-лоша прогноза на графта в сравнение с хронично отхвърляне без развитие на гломерулопатия,

като загуба на трансплантата настъпва преди развитие на широко разпространена гломерулосклероза /253/. При провеждане на протоколни биопсии се установяват случаи на субклинична гломерулопатия като честотата достига до 20% след петата година и се свързва със също толкова лоша дългосрочна преживяемост на трансплантата дори при стабилна функция в момента на биопсията /103, 272/. В проучване на Sun et al. е установена връзка на гломерулопатията на трансплантата с инфекция от хепатит С, като тези пациенти са имали по-тежка протеинурия, по-високи степени на гломерулопатията и отлагане на C4d и по-лоша преживяемост на графта /251/.

Агресивната терапия при биопсично установена гломерулопатия на трансплантата в резултат на антитяло-медирана реакция на отхвърляне с провеждане на плазмафереза, с или без имуноабсорбция, високи дози имуноглобулин, rituximab, bortezomib и eculizumab са мерки, които могат да се предприемат за спасяване на графта. Лечението обаче трябва да се започне рано преди настъпване на тежки хронични промени и като цяло прогнозата за графта не е добра.

Причините за новопоявила се гломерулна протеинурия след бъбречна трансплантация са гломерулопатия на трансплантата, рецидив или de novo гломерулонефрит. Те стоят на второ място като причина за загуба на графта, като преди тях е единствено смърт с функциониращ графт.

#### Тубулна протеинурия

При БТ пациенти, появата на нискостепенна протеинурия може да бъде показател за остра реакция на отхвърляне. Обикновено се съчетава с повишаване на серумния креатинин. Епизодите на остро отхвърляне имат

неблагоприятен ефект върху дългосрочната преживяемост на графта. След провеждане на патогенетично лечение протеинурията може да не се върне до изходната стойност. Oblak et al. доказват, че разлика между протеинурия след епизод на остро отхвърляне и базовата повече от 20мг/ммол е свързана с по-ниска СГФ след 3 месеца и лоша прогноза за преживяемостта на графта и пациента /189/. Причини за тубулен тип протеинурия са още увреда при исхемия-реперфузия, нефротоксични медикаменти като CNIs, аминогликозиди. При този тип протеинурия е увеличена екскрецията на ретинол-свързващ протеин, за който е доказана отрицателна връзка със сърдечно-съдовата преживяемост. Тубулен тип протеинурия след бъбречна трансплантация най-често се причинява от увреда при интерстициална фиброза и тубулна атрофия и обикновено не надвишава 500мг/24ч при хронична увреда на графта. В проучване на Amer H. при изследване на молекулното тегло на екскретирани протеини в групата пациенти с IF/TA се доказват повишени концентрации ретинол-свързващ протеин,  $\alpha$ 1-микроглобулин, IgM, IgG. Повишената екскреция на нискомолекулни белтъци корелира най-силно с едногодишната преживяемост на графта, а абнормната екскреция на албумин определя влошена дългосрочна прогноза /19/.

В общата популация албуминурия се открива при един на всеки трима пациенти със захарен диабет, един на всеки седем с АХ (без ЗД), един на всеки шест на възраст над 60 години /96/. Тя е ранен признак на прогресиращо сърдечно-съдово и бъбречно заболяване при пациенти с или без ЗД, като при ЗД откриването на албуминурия в границите 30-299 мг/24ч маркира фазата, в която гломерулната хиперфилтрация се измества към фаза на прогресивна загуба на бъбречна функция /235/. Факторите, определящи появата на албуминурия при БТ пациенти се различават от тези в общата популация, но

стадирането на пациентите според иГФ и албуминурията, както и в общата популация, предоставя надеждна информация за риска в тази група пациенти /255/. Смята се, че албуминурията може да бъде по-надежден маркер за хронична увреда на графта от протеинурията /110/. В проучване от 2011г сранението на албуминурията с други маркери (KIM1, NAG) на тубулна увреда и протеинурията се установява, че албуминурията е силен независим рисков фактор на загуба на графта и промяна в бъбречната функция в дългосрочен план /185/. В проведени проучвания за честотата на албуминурията след БТ се съобщава, че при 20% от пациентите се установява наличие на албуминурия дори при нормални стойности на общата протеинурия, както и албуминурия в границите 30-300мг/24ч при 80% от пациентите с протеинурия под 500мг/24ч и при 100% от тези с по-висока протеинурия /18/. Halimi et al свързват албуминурията с понижена преживяемост на графта и пациента. В проучвания на този екип се доказва не само повишен риск от сърдечно-съдови заболявания, но и по-голяма честота на малигнени заболявания, водещи до смърт /109/. Албуминурията се асоциира и с по-висока честота на анемия при трансплантираните пациенти, което може да е свързано с тубуло-интерстициално увреждане при хронична нефропатия на графта /261/.

Голямото клинично значение на протеинурията, нейната продължителност и тежест, се изразяват в прогностичното значение за функцията на графта /140/. Roodnat et al доказват, че рискът от смърт нараства с 16% за всеки 1г/24ч увеличение на протеинурията, като нараства и сърдечно-съдовата и общата смъртност. Amer et al. демонстрират, че дори нискостепенна протеинурия <500мг/24ч се свързва с четирикратно увеличение на риска от недостатъчност на графта, като с нарастване на протеинурията до нефротични граници рискът се увеличава 19 пъти /20, 209/. Протеинурията на 12ти месец корелира с



двойно по-ниска преживяемост на графта в сравнение с апротеинуричните трансплантирани пациенти. В проучване за връзката на ранна протеинурия с преживяемостта на графта протеинурията на 3ти месец, възрастта на донора и наличието на панел-реактивни антитела са свързани със значително по-ниска преживяемост на графта /123/.

Освен лечение на основното заболяване, при нативни пациенти има голям брой рандомизирани контролирани проучвания, засягащи допълнително лечение и мерки за намаляване на протеинурията и повишения сърдечно-съдов риск. Те включват контрол на АН, прием на медикаменти от групата на ACE инх/ARB, CCBs, алдостеронови антагонисти, ограничаване приема на протеини, ограничаване приема на готварска сол, контрол на телесното тегло, прием на статини, прекратяване на тютюнопушенето. За приемът на ACE инх/ARB е доказано не само намаляване на протеинурията, но и забавяне на прогресията на ХБЗ и отлагане на нуждата от БТ или диализа при пациенти с нативни бъбреци /29, 75/. Въпреки малкия брой контролирани проучвания при трансплантирани пациенти, засягащи всеки от тези аспекти в терапията на протеинурията, прилагането на общи мерки може има благоприятен ефект върху преживяемостта на пациентите и намаляването на сърдечно-съдовите инциденти, които са на първо място като причина за смърт с функциониращ графт /212/.

При бъбречно трансплантирани пациенти не са правени големи проучвания за ефекта от контрола на АН върху намаляване на протеинурията. В препоръките на KDIGO заляга граница на АН под 130/80 без да се препоръчват определени антихипертензивни медикаменти, като при наличие на протеинурия над 1г/24ч се препоръчват ACEинх/ARB като първа линия на лечение /9/. В направен от

2007 година обзор на 21 рандомизирани проучвания, оценяващи ефекта на ACEин/ARB се установява намаляване на протеинурията след поне 12 месечно проследяване на пациентите, но в сравнение с контролната група, лекуваните с тези медикаменти са имали по-ниска GFR (-5,8мл/мин). Не са правени и изводи, засягащи дългосрочната прогноза за графта и пациента /119/. През 2009г в обзор на 60 проучвания, включващи 3802 трансплантирани пациенти авторите оценяват ефекта от лечението с ACE/ARB в сравнение с плацебо и CCBs и правят изводите, че при лечение с ACEинх/ARB липсва значимо намаляване на протеинурията, но има значимо намаляване на GFR в сравнение с пациенти, лекувани с CCBs или плацебо (-8,1мл/мин разлика) /69/. Shamseddin и Knoll правят изводите, че лечението с ACE/ARB може да намали протеинурията, но прилагането им не е свързано с доказано забавяне на прогресията на ХБЗ или подобряване преживяемостта на пациентите /232/. В ретроспективно пручване на Hainze et al, включващо 2031 пациента е наблюдавана по-добра 10-годишна преживяемост на пациентите и графта при лечение с ACE/ARB, но без това да има връзка с антипротеинуричния ефект на тези медикаменти. Авторите отбелязват, че установената по-добра преживяемост на графта вероятно се дължи на намалената смъртност в тази група пациенти и не може да се направи заключение за ефект върху запазване функцията на графта /117/. През 2013г е публикувано рандомизирано контролирано проучване, оценяващо ефекта на ACE инх върху дългосрочната преживяемост на пациентите, като крайни точки са определени загуба на графта, удвояване на креатинина, сърдечно-съдов инцидент или смърт. За период от 10 години са проследени 36 трансплантирани пациенти на лечение с ACE инх и 34 трансплантирани без такава терапия. В края на проучването значителни повишаване на протеинурията е наблюдавано само в контролната група, както и значително

повече сърдечно-съдови инциденти. Не е наблюдавана значима разлика във функцията на графта при двете групи пациенти /193/. В друго проучване от 2016г, изучаващо ефекта от терапията с ACE инхибитор след БТ в животински модели се установява, че ACE инхибиторите забавят гломерулосклерозата и тубулоинтерстициалната увреда и по този начин предотвратяват някои от ключовите механизми в увредата на бъбречния трансплантат /111/.

Други автори съобщават, че при трансплантирани пациенти липсва ренопротективен ефект, независим от намаляването на АН при лечение с ACE/ARB, както и няма значителен ефект върху преживяемостта на пациента и трансплантата /190/. През 2016г. Knoll et al. публикуват рандомизирано плацебо-контролирано проучване, включващо 213 БТ пациенти – 103 на лечение с ACE инхибитора рамиприл и 109 с плацебо, проследени за период от 4 години. Авторите правят заключението, че при протеинурични БТ пациенти лечението с рамиприл не променя времето на настъпване на ТХБН, удвояване на серумния креатинин или нуждата от диализа в сравнение с плацебо /141/.

В случаите на протеинурия, дължаща се на чиста хиперфилтрация, блокирането на RAAS с ACE/ARB се явява и патогенетично лечение. Това се наблюдава и когато донор е жена, когато функцията бъбрека е била по-лоша преди трансплантацията. Смята се, че това се дължи на по-ниската нефронна маса и развитие на хиперфилтрация в трансплантирания бъбрек /44/. В проучване, включващо реципиенти на бъбречни трансплантати от донори в педиатрична възраст пациентите, получавали блокери на RAAS в първата година след трансплантацията са били с по-добра дългосрочна преживяемост /284/.

В заключение, използването на ACEинх/ARB при трансплантирани пациенти е свързано с намаляване на протеинурията, но ефектът върху подобряване на преживяемостта на графта и забавяне на необходимостта от диализа остава спорен /198/. Повечето автори са обединени около мнението за подобрена прогноза при пациента. Важно е да се отчитат и страничните им ефекти като анемия и хиперкалиемия. Прилагането на по-ниски дози и внимателното мониториране на креатининовия клирънс, серумните електролити и хемоглобин при започване на лечението биха предпазили от развитието на нежелани усложнения.

От проведените проучвания за ефекта на дихидропиродоновите калциеви антагонисти не се установява намаление на протеинурията при трансплантирани пациенти, но се съобщава за по-добра функция и намалена загуба на графта. Смята се, че те потенциално могат да антагонизират вазоконстрикторния ефект на CNIs /106/. Някои авторите препоръчват CCBs като първи избор на лечение на хипертонията при трансплантирани пациенти /69/. Рандомизираните контролирани проучвания на БТ пациенти, лекувани с CCBs са значително по-малко, повечето са проведени преди повече от 10 години и ефектът от дългосрочната употреба на този клас медикаменти особено при протеинурични пациенти не е достатъчно проучен.

Ограничаване на белтъчния прием е основен допълнителен подход към патогенетичното лечение на протеинурични пациенти с нативни бъбреци. Проведени са 2 рандомизирани проучвания при трансплантирани пациенти с рестрикция на приема на протеини от 0,55 или 0,7 г/кг/дневно, като се отбелязва статистически значимо намаляване на протеинурията, но и в двете проучвания не е било оценено влиянието върху прогресията на ХБЗ. Поради

липсата на достатъчно данни, касаещи дългосрочните ефекти от строгите диети и нутритивния статус на трансплантираните пациенти се препоръчва консултация на пациентите с диетолог /20, 38, 216/.

Ограничаване приема на сол до 1,5 г /дневно може да има голямо значение за трансплантираните пациенти с протеинурия. В едно проучване се доказва връзката на високия прием на Na с повишаване на албуминуриата /215/. В рандомизирано проучване при нативни пациенти нисък прием на сол (50ммол Na/дн), съчетано с терапия с ACE инхибитор е имало по-добър ефект върху кръвното налягане и протеинурията от двойна терапия ACEинхибито и ARB /234/.

В проучването на Suarez-Fernandez ефект върху протеинурията е доказан и по отношение на голямото покачване на телесното тегло, като за всяка възрастова група пациенти 1 година след трансплантацията протеинурията е била по-висока при тези с по-голям ИТМ /249/. Затлъстяването е фактор, водещ до по-ниска преживяемост на пациента и графта, като пациентите средно наддават 10кг в първата година след трансплантацията /32/. Затлъстяването преди БТ е свързано с по-висока честота на отложена функция на графта, оперативни и периперативни усложнения, повишена честота на имунологични усложнения, а лечението на наднорменото тегло е по-трудно след БТ. Друг проблем при пациентите с наднормено тегло и затлъстяване преди БТ е, че не винаги е възможно намирането на подходящи донори за по-едри реципиенти. Въпреки че трансплантацията води до подобрена преживяемост при повечето БТ пациенти, БМИ над 40кг/м<sup>2</sup> е свързан с намалена преживяемост и по-малка полза след провеждане на БТ /101/. Затлъстяването не трябва да представлява абсолютно противопоказане за БТ, но е необходимо индивидуализиране на

риска при тези пациенти и силно насърчаване на оптимизиране на телесното тегло преди провеждане на БТ.

Статините - особено аторвастатин - при изследвания с нативни пациенти са показали добър ефект върху намаляването на протеинурията, като този ефект е независим от подобряването на стойностите на серумните липиди /52, 183/.

В нови проучвания е проследявана ролята на витамин Д и неговите аналози за редуциране на протеинурията. Холекалциферолът е оказал ефект за намляване на албуминурията и екскрецията на TGF- $\beta$  при пациенти със ЗД тип 2 и протеинурия /138/. В животински модел с намалена нефронна маса 1-25-2(ОН)-холекалциферолът е намалил експресията на урокиназен рецептор (отговорен за подоцитна увреда и ОСГСХ) и по този начин е оказал антипротеинуричен ефект (159).

От проведения обзор на литературата става видно същественото значение на протеинурията в проследяването и лечението на бъбречно трансплантирани пациенти. Въпреки големият брой проучвания протеинурията остава актуален пробем с множество въпроси, на които предстои да бъде даден отговор. Навлизането на нови биологични средства за лечение на имунни бъбречни заболявания дава надежда и при терапията на бъбречно трансплантираните пациенти. Въпреки огромият напредък в тази област, общи мерки като промяна в стила на живот, контрол на телесното тегло, проложението на статини, ограничаване приема на сол, прекратяване на тютюнопушенето, добрият контрол на АН и използването на блокери на РААС могат да окажат съществен ефект върху протеинурията и съответно върху преживяемостта на графта и пациента.

До настоящето проучване не е правен цялостен анализ на преживяемостта при протеинуричните БТ пациенти в България. Актуални въпроси, касаещи значението на албуминурията, протеинурията, биопсичната находка, имunosупресивната терапия, терапията с ACE inh/ARB и статини за преживяемостта на пациентите и графта са разгледани обстойно в настоящия дисертационен труд и включват както пациенти с функциониращ графт на наблюдение в диспансер по бъбречна трансплантация на Клиника по нефрология и трансплантация, така и пациенти, преминали на диализа или починали.

## МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

За решаване на поставените цели бяха проведени проучвания и анализирани данните на следните групи пациенти:

1. Срезово проучване на бъбречно трансплантирани пациенти с функциониращ графт на диспансерно наблюдение в Клиника по нефрология и трансплантация – общо 503 БТ пациенти с функциониращ графт на диспансерно наблюдение в Клиника по нефрология и трансплантация са проследени до 01.12.2016г. Отчитани са характеристики на пациентите преди бъбречната трансплантация – пол, дата на раждане, основно заболяване, продължителност на хемодиализното лечение, бъбречна трансплантация проведена без започване на хемодиализа, перитонеална диализа, остатъчна диуреза към момента на трансплантацията, холестерол, 3-глицериди, АН преди БТ. Характеристики на донора – тип (трупен/жив), пол, години, съвместимост по HLA – A, B, DR. Проблеми след БТ – отложена функция на графта, реакции на отхвърляне, рецидив на гломерулонефрит, уроинфекции, урологични усложнения. Характеристики по време на редовното проследяване в диспансер по бъбречна трансплантация – ПББ, месеца след БТ, АН, индекс на телесната маса, пълна кръвна картина, биохимия, урина, урокултура, протеинурия, имunosупресивна терапия, кръвни нива на имunosупресорите, антихипертензивна терапия, антихиперлипемична терапия, лечение на ХПТ, вирусология, новопоявил се ЗД. Проследени са бъбречната функция, протеинурията и други



показатели на определени времеви интервали при всеки пациенти – 1, 3, 6, 12 месеца, 2ра, 3та, 5та, 10та, 15та година. Протеинурията е отчитана извън периоди на уроинфекция, фебрилно състояние, хипертонична криза. Изключени са 29 пациенти с хронична уроинфекция. При 168 пациенти с доказана протеинурия паралелно е изследван и протеин/креатининов индекс (ПКИ) и е изследвана корелацията между пробите.

2. Срезово проучване на БТ пациенти с функциониращ графт и различна по степен албуминурия
  - Изследвани са 32 БТ пациенти без уроинфекция за наличието на албуминурия.
  - Определена е степента на албуминурията и е направена характеристика на пациентите според биохимичните показатели, ИС терапия и честотата на остра и хронична реакция на отхвърляне.
3. Ретроспективно лонгитудинално проучване на влиянието на протеинурията на трети месец върху бъбречната функция- общ брой пациенти - 474. Изследвани са:
  - влиянието на наличието на протеинурията на трети месец върху бъбречната функция във времето
  - влиянието на протеинурията на трети месец върху бъбречната функция след разделяне на пациентите според степента на протеинурията

4. Ретроспективно проучване на влиянието на протеинурията на трети месец върху преживяемостта на графта и пациента при общо 240 БТ пациенти, получили графт между 01.01.2005 и 31.12.2010.
5. Ретроспективно лонгитудинално проучване на ефекта от включване на mTOR инхибитор върху протеинурията и бъбречната функция - общ брой пациенти 67. Терапия с mTOR инхибитор е продължила поне 12 месеца. Пациентите са проследени за  $44,24 \pm 6,06$  месеца. Изследвани са:
  - влиянието на mTOR инхибиторите върху протеинурията;
  - рисковите фактори за развитие на протеинурия след започване на терапия с mTOR инхибитор;
  - значението на терапията с ACEinh/ARB преди започване на лечение с mTOR инхибитор;
  - влиянието на протеинурията върху eGFR във времето след включване на mTOR инхибитор
6. Ретроспективно лонгитудинално проучване на ефекта от лечението с ACE/ARB, CCB или комбинация от двете групи медикамент – общ брой пациенти - 474. От 474 пациенти с функциониращ графт 143 са на терапия с ACE инхибитор/ARB от поне 12 месеца, 74 са на терапия с CCB поне 12 месеца и 72 – комбинация от двете групи медикаменти. Проследени са до 36 месеца след началото на терапията. Сравнени са :

- изчислената гломерулна филтрация, протеинурията и хемоглобиновите нива във всяка от групите самостоятелно във времето;
- сравнени са тези показатели между 3те групи пациенти;
- при 91 БТ пациенти с доказана биопсично патология на графта е направено сравнение на преживяемостта на графта и пациента между пациенти на лечение с ACEинх/ARB и такива без терапия.

Статистически анализ - IBM SPSS Statistics 2010 and Microsoft Excel 2010. За сравнение на категорийни данни е използван chi-square test, за количествени данни с нормално разпределение- paired sample t-test, при разпределение различно от нормалното - Mann-Whitney U-test. Корелационен анализ за установяване на линейна зависимост между количествени признаци. ROC анализ - за определяне на предиктивна стойност; Kaplan Meier log rank test за определяне на преживяемост; унифакторен и мултифакторен Cox regression анализ за определяне на риска.

Протеинурията е определена като протеинова екскреция над 0,15г/24ч или протеин/креатининов индекс над 15мг/ммол.

Албуминурията е определена като албуминова екскреция над 30мг/24ч или албумин/ креатининов индекс над 2,5мг/ммол мъже, 3,5мг/ммол жени.

Изчислена скорост на гломерулна филтрация – eGFR по формула MDRD.

За статистически значими са приети стойности на  $p < 0.05$ .

## СРЕЗОВО ПРОУЧВАНЕ

В срезово проучване са включени общо 503 БТ пациенти с функциониращ графт на диспансерно наблюдение в Клиника по нефрология и трансплантация и са проследени до 01.12.2016г. Целта на проучването е да се направи цялостна обща характеристика на БТ пациенти с протеинурия, да се демонстрира честотата и степента на протеинурията и да се сравни влиянието ѝ върху бъбречната функция във времето.

Протеинурията при пациентите е отчитана извън периоди на уроинфекция, фебрилно състояние, хипертонична криза. Изключени са 29 пациенти поради наличието на хронична уроинфекция.

От 474 пациенти, 294 (58,45%) са с протеинурия  $>0,15$  към момента на проучването.

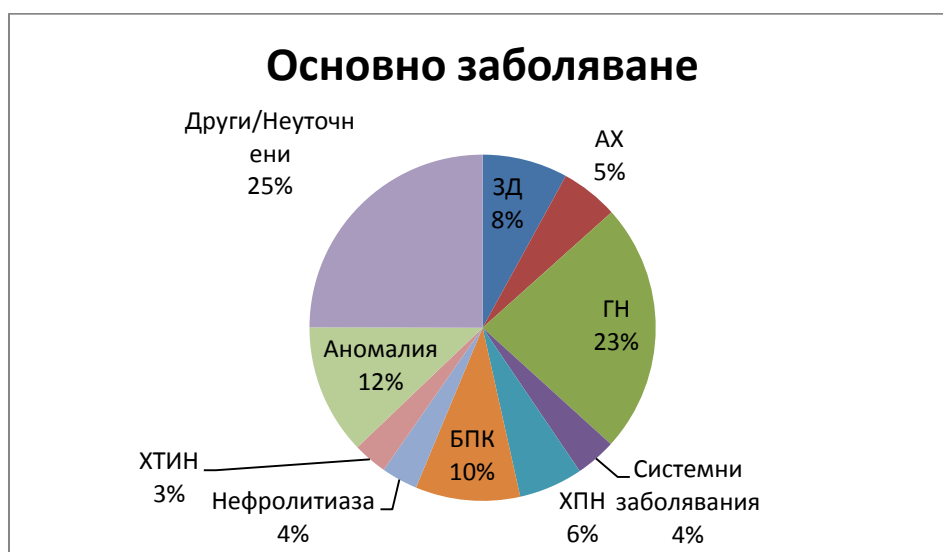
Характеристиките на пациентите са представени в таблица 1.

ПАРАМЕТЪР	СТОЙНОСТ
ОБЩ БРОЙ	474
Мъже %	63,22
Жени%	36,78
Възраст	44 $\pm$ 12,3
Тип донор	
Трупен %	46,13
Жив родствен	32,80
Жив неродствен	21,07
Донор мъж %	55,10
Донор възраст	42,64 $\pm$ 13,96
Несъвпадения по HLA	2,98 $\pm$ 1,1
Месеца на ХД	37 $\pm$ 34,2
БТ преди провеждане на ХД %	6,56
Отложена функция на графта %	23,86
Систолно АН	128,6 $\pm$ 14,5
Диастолно АН	81,33 $\pm$ 10
Средно АН	97,1 $\pm$ 10,6
ВМІ	24,87 $\pm$ 4,89
Хемоглобин	131,6 $\pm$ 18,8
Холестерол	5,43 $\pm$ 1,09
Триглицериди	1,67 $\pm$ 0,9

**таблица 1** Характеристики на пациентите

От таблицата се вижда, че подобно на характерната по-висока честота на ХБЗ за мъжкия пол, процентът бъбречно трансплантирани пациенти от мъжки пол е около 60%. Донор в по-голям процент е бил жив – родствен или неродствен (общо 54%). При 6.7% от пациентите трансплантация е проведена преди включване на ХД.

На фигура 1 е представена характеристика на основното заболяване на БТ пациенти, включени в проучването.



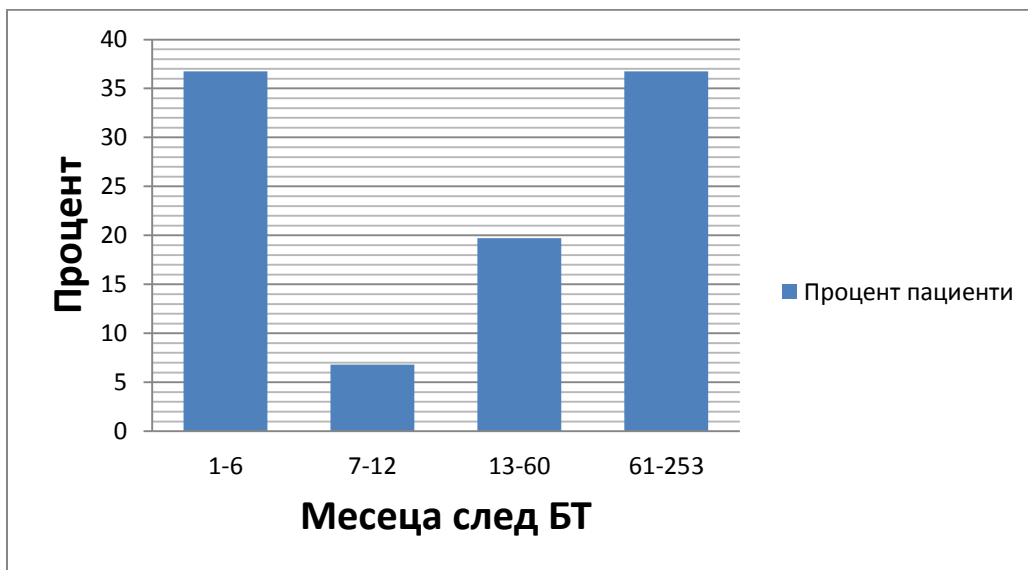
**фигура 1 Основно заболяване на пациентите**

Като основно заболяване с най-голяма честота е установен гломерулонефрит (23%). Захарен диабет, довел до ТХБН са имали 8% от БТ пациентни, а АД – 5%. Аномалия на ПОС е довела до ТХБН при 12%, а поликистозна болест са имали 10% от БТ пациентни. В голям процент от случаите (25%) основното заболяване е останало неизяснено.

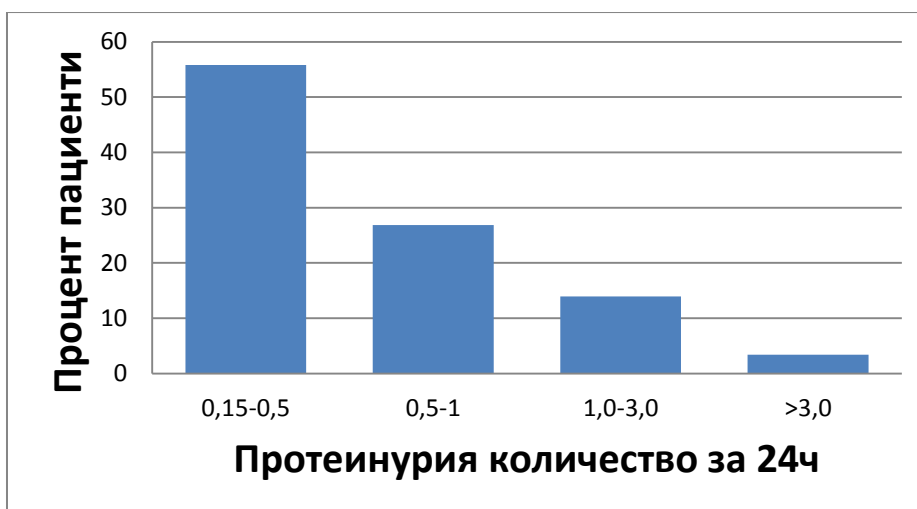
Протеинурията според време на поява след БТ.

Според времето на поява протеинурията се разделя на ранна (1-6 месеца) и късна (след първата година), като в разгледаната популация пациенти при 37%

появата на протеинурията е в първите 6 месеца. След петата година до момента на проследяване процентът на новопоявила се протеинурия е също 37%. От фигура 3 се вижда, че най-голям процент пациенти имат нискостепенна протеинурия до 0,5г/24ч – 56% и само при 3% от пациентите се наблюдава протеинурия над 3 г/24ч (фиг 2 и 3).



фигура 2 Хракатеристика на протеинурията според време на поява



фигура 3 Характеристика на протеинурията по степен.

## Промяна в степента и честотата на протенурията след БТ

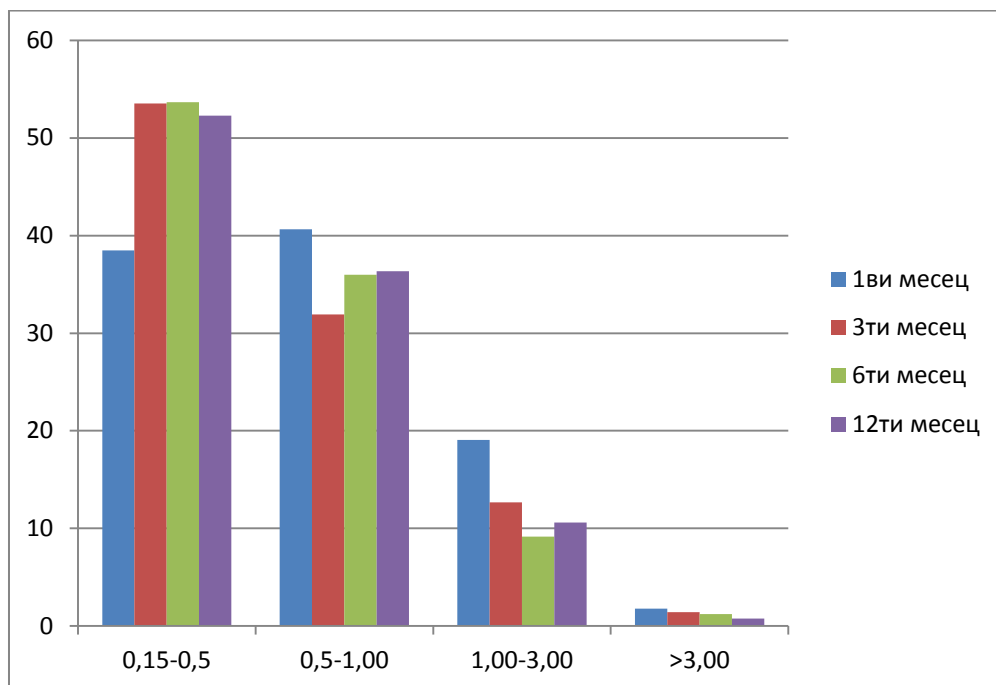
В световен мащаб се съобщава различна честота на протеинурията след БТ (Табл 2), като очаквано най-висока честота се наблюдава при приемане на граница на протеиновата екскреция 0,15г/24ч. Подобно на установената честота в големи проучвания, в изследваната популация БТ пациенти в България честотата на протеинурията при граница над 0,15г/24ч е 44%.

Държава	Брой пациенти	Граница на протеинурията гр/24ч	Време след трансплантацията (месеци)	Честота на протеинурия
Fernandez-Fresnedo et al,5 2002 Испания	532	>3	>12	13,7
Park et al,23 2000 Южна Корея	884	>1	>6	40,0
Fernandez-Fresnedo et al,19 2004 Испания	3365	>0,5	12	15,3
Halimi et al,20 2005 Франция	484	>0,5	12	35,2
Roodnat et al,28 2001 Холандия	722	>0,2	12	31,0
Amer et al,25 2007 САЩ	613	>0,15	12	45
Hinojosa et al. 2015 Испания	1815	>0,3	3	34,3
България 2016	474	>0,15	3	44,7

**таблица 2 Честота на протеинурията след БТ.**

На първи месец след бъбречната трансплантация най-голям процент пациенти са с протеинурия между 0,5 и 1г/24ч – 40%. Това отразява фактори като протеинурия от собствените бъбреци, увредата от исхемия-реперфузия и отложена функция на графта. В изследваната популация пациенти 24% са имали отложена функция на графта с необходимост от провеждане на ХД през първата седмица след БТ, а остатъчна диуреза над 1000мл са имали 28% от

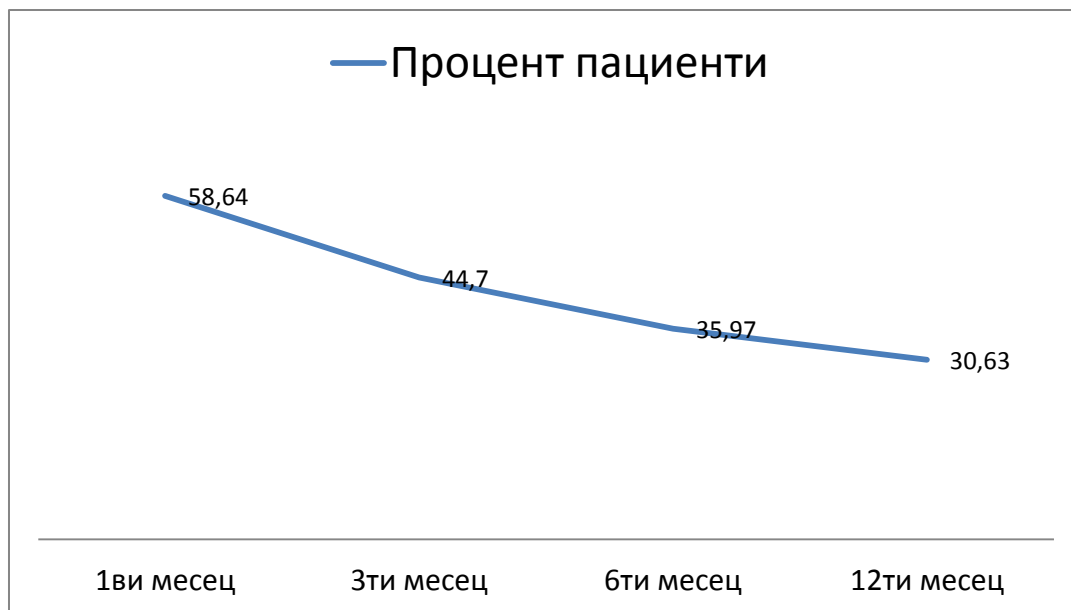
пациентите. От трети месец до първата година характеристиката се променя и най-голям процент пациенти са с нискостепенна протеинурия – около 53% с протеинурия между 0,15-0,5г/24ч (фиг 4).



**фигура 4** Промяна в степента и честотата на протеинурията до 12ти месец след БТ.

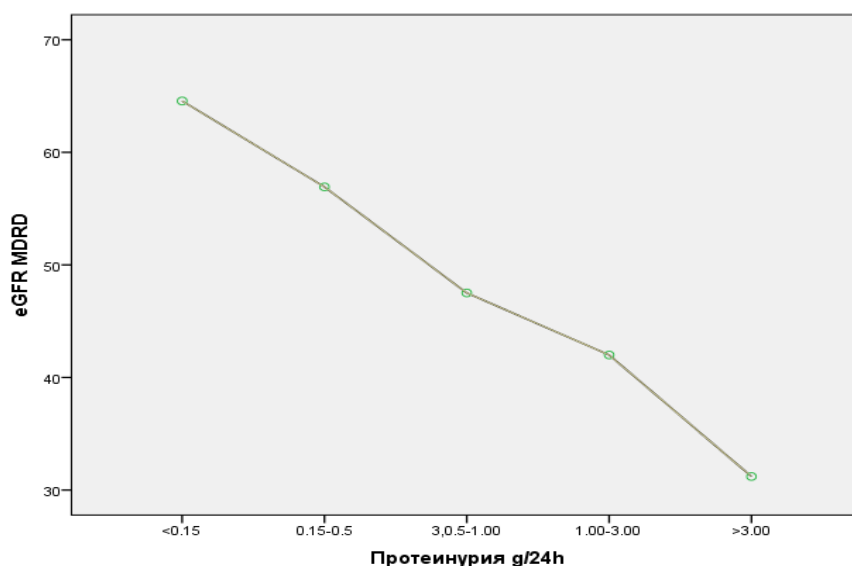
Със стабилизиране на бъбречната функция се наблюдава и намаляване на протеинурията както по степен, така и по честота като на 12ти месец след БТ протеинурични са 30,6% от пациентите, като най-много са пациентите с нискостепенна протеинурия – 52% (фиг 4 и 5).





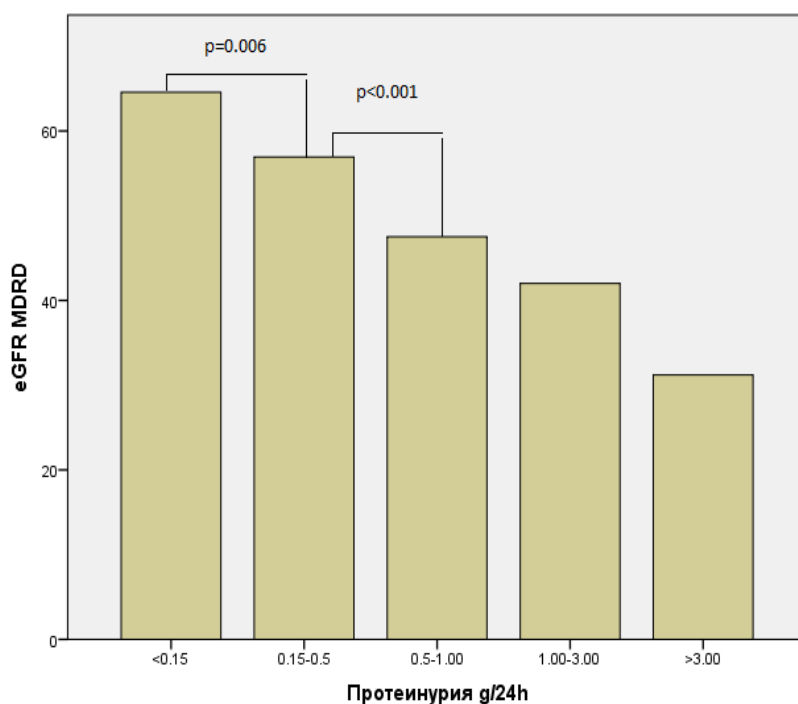
**фигура 5** Честотата на протеинурията намалява след БТ и на 12ти месец достига 30,6%.

За установяване на влиянието на протеинурията върху бъбречната функция сравнихме бъбречната функция между пациентите с различна по степен протеинурия.



**фигура 6** Промяна на eGFR според протеинурията при БТ пациенти в срезово проучване.

От проведеня анализ One-way ANOVA се установи статистически значима разлика в eGFR между групите пациенти с различно количество протеинурия и апротеинуричните пациенти. След провеждане на допълнителен post hoc Tukey тест се установи статистически значима разлика между групите пациенти без протеинурия и всяка от групите с протеинурия ( $p < 0,01$ ), между групата с минимална протеинурия (0,15-0,5гр/24ч) и тази с протеинурия между 0,5-1гр/24ч. Между следващите групи – с протеинурия между 0,5 -1,0гр/24ч , 1,0-3,0 гр/24ч и над 3,00гр/24ч тази статистическа значимост се губи (фиг 6 и 7).



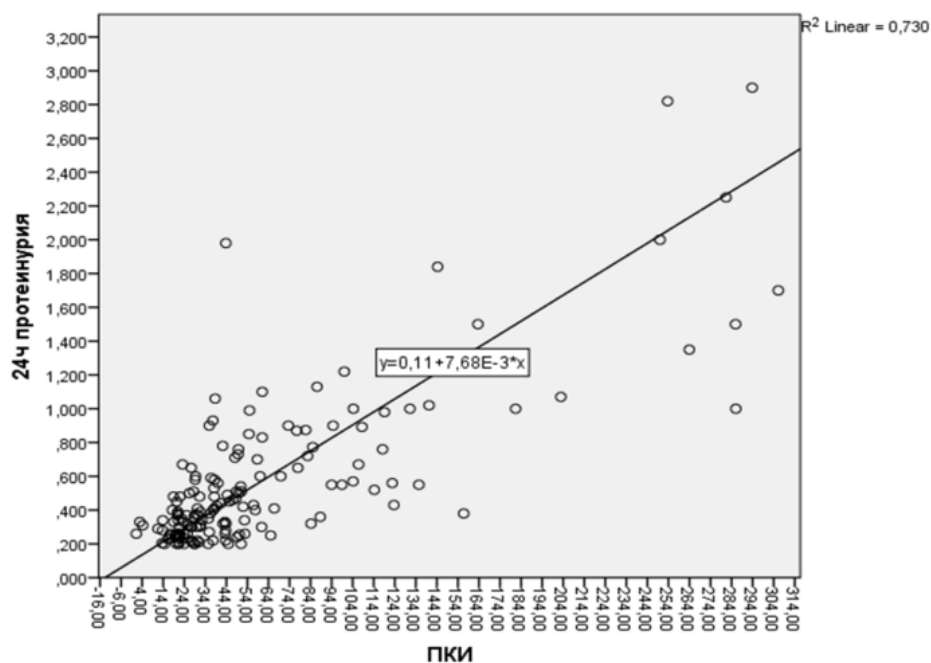
**фигура 7 Разлика в бъбречната функция се установи и при минимална протеинурия.**

Протеин/креатининов индекс

За изследване на корелцията между 24-часовата колекция на урина за изследване на протеинурия и протеин/креатининовия индекс в прясна урина бяха изследвани 168 пациенти с доказана протеинурия. Пробите за

протеинурия и протеин/креатининов индекс са взети паралелно и е изследвана корелацията между тях.

Установи се много висока сила на асоциацията със статистическа значимост -  $r = 0,854$ ,  $p = 0,01$ . Поради своето голямо удобство и леснота за изпълнение, вероятно ПКИ ще се използва все повече в амбулаторната практика при наблюдението на бъбречно трансплантирани пациенти. Наличието на абнормен резултат следва да бъде потвърдено с 24-часова колекция на урина (Фиг 8).



**фигура 8 Корелационен анализ за връзката между 24ч-протеинурия и протеин/креатининов индекс.**

От проведеното срезово проучване се установи:

1. В 23,8 % е отчетена отложена функция на графта. Тази честота на отложена функция на графта е по-ниска от съобщаваната в световната литература и за Европа. Това вероятно се дължи на по-рядкото

допускане на маргинални донори, както и на голям процент пациенти, трансплантирани в други държави и недостатъчна налична документация – 21,07% от пациентите са трансплантирани в друга страна.

2. Честотата на посттрансплантационната протеинурия в България не се различава съществено от съобщаваната в световната литература, когато за граница на нормата се приеме 0,15г/24ч екскреция на белтък
3. Дори минимална протеинурия до 0,5г/24ч е свързана със статистически значима разлика в бъбречната функция между изследваните групи пациенти
4. Използването на протеин/креатининов индекс е удобно и достатъчно надеждно в амбулаторната практика при бъбречно трансплантирани пациенти, като наличието на абнормни резултати следва да се потвърди с 24-часова колекция
5. Честотата на протеинурията намалява във времето след бъбречната трансплантация и достига 30% на 12ти месец.

## СРЕЗОВО ПРОУЧВАНЕ НА ВЛИЯНИЕТО НА АЛБУМИНУРИЯТА СЛЕД БТ ВЪРХУ БЪБРЕЧНАТА ФУНКЦИЯ И ЧЕСТОТАТА НА ОСТРА И ХРОНИЧНА РЕАКЦИЯ ЗА ОТХВЪРЛЯНЕ

Изследвани са 32ма БТ пациенти без уроинфекция. Характеристиките са представени на табл 3 и табл 4.

Целта на проучването е да се изследва връзката между албуминурията и бъбречната функция и честотата на остра и хронична реакция на отхвърляне.

Показател	Албуминурия < 30мг/24ч	Албуминурия 30-300мг/24ч	Албуминурия >300мг/24ч
Брой	14 (43.8%)	14 (43.8%)	4(12.4%)
Пол мъже %	64,3	57	50
Възраст	42.43 SD 13.6	41.5 SD 10.6	44.5 SD 10.2
Трупен донор	57%	43%	50%
Месеца след БТ	82.07 SD 80	97.3 SD 72	69 SD 37.7
Месеца на ХД	34.14 SD 25.7	40.14 SD 44.2	48 SD 34
Имуносупресивна терапия – mTOR	1	2	0
ЗД	0	2	0

таблица 2 Характеристика на пациентите според степента на албуминурия.

Показател	Албуминурия <30мг/24ч	Албуминурия 30-300мг/24ч	Албуминурия над 300мг/24ч	Статистическа разлика
Систолно АН	122.14 SD 14.9	136.64 SD 15.99	135.00 SD 12.9	<b>p=0.093a</b> p=0.310b p=0.999a
Диастолно АН	79.64 SD 8.4	85.00 SD 8.5	90 SD 8.2	p=0.231a <b>p=0.095b</b> p=0.556ac
Средно АН	93.8 SD 10	101.55 SD 9.88	105 SD 9.62	p=0.117a p=0.134b p=0.815c

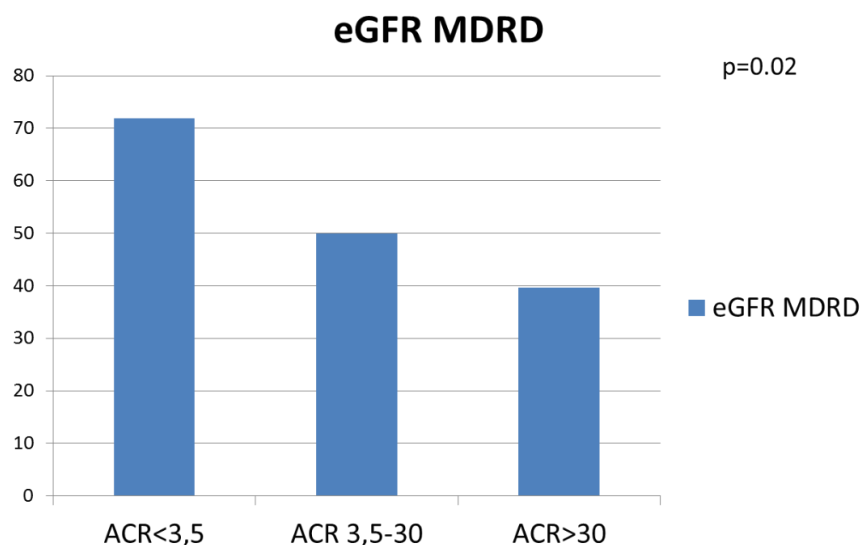
Кръвна захар	5.3 SD 0.4	6.4 SD 1.98	5.5 SD 0.5	p=0.114a p=0.983b p=0.461c
3-глицериди	1.36 SD 0.82	2.11 SD 1.6	2.15 SD 1.02	p=0.264a p=0.517b p=0.999c
Холестерол	4.8 SD 1.05	5.3 SD 1.2	6.2 SD 1.95	p=0.564a p=0.139b p=0.417c
Пикочна киселина	363.7 SD 101	397.4 SD 55	477 SD 38	p=0.497a <b>p=0.040b</b> p=0.183c
Хемоглобин	128 SD 18,47	128,5 SD 17,1	127,3 SD 18,8	p=0.998a p=0.995b p=0.991c
BMI	22,8 SD 2,9	24,9 SD 4,6	25,5 SD 8,3	p=0.437a p=0.538b p=0.968c
eGFR	71,93 SD 25	50 SD 12	39,75 SD 24,3	<b>p=0.020a</b> <b>p=0.024b</b> p=0.649c
CRP	3.58 SD 7.5	3.07 SD 5.6	2.5 SD 1.2	p=0.977a p=0.948b p=0.985c

таблица 3 Сравнение на пациентите при различните степени на албинурия.

При сравняване на трите групи пациенти се установи статистически значима разлика в систолното АН между пациентите без албинурия и тези с албинурия в границите 30-300мг/24ч. Диастолното АН е най-високо при пациентите с албинурия в границите над 300мг/24ч. Не се установи разлика в нивата на кръвна захар, холестерол и триглицериди, но при пациентите с албинурия в границите над 300мг/24ч се установиха значимо по-високи нива на пикочна киселина (p=0.04). Не се установи разлика в индекса на телесната маса и нивата на С-реактивен протеин между трите групи пациенти.

Беше сравнена бъбречната функция при различна по степен албинурия, изследвана с албумин/креатининов индекс (ACR) и се установи статистически

значима разлика в бъбречната функция при различните степени на албуминурията– фиг. 9.



**фигура 4 Сравнение на бъбречната функция при различна степен на албуминурията.**

В направеното проучване имаше разлика и в честотата на остра и хронична реакция на отхвърляне при различна степен на албуминурията. При нормоалбуминурия - 2 от 14 (14,3%) са с доказана остра или хронична реакция на отхвърляне (CsA 5, Tасr 8, mTOR 1, КС и MMF). При албуминурия 30-300мг/24ч - 6 от 14 (42,9%) са с доказана остра или хронична реакция на отхвърляне (CsA 5, Tасr 7; MMF). При трима от пациентите КС са били изключени от ИС режим и при тримата е доказана остра реакция на отхвърляне. При албуминурия >300мг/24ч - 3 от 4 са с доказана реакция на отхвърляне ( Tасr – 3, 1 – само КС+MMF)

ИЗВОДИ

1. Има статистически значима разлика в иГФ между нормоалбуминуричните пациенти и тези с и тези с албуминурия в границите 30-300мг/24ч и над 300мг/24ч.
2. Има по-висока честота на доказаните остра и хронична реакция на отхвърляне при пациентите с албуминурия в границите 30-300мг/24ч и над 300мг/24ч.
3. Албуминурията би могла да служи като маркер на субклинична имунологична увреда на графта.



## РЕТРОСПЕКТИВНО ЛОНГИТУДИНАЛНО ПРОУЧВАНЕ ПРИ ПРОТЕИНУРИЯ НА ТРЕТИ МЕСЕЦ

В проучването са включени пациентите с функциониращ графт без уроинфекции на трети месец след БТ – общо 474 пациенти. От тях с протеинурия над 0,15г/24ч на трети месец са 212 (44,7%) пациенти.

Целта на проучването е :

1. Да се изследва влиянието на протеинурията на трети месец върху бъбречната функция във времето.
2. Да се изследва влиянието на протеинурията на трети месец върху шестгодишната преживяемост на графта и пациента при 240 БТ пациенти, получили бъбречен трансплантат между 01.01.2005 и 31.12.2010

Характеристиките на пациентите с различна по степен протеинова екскреция са предствени на табл 5 и 6.

Показател	Протеинурия ия <0,15г/24ч	Протеинурия я 0,15- 0,5г/24ч	Протеинурия ия 0,5- 1,0г/24ч	Протеинурия ия >1,0г/24ч	Стойност на р
<b>БРОЙ</b>	262	114	68	30	
<b>Възраст</b>	44,4 SD 12.724	46.48 SD 10.77	42.10 SD 11.164	45.87 SD 12.77	Ns
<b>Пол мъже %</b>	60.7	62.3	70.6	73.3	Ns

Месеца на ХД	39.2 SD 34.58	37.05 SD 37.43	32.37 SD 27.538	30.97 SD 29.527	Ns
Тип донор % трупен	43,9	53,5	38,2	43,3	Ns
Донор възраст	40.92 SD 14.14	43.25 SD 12.54	44.83 SD 14.292	46.82 SD 15.305	Ns
Донор пол % Мъже	54.7	49.4	59.3	65.2	
HLA несъвпадения	3.13 SD 1.3	2.76 SD 1.03	2.89 SD 0.782	3.33 SD 0.577	Ns
Алоантитела 0 %	87,4	90,3	88,2	80,0	
Систолично налягане	<b>126.58 SD</b> <b>13.36</b>	<b>130.79 SD</b> <b>15.62</b>	129.93 SD 14.75	133.17 SD 14.353	<b>0.042</b>
Диастолично налягане	80.95 SD 9.29	81.8 SD 10.39	81.84 SD 8.55	79.67 SD 15.92	Ns
ИТМ	24.4 SD 4.8	24.9 SD 5.1	25.23 SD 4.39	26.73 SD 4.61	Ns
Бъбречна биопсия					
Остро отхвърляне	11.5	10.5	7.4	16.7	Ns
Хронично отхвърляне	6.5	3.5	13.2	10.0	Ns
Хронична нефропатия	13.4	7.9	5.9	6.7	Ns
ГН (релапс или de	3.8	3.5	4.4	10	Ns

ново)					
CNI токсичност	4.6	2.6	5.9	10	Ns
eGFR 12 месец	64.01 SD 20.08	63.37 SD 20.21	56.98 SD 20.8	59.58 SD 21.375	Ns
Отложена функция %	17.9	28.1	28.5	36.7	
Хемоглобин	133.96 SD 20.1	133.1 SD 20.9	131.91 SD 21.01	129.93 SD 23.04	Ns
ЗД	18 (6,9%)	<b>20 (17,7%)</b>	6 (8,8%)	<b>7 (23,3%)</b>	<b>0,007</b>
СС усложнения	36 (13,7%)	19 (16,7%)	8 (11,8%)	<b>9 (30%)</b>	<b>0,046</b>
Протеинурия на 12 месец	0.194 SD 0.178	0.325 SD 0.346	0.407 SD 0.512	<b>1.22 SD</b> <b>2.602</b>	<0.001
Терапия с ACEinh/ARB	48.5	42.1	50	50	

таблица 4 Обща характеристика на пациентите на трети месец от БТ.

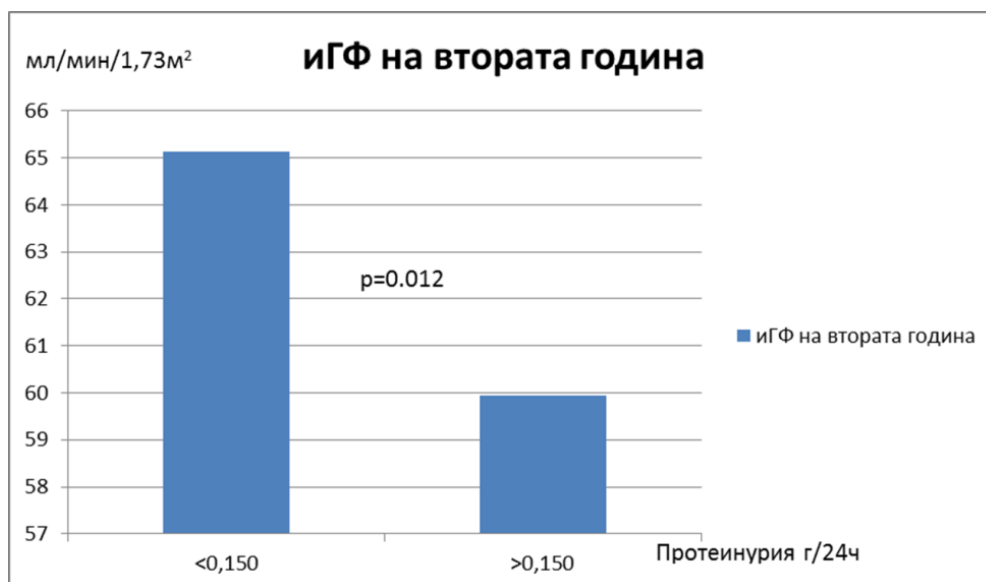
На таблица 5 са представени характеристиките на апротеинуричните пациенти, тези с протеинрия 0,15-0,5г/24ч, 0,5-1,0г/24ч и над 1г/24ч. Установи се значимо по-висок процент на захарния диабет и съредносъдовите усложнения при пациентите с протеинурия над 1г/24ч. Пациентите с нискостепенна протеинурия са имали значимо по-високо систолно налягане от апротеинуричните пациенти.

При пациентите с протеинурия на трети, останали протеинурични на първата година като причини за протеинурията биопсично са установени специфични за

графта причини – 38% разделени между остра реакция за отхвърляне, гломеруллопатия, хронична реакция за отхвърляне, хронична нефропатия. В голям процент от случаите причината може да остане неизяснена (фиг 10).



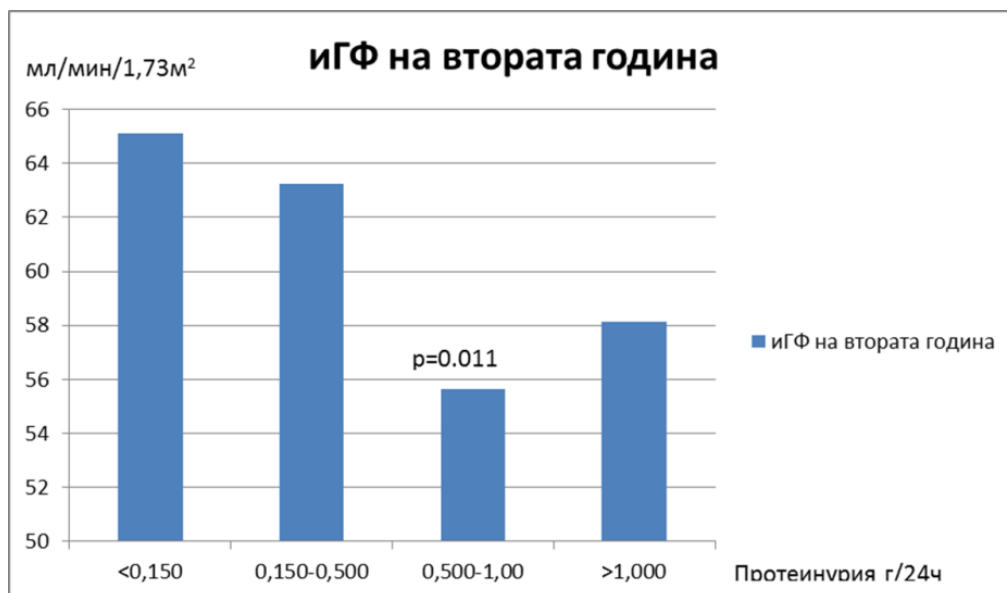
фигура 5 Процентно разпределение на причините за протеинурия на първата година.



фигура 6 Разлика в бъбречна функция на втората година при пациенти с и без протеинурия.

На фиг. 11 е представена статистически значима разлика в бъбречната функция на втората година при наличие на протеинурия на 3ти месец ( $p=0,012$ ).

При разделяне на пациентите според степента на протеинурията, с най-ниска бъбречна функция са пациентите с протеинурия в рамките 0,5-1,0г/24ч. (Фиг 12)



**фигура 7 Бъбречна функция на втората година според степента на протеинурията**

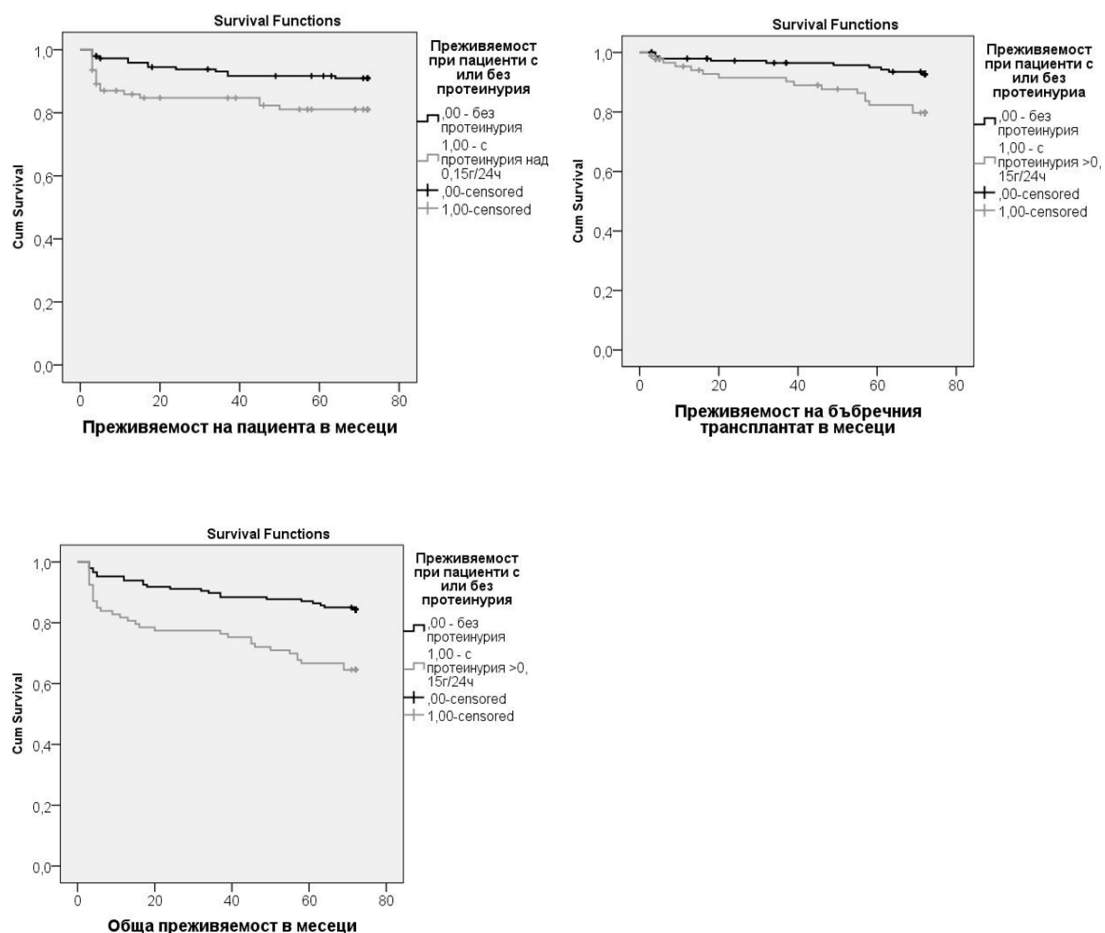
Не се установи статистически значима разлика в eGFR между апротеинурични пациенти и тези с протеинурия 0,15-,05 г/24ч.

Изводи:

1. Установи се статистически значима разлика на втората година между апротеинуричните пациенти и тези с протеинурия над 0,15г/24ч.
2. В изследваната полпулация пациенти не се установи статистически значима разлика в бъбречната функция при нискостепенна протеинурия – до 0,5г/24ч.
3. В голям процент от случаите причината за протеинурия на трети месец може да остане неизяснена.

В проучване на ефекта на протеинурията на трети месец върху преживяемостта на пациента и графта се установи статистически значимо по-ниска преживяемост на шестата година при протеинуричните пациенти на

3ти месец (Фиг 13).



фигура 8 Преживяемост при протеинурия на 3ти месец.

Характеристиките на пациентите са представени на табл 6.

Показател	Протеинурия под 0.15g/24h	Протеинурия над 0.15g/24h	Стойност на p
БРОЙ	147	93	
ВЪЗРАСТ	36.90 SD 13.108	41.15 SD 12.546	0.016
ПОЛ			0.202

Мъже	95 (64.6%)	68 (73.1%)	
Жени	52 (35.4%)	25 (26.9%)	
Месеца на ХД	38.55 SD 35.172	39.63 SD 39.458	0.826
Тип донор			0.065
Трупен	55 (37.4%)	37 (39.8%)	
Жив	92 (62.6%)	56 (60.2%)	
Донор възраст	<b>39.71 SD 13.936</b>	<b>44.69 SD 11.075</b>	<b>0.032</b>
Донор пол			0.329
Мъже	88 (59.9%)	48 (51.6%)	
Жени	59 (40.1%)	45 (48.4%)	
HLA несъвпадения	<b>3.34 SD 1.078</b>	<b>2.67 SD 1.33</b>	<b>0.040</b>
Алоантитела	30 (20.4%)	13 (14%)	0.206
Систолно налягане	129.31 SD 15.134	131.98 SD 16.105	0.200
Диастолно налягане	82.07 SD 9.567	82.53 SD 12.096	0.747
ИТМ	24.56 SD 5.25	24.88 SD 4.06	0.612
Бъбречна биопсия	57 (38.78%)	32 (34.41%)	0.487
Остро отхвърляне	15 (26.32%)	10 (31.25%)	Ns
Хронично отхвърляне	9 (15.78%)	8 (25%)	Ns
Хронична нефропатия	18 (31.58%)	5 (15.62%)	Ns
Калциневринова токсичност	8 (14.04%)	3 (9.38%)	Ns
ГН (релапс или de novo)	7 (12.28%)	6(18.75%)	Ns
eGFR на 3ти месец	<b>59.48 SD 22.51</b>	<b>50.88 SD 23.056</b>	<b>0.005</b>
eGFR на 12ти месец	<b>60.03 SD 19.39</b>	<b>52.74 SD 19.31</b>	<b>0.009</b>
eGFR на 24ти месец	<b>61.05 SD 18.26</b>	<b>52.81 SD 19.31</b>	<b>0.002</b>
eGFR на 36ти месец	<b>60.23 SD 20.55</b>	<b>53.17 SD 20.94</b>	<b>0.021</b>

еGFR на 60ти месец	59.67 SD 21.33	54.89 SD 18.54	0.133
Хемоглобин	136.16 SD 17.71	132.97 SD 15.86	0.244
Отложена функция	<b>22 (15%)</b>	<b>29 (31.2%)</b>	<b>0.003</b>
Имуносупресия			
КС	101 (68.7%)	74 (79.6%)	0.065
AZA	14 (9.5%)	12 (12.9%)	0.412
MMF	116 (78.9%)	79 (84.9%)	0.243
CsA	68 (46.3%)	49 (52.7%)	0.332
Tacrolimus	62 (42.2%)	35 (37.6%)	0.063
mTORinhibitor	19 (12.9%)	9 (9.7%)	0.187

таблица 5 Характеристика на пациентите.

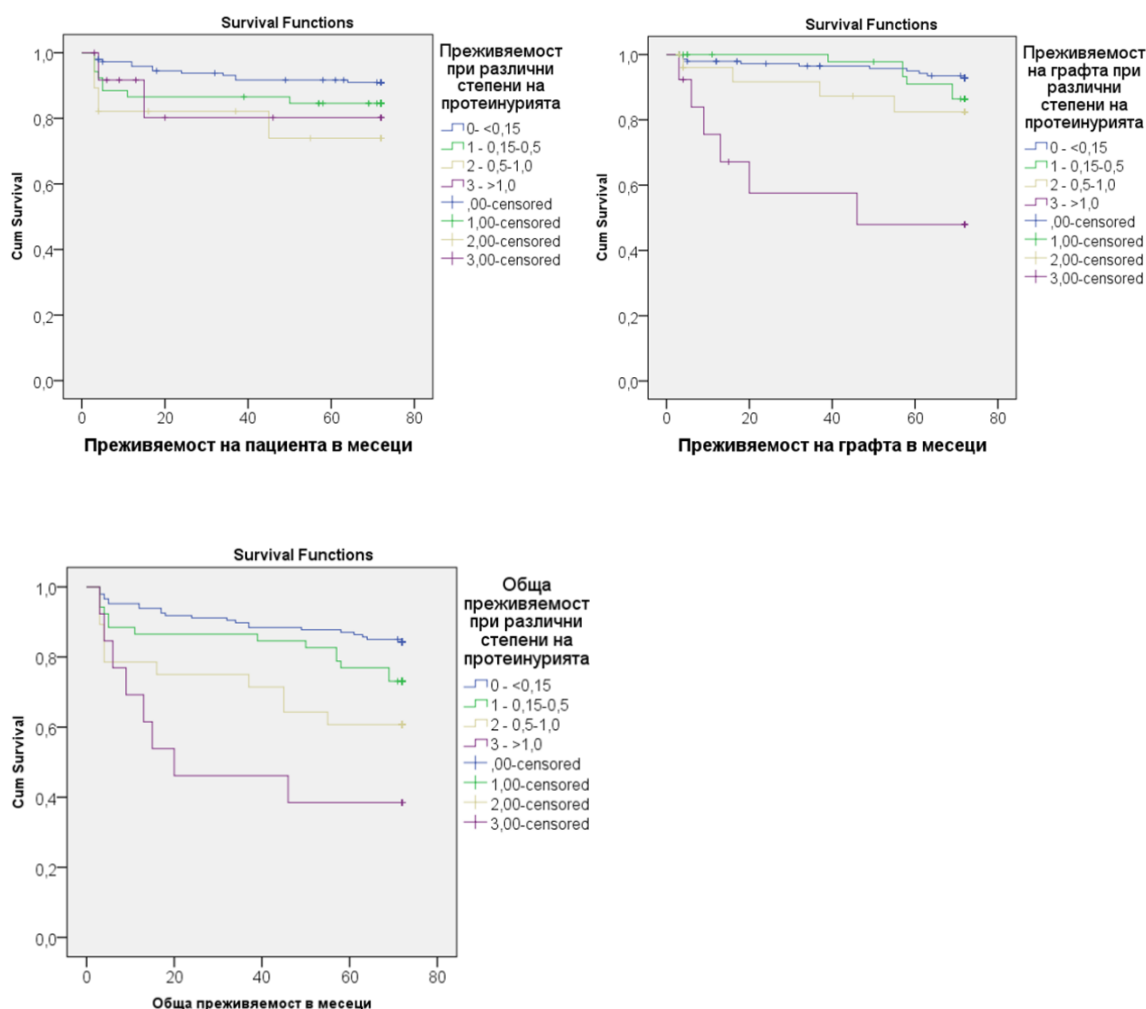
От проведеното проучване и сравнението на двете групи пациенти се установи значима разлика във възрастта на пациента и донора, като в групата с протеинурия над 0,15г/24ч пациентите и донорите са били значимо по-възрастни. Тази група пациенти са били и с по-висока честота на отложена функция на графта, както и с по-ниска изчислена ГФ във всеки от изследваните моменти след БТ. Пациентите с протеинурия под 0,15г/24ч са имали повече несъвпадения по HLA. Всеки от тези фактори е заложен в проведените анализи и при наличие на влияние е отразен като резултат в унифакторен или мултифакторен анализ.

Разликата в преживяемостта на пациента при протеинурия на 3ти месец е със статистическа значимост – при протеинурия под 0,15 – 90,9%, а над 0,15 – 81,1%,  $p = 0,021$ . Преживяемостта на графта също се различава значимо – при протеинурия под 0,15г/24ч - 92,7%, а при протеинурия над 0,15г/24ч - 79,7%,



$p=0.004$ . Разликата в общата преживяемост –  $p<0.001$ , при протеинурия под 0,15г/24ч - 84,3%, а при протеинурия над 0,15г/24ч - 64,5%.

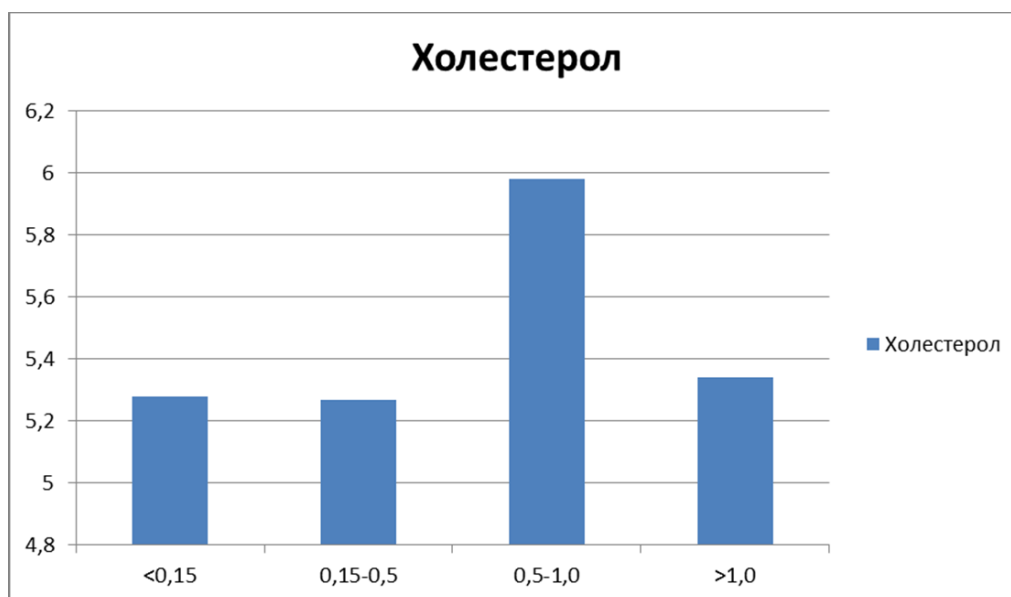
При разделяне на протеинурията на степени, преживяемостта на графта е пропорционално намалена според степента на протеинурията, докато при пациентите преживяемостта е по-ниска при протеинурия в рамките на 0,5-1,0 г/24ч, отколкото при протеинурия над 1 г/24ч. (Фиг 14)



**фигура 9 Преживяемост на графт и пациент при различни степени на протеинурия.**

При равни други условия, пациентите с протеинурия между 0,5 и 1,0 г/24ч са с по-високи нива на холестерол (5,98 SD 1,51,  $p=0.047$ ) в сравнение с останалите

пациенти – при протеинурия под 0,15г/24ч 5,28 SD 1,26, при протеинурия между 0,15 и 0,5г/24ч 5,27 SD 1,18, при протеинурия над 1,0г/24ч 5,34 SD 1,62 (фиг 15).



**фигура 10 Разлика в нивата на холестерола при пациенти с различна по степен протеинова екскреция.**

Пациентите с протеинурия между 0,5 и 1,0г/24ч са получавали лечение със статин в по-малък процент – (26,9%) в сравнение с пациентите с протеинурия над 1г/24ч (38,5%).

При провеждане на унифакторен анализ, показателите, значимо повлияващи преживяемостта на пациента са предствени на табл. 7.

Factor	HR	P value	95% CI
eGFR на 3ти месец (над 56ml/min/1,73m <sup>2</sup> )	0.977	0.015	0.959 to 0.995
Протеинурия 0.5-1,0g/24h на 3ти месец	3,232	0.012	1.288 to 8,106
Corticosteroid	5.785	0.017	1.378 to 24.293
Tacrolimus	0.266	0.007	0.102 to 0.696
Cyclosporin A	2.795	0.010	1.279 to 6.106
Azathioprine	3.800	0.001	1.684 to 8.574
ACEinh/ARB	0.396	0.020	0.182 to 0.866
Nondihydropyridine CCBs	4.546	0.001	1.853 to 11.150
ЗД	3.212	0.003	1.470 to 7.017

**таблица 6 Унифакторен анализ – преживяемост на пациент**

От мултифакторния Cox регресионен анализ, значими останаха:

1. ЗД (HR 3.682, 95% CI 1.610 to 8.422, p=0.002)
2. Лечение с ACE инхибитор/ARB (HR 0.437, 95% CI 0.198 to 0.967, p=0.041)
3. Лечение с КС (HR 5.126, 95% CI 1.194 to 22.016, p=0.028)

При провеждане на унифакторен анализ, показателите, значимо повлияващи преживяемостта на графта са предствени на табл. 8.

Factor	HR	P value	95% CI
eGFR на 3ти месец ( над 56ml/min/1,73m2)	0.958	<0.001	0.936 to 0.980
Протеинурия на 3ти месец (над 0.338g/d)	2.924	<0.001	1.915 to 4.466
Алоантитела	3.214	0.003	1.476 to 7.000
Corticosteroid	3.426	0.045	1.028 to 11.413
Cyclosporin A	2.876	0.013	1.250 to 6.616
Azathioprine	4.720	<0.001	1.975 to 11.280
Систолно налягане (над 130.339)	1.024	0.038	1.001 to 1.046
Диастолно налягане (над 82,246)	1.043	0.015	1.008 to 1.080

#### таблица 7 Унифакторен анализ – преживяемост на графта

От мултифакторния Cox регресионен анализ, значими останаха:

1. Алоантитела (HR 2.471, 95% CI 1.056 to 5.786, p=0.037)
2. Протеинурия на 3ти месец (HR 3.866, 95% CI 1.968 to 7.598, p<0.001)

При провеждане на унифакторен анализ, показателите, значимо повлияващи общата преживяемост са предствени на табл. 9.

Factor	HR	P value	95% CI
eGFR на 3ти месец ( над 56ml/min/1,73m2)	0.969	<0.001	0.955 to 0.983
Proteinuria на 3ти месец (над 0.338g/d)	2.242	<0.001	1.576 to 3.190
Corticosteroid	5,785	0,017	1,378 to 24,293
Tacrolimus	0.352	0.001	0.186 to 0.666
Cyclosporin A	2.832	<0.001	1.602 to 5.009
Azathioprine	4.193	<0.001	2.312 to 7.604
MMF	0.466	0.009	0.263 to 0.824
ACEinh/ARB	0.503	0.014	0.291 to 0.869
Nondihydropyridine CCBs	3.798	<0.001	1.857 to 7.767
Diabetes	2.363	0.007	1.270 to 4.397
Statin use	0.221	0.004	0.060 to 0.611

#### таблица 8 Унифакторен анализ – обща преживяемост.

От мултифакторния Cox регресионен анализ, значими останаха:

1. Протеинурия на 3ти месец (HR 1.718, 95% CI 1.072 to 2.752, p=0.024)
2. Терапия с КС (HR 4.399, 95% CI 1.703 to 11.362, p=0.002)
3. ЗД (HR 3.107, 95% CI 1.597 to 6.048, p=0.001)
4. eGFR на 3ти месец (HR 0.985, 95% CI 0.970 to 1.000, p=0.046)
5. Лечение със статини (HR 0.206, 95% CI 0.072 to 0.590, p=0.003)

#### ИЗВОДИ:

1. Установи се статистически значима разлика на втората година между апротеинуричните пациенти и тези с протеинурия над 0,15г/24ч.
2. Установи се статистически значимо по-ниска преживяемост на пациента и графта на шестата година при протеинуричните пациенти на 3ти месец.
3. Установи се значимо по-малък процент пациенти с протеинурия между 0,5 и 1г/24ч, лекувани със статин, като при тези пациенти е наблюдавана по-лоша бъбречна функция на втората година и по-лоша преживяемост на 6тата година.
4. Негативно влияние върху общата 6-годишна преживяемост имат протеинурията на 3ти месец, наличието на ЗД и терапията с КС.
5. Протективно влияние върху общата преживяемост имат иГФ над 56мл/мин/1,73м<sup>2</sup> и лечението със статини.

## РЕТРОСПЕКТИВНО ЛОНГИТУДИНАЛНО ПРОУЧВАНЕ ЗА ЕФЕКТА НА mTOR ИНХИБИТОРИТЕ ВЪРХУ ПРОТЕИНУРИЯТА СЛЕД БЪБРЕЧНА ТРАНСПЛАНТАЦИЯ

Проведе се ретроспективно проучване, включващо 67 бъбречно трансплатирани пациенти с функциониращ графт на лечение с mTOR инхибитор – еверолимус или сиролимус. Изследваните пациенти са лекувани поне 12 месеца. Проследени са бъбречната функция (изчислена скорост на гломерулна филтрация – estimated glomerular filtration rate –eGFR) и протеинурията един месец преди промяната на терапията (с изключение на пациентите, започнали терапия с mTOR инхибитор първично), един месец след промяната, на 6ти, 12ти, 36ти и 60ти месец след промяната в лечението. Изследвана е промяната в eGFR общо за всички включени пациенти и след разделянето им в две групи- започнали лечение при eGFR под 40ml/min/1,73m<sup>2</sup> и при eGFR над 40 ml/min/1,73m<sup>2</sup>. Изследвано е влиянието на протеинурията върху изчислената гломерулна филтрация 6, 12, 24, 36 и 60 месеца след включването на mTOR инхибитор. Според появата на протеинурия или влошаване на съществуваща такава, пациентите са разделени в две групи. Сравнена е и гломерулната филтрация и протеинурията при първично лечение с mTOR инхибитор и след преминаване от лечение със CNI. Стойности на протеинурията над 0,15 г/24ч са приети за патологични. Определиха се рисковите фактори за развитие на протеинурия след започване на терапия с mTOR инхибитор, както и значението на терапията с ACEinh/ARB преди и след започване на лечение с mTOR инхибитор.

Началната дозировка на еверолимус е 0,75мг два пъти дневно с проследяване на кръвните нива веднъж седмично в първия месец до достигане на стабилно прицелно C0 ниво 3-8 мкг/л. При терапия със сиролимус, началната доза е 2 mg веднъж дневно с таргетни кръвни нива 8-12 мкг/л за първите 6 месеца, след което 5-8 мкг/л. При постепенно преминаване от терапия със CNI към mTOR инхибитор, дозата на CNI е намалявана с 25% на всеки 2 седмици до пълното изключване на медикамента от терапевтичния режим. При минимизиране на CNI таргетните нива на циклоспорин А са под 50 мкг/л, а на такролимус 2-4мкг/л. Всички нива са изследвани с течна хроматография в цяла кръв.

Пациентите са проследявани ежеседмично за първия месец, веднъж месечно за 3 месеца, след което на всеки три месеца при стабилни показатели и липса на усложнения. Скоростта на гломерулна филтрация е изчислена по MDRD формула, а серумният креатинин е изследван по ензимен метод. При всички пациенти протеинурията е определена след 24-часова колекция на урина.

## РЕЗУЛТАТИ

Характеристиките на пациентите са представени на табл 10. В изследваната популация пациенти 42 са мъже (62,6%), а 25 жени (37,3%). Средната продължителност на проследяването е 41,6+-8,5 месеца. Преди започване на терапията с mTOR инхибитор пациентите са били трансплантирани средно 118,8+-77,6 месеца. Средната възраст на пациентите – 45,8+-12 години. Средна продължителност на диализното лечение, преди провеждането на бъбречна трансплантация – 41+-28,3 месеца. От трупен донор са трансплантирани 27 пациенти (40,3%), а от жив донор – 40 пациенти(59,7%) – 23 (34,3%) от жив

родствен и 17 (25,3%) от жив неродствен донор. Броят HLA мисмачове е 3 (2-4), а средната възраст на донора- 45.6 ±14.8 години. При 33 пациенти е проведена пункционна бъбречна биопсия (ПББ) преди промяната на терапията, като резултатите са били доказана CNI токсичност при 11 (33,3%) пациенти, при 12 (36,4%) –хорнична нефропатия на трансплантата, при 4 (12,1%)– обострена хронична реакция за отхвърляне, а при 5 (15,2%%) – остра реакция за отхвърляне на трансплантата. При 19 пациенти е изключен КС от ИС режим. При 24 (35,8%) пациенти mTOR инхибитор е включен поради наличие на туморно заболяване, при 26 (38,8%)– поради токсичност на CNI, при 6 (8,9%) лечението е започнато първично, а при 11 (16,1%) поради хепатотоксичност от MMF, наличие на активна HCV или HBV инфекция. При 22 (32,8%) пациенти се прилага комбинация между mTOR и CNI – такролимус и сиролимус (4), такролимус и еверолимус (4), циклоспорин А и сиролимус (8), циклоспорин А и еверолимус (6).



ПАРАМЕТЪР	СТОЙНОСТ
ОБЩ БРОЙ	67
Мъже %	62,6
Продължителност на проследяването месеци	41,6 SD 8.5
Продължителност на трансплантацията преди започване на лечението	118,8 SD 77.6
Възраст	45,8 SD 12
Месеца на ХД	41 SD 28.3
Тип донор	
Трупен %	40,4
Жив родствен %	34,3
Жив неродствен %	25,3
Донор възраст	45,6 SD 14.8
HLA несъвпадения	
eGFR MDRD преди започване на mTOR	55 SD 16
Апротеинурични % преди началото	62,7

**таблица 9 Характеристика на пациентите на лечение с mTOR инхибитор.**

От проведения статистически анализ се установи значимо повишаване на скоростта на гломерулна филтрация (eGFR) на 6ти, 12ти и 36ти месец след началото на лечение с mTOR инхибитор (табл 11).

Paired Samples Test									
		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	eGFR-преди промяната - eGFR-на 1ви месец	-3,2742	13,5745	1,7240	-6,7215	,1731	-1,899	61	,062
Pair 2	eGFR-преди промяната – eGFR-на 6ти месец	-3,6935	12,5849	1,5983	-6,8895	-,4976	-2,311	61	<b>,024</b>

Pair 3	еGFR-преди промяната – еGFR- на 12ти месец	-4,0484	13,1802	1,6739	-7,3955	-,7012	-2,419	61	<b>,019</b>
Pair 4	еGFR-преди промяната – еGFR- на 18ти месец	-4,2679	15,9915	2,1369	-8,5504	,0147	-1,997	55	,051
Pair 5	еGFR-преди промяната – еGFR- на 24ти месец	-3,3061	15,6833	2,2405	-7,8109	1,1987	-1,476	48	,147
Pair 6	еGFR-преди промяната – еGFR- на 36ти месец	-3,7778	12,4278	1,8526	-7,5115	-,0441	-2,039	44	<b>,047</b>
Pair 7	еGFR-преди промяната – еGFR- на 60ти месец	-2,8387	13,8879	2,4943	-7,9328	2,2554	-1,138	30	,264

**таблица 10 Промяна в бъбречната функция след започване на лечение с mTOR инхибитор**

Преди започване на терапията средната стойност на гломерулна филтрация, изчислена по MDRD формула, е  $55 \pm 16$  мл/мин/1,73м<sup>2</sup>. Скоростта на гломерулна филтрация показва статистически значимо покачване на 6ти, 12ти и 36ти месец след промяната на терапията –  $59 \pm 16$ ,  $59 \pm 17$  и  $56 \pm 18$  мл/мин/1,73м<sup>2</sup> ( $p=0.019$ ,  $p=0.024$  и  $p=0,047$ , съответно), след което стойностите остават стабилни, но се губи статистически значимата разлика с изходното ниво /табл. 11/.

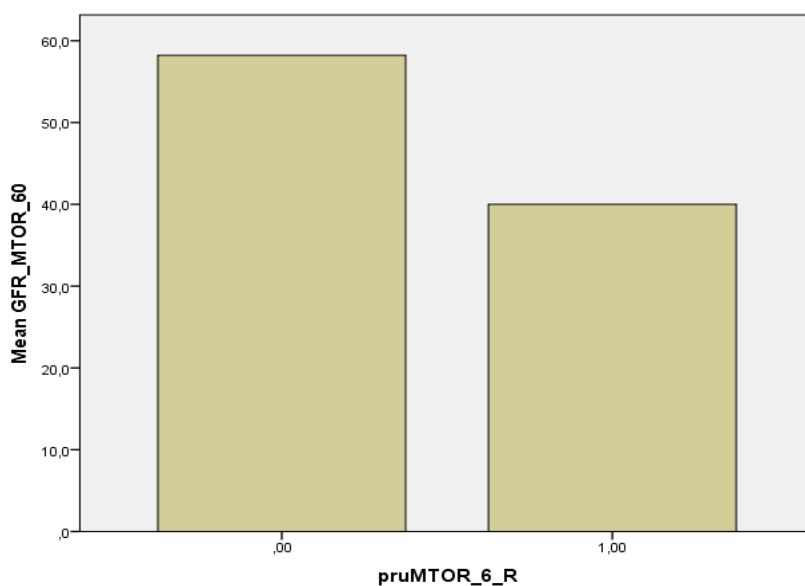
При разделяне на пациентите в две групи – започнали терапия при еGFR под 40мл/мин/1,73м<sup>2</sup> и започнали терапия при еGFR над 40 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>, се установи повишаване на еGFR – на 6ти месец при пациентите с изходна

скорост на гломерулна филтрация над 40мл/мин/1,73м<sup>2</sup> от 59,7 SD 13,6 мл/мин на 62,3 SD 14мл/мин; при пациентите с начална eGFR под 40мл/мин/1,73м<sup>2</sup> – от 34 SD 4мл/мин на 42,5 SD 16мл/мин. В нито една от групите не се установи статистическа значимост ( $p > 0.05$ ). При пациентите, преминали на лечение при eGFR под 40мл/мин/1,73м<sup>2</sup> не се установи статистически значимо повишаване на протеинурията след промяната ( $p = 0.77$ ). Статистически значимо повишаване на протеинурията има при пациентите, започнали лечение при eGFR над 40мл/мин/1,73м<sup>2</sup> ( $p = 0.011$ ).

Общо 42 пациенти 62,7% са били апротеинурични ( $< 0,15\text{г}/24\text{ч}$ ), 15 от тях (37,5%) развиват протеинурия 6 месеца след конверсията към mTOR инхибитор, като при трима протеинурията е над 1г/24ч. 14 пациенти (20,9%) са имали минимална протеинурия до 0,3г/24ч преди започване на лечение с mTOR инхибитор. Протеинурия до 1г/24ч преди промяната на терапията са имали 8 пациенти (11,9%). Преди включване на mTOR инхибитор трима пациенти са имали протеинурия над 1г/24ч – съответно 1,1г, 1,17г и 1,189 г/24ч. При двама от пациентите протеинурията нараства над 2 г/24ч, като при единия достига 3,38г/24ч на втората година, а при другия нараства до 2,6г/24ч на 18 ти месец. При третия пациент се забелязва намаляване на протеинурията, като тя достига стойности под 0,5г/24ч на 60ти месец от началото на лечението с mTOR инхибитор. И тримата не са приемали ACE/ARB преди промяната на ИС терапия, като тези медикаменти са включение в рамките на първия месец след промяната. От протеинуричните пациенти 5 развиват протеинурия над 1г/24ч на 6 месец, а на 12 месец са 9. Доказа се статистически значимо нарастване на броя протеинурични пациенти ( $p < 0.001$ ), както и повишаване на протеинурията след преминаване към лечение с mTOR инхибитор още на 6ти месец след промяната в корелационния анализ ( $p < 0.001$ , коеф. на корелация 0,479).

Пациентите, лекувани първично с mTOR инхибитор са 6, като само 1 от тях е апротеинуричен на 12 месец след бъбречната трансплантация, а един пациент развива високостепенна протеинурия – 4,8г/24ч.

Няма разлика в бъбречната функция на протеинуричните и апротеинуричните пациенти преди включване на mTOR инхибитор ( $p>0.05$ ). Не се установи и значима разлика във функцията на графта на 6ти, 12ти, 24ти, 36ти и 60ти месец след промяната между протеинурични и апротеинурични пациенти ( $p>0.05$ ). В изследваната популация пациенти се установи статистически значима разлика в eGFR на 60ти месец (5та година) след промяната в лечението между протеинуричните и апротеинуричните пациенти на 6ти месец след започване на терапията с mTOR инхибитор ( $p=0.02$ ) Фиг 16.

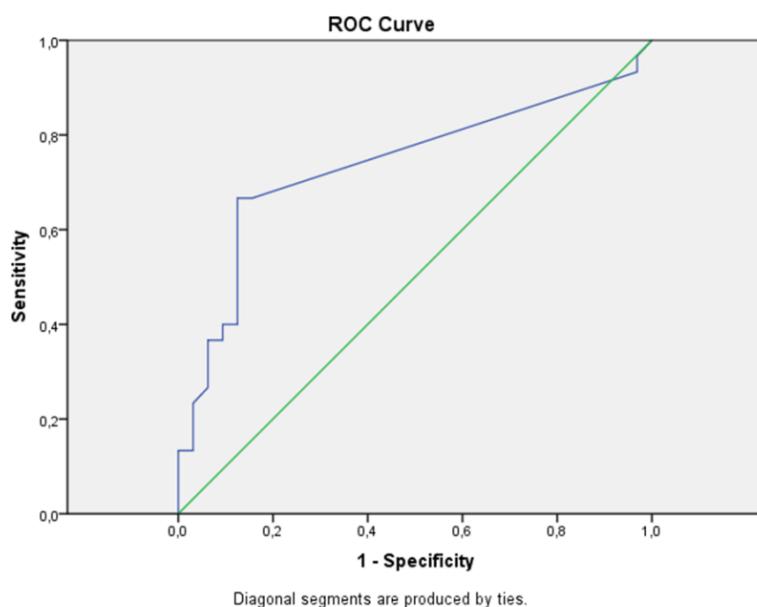


**фигура 11 Бъбречната функция на 5тата година е статистически значимо по-ниска при пациентите, които са развили протеинурия на 6ти месец след започване на терапията с mTOR инхибитор.**

Не се установи статистически значима разлика в eGFR и протеинурията на 1ви, 6ти, 12ти и 18ти месец между пациентите, започнали първично лечение с mTOR инхибитор, и тези, които са преминали от лечение с CNIs ( $p>0.05$ ).

Няма статистическа разлика в броя протеинурични пациенти и скоростта на гломерулна филтрация между пациентите на лечение с everolimus или sirolimus ( $p>0.2$ ).

От проведения ROC анализ, единственият фактор предвиждаш наличие на протеинурия на 6 месец след започване на терапия с mTOR инхибитор, е протеинурията преди започване на лечението ( $p=0.001$ ). Като значима стойност, предвиждаща наличие и/или увеличние на протеинуртаия с достатъчна специфичност и чувствителност, се определи 0,164г/24ч (Фиг. 17). Други изследвани фактори - пол, възраст, време от провеждане на бъбречната трансплантация до началото на лечение с mTOR инхибитор, изчислена гломерулна филтрация, тип донор нямат статичстически значимо влияние върху развитието на протеинурия.



**фигура 12 ROC – крива**

Протективен фактор за развитие на протеинурия на бти месец е терапията с ACEинхибитор/ARB преди започване на лечение с mTOR инхибитор ( $p=0,006$ , HR 0,372, CI 0,184-0,751). Наличието на ACE/ARB в терапията на пациентите

преди започване на лечение с mTOR е свързано и със статистически значимо по-ниска протеинурия на 1ви, 6ти, 12ти, 18ти и 24ти месец, като преди започване на лечението с mTOR не е имало разлика в протеинурията. След 24ти месец (втората година от терапията) тази значимост се губи (Табл 12).

Test Statistics <sup>a</sup>								
	pruMTOR_0	pruMTOR_1	pruMTOR_12	pruMTOR_18	pruMTOR_24	pruMTOR_36	pruMTOR_6	pruMTOR_60
Mann-Whitney U	408,500	376,500	369,000	257,500	202,000	204,000	331,500	74,000
Wilcoxon W	1188,500	1156,500	1149,000	923,500	698,000	639,000	1111,500	95,000
Z	-.638	-2,259	-2,328	-2,531	-2,140	-.981	-2,858	-.051
Asymp. Sig. (2-tailed)	,524	,024	,020	,011	,032	,326	,004	,959
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]								,981 <sup>b</sup>
Exact Sig. (2-tailed)	<b>,529</b>	<b>,023</b>	<b>,019</b>	<b>,011</b>	<b>,032</b>	<b>,333</b>	<b>,004</b>	<b>,973</b>
Exact Sig. (1-tailed)	,264	,012	,010	,006	,016	,166	,002	,490
Point Probability	,003	,000	,000	,000	,000	,003	,000	,013

a. Grouping Variable: ACE\_ARB\_0\_R

b. Not corrected for ties.

**таблица 11 Mann-Whitney U test и статистически значимо по-ниска протеинурия още на 1ви месец при пациентите, протемали ACEinh/ARB преди започване на лечението с mTOR инхибитор.**

Изводи:

1. Установи се значимо повишаване в броя на протеинуричните пациенти и степента на протеинурия след преминаване на лечение с mTOR инхибитор.
2. Протеинурията на 6 месец след началото на лечение е свързана със статистически значима по-ниска изчислена скорост на гломерулна филтрация на 60 месец след началото на лечение с mTOR инхибитор.

3. Установи се значимо повишаване на изчислената гломерулна филтрация на 6ти, 12ти и 36ти месец след промяна на терапията с включване на mTOR инхибитор, като статистическата значимост се губи на 60ти месец.
4. Предиктор за наличието на протеинурия на 6ти месец е наличието на протеинурия над 0,164г/24ч преди включването на mTOR инхибитор в ИС режим.
5. Не се установява значима разлика в eGFR след промяната в лечението при разделяне на пациентите в две групи – започнали лечение при eGFR под 40мл/мин/1,73м<sup>2</sup> и при eGFR над 40мл/мин/1,73м<sup>2</sup>. Вероятна причина за липсата на статистическа значимост е малкият брой пациенти, особено в групата с eGFR под 40мл/мин/1,73м<sup>2</sup> (N=12).
6. Наличието на CNI в имunosупресивния режим не води до статистически значимо понижения на честотата и степента на протенурията в изследваната популация пациенти. Този резултат противоречи на установеното от други автори и може да се дължи на малкия брой пациенти.
7. Не се установи статистически значима разлика в eGFR и протеинурия при пациенти, започнали първично лечение с mTOR инхибитори и такива с по-късно превключване на 1ви, 6ти, 12ти и 18ти месец.
8. Наличието на ACEinh/ARB в терапията на пациентите преди започване на лечение с mTOR инхибитор е свързано със статистически значимо по-ниска протеинурия на 1ви, 6ти, 12ти, 18ти и 24ти месец, както и със значима протективна роля за развитието на протеинурия.

РЕТРОСПЕКТИВНО ЛОНГИТУДИНАЛНО ПРОУЧВАНЕ НА ЕФЕКТА ОТ ЛЕЧЕНИЕ С ACEinh/ARB И СРАВНЕНИЕТО ИМ С КАЛЦИЕВИ АНТАГОНИСТИ ИЛИ КОМБИНАЦИЯ ОТ ДВЕТЕ ГРУПИ МЕДИКАМЕНТИ

Характеристика на пациентите, включени в проучването е направена на таблица 13.

Характеристики на пациентите	ACEinh/ARB (a)	CCB (b)	Combination (c)	P value
Общ брой	143	74	72	
Възраст	44.75 12.071	SD 46.15 12.134	SD 47.40 10.977	p(a-b)=0.687 p(a-c)=0.268 p(b-c)=0.798
Процент мъже %	89 (62.2%)	50 (66.7%)	53 (74.6%)	p=0.074
Месеца след БТ	42.21 SD 57.4	33.42 SD 55.19	32.78 SD 48.36	p(a-b)=0.503, p(a-c)=0.477, p(b-c)=0.0.997
Месеца на диализно лечение преди БТ	<b>31.73</b> <b>27.92</b>	<b>SD 44.03</b> <b>SD 37.436</b>	<b>SD 36.14</b> <b>SD 30.809</b>	<b>p(a-b)=0.018</b> p(a-c)=0.597 p(b-c)=0.285
eGFR в началото на терапията	59.86 SD 21.289	57.77 SD 23.489	57.51 SD 18.126	p(a-b)=0.770, p(a-c)=0.723, p(b-c)=0.997
eGFR след 12 месеца	58.03 SD 17.041	57.53 SD 21.012	59.39 SD 16.369	p(a-b)=0.979, p(a-c)=0.860, p(b-c)=0.806
eGFR след 24 месеца	59.11 SD 18.621	57.45 SD 20.588	56.52 SD 16.613	p(a-b)=0.855, p(a-c)=0.637, p(b-c)=0.963
eGFR след 36 месеца	59.40 SD 18.900	59.92 SD 23.330	56.87 SD 15.078	p(a-b)=0.988, p(a-c)=0.689, p(b-c)=0.728
Протеинурия в началото на терапията	0.479 SD 0.595	0.523 SD 0.742	0.524 SD 0.633	p(a-b)=0.885, p(a-c)=0.881, p(b-c)=1.000
Протеинурия след 12 месеца	<b>0.294</b> <b>0.337</b>	<b>SD 0.614</b> <b>SD 1.28</b>	<b>SD 0.550</b> <b>SD 1.168</b>	<b>p(a-b)=0.037</b> , p(a-c)=0.124, p(b-c)=0.902
Протеинурия след 24 месеца	0.364 SD 0.514	0.417 SD 0.580	0.595 SD 1.838	p(a-b)=0.951, p(a-c)=0.320, p(b-c)=0.640
Протеинурия след 36 месеца	0.327 SD 0.437	0.341 SD 0.494	0.366 SD 0.531	p(a-b)=0.989, p(a-c)=0.870, p(b-c)=0.964

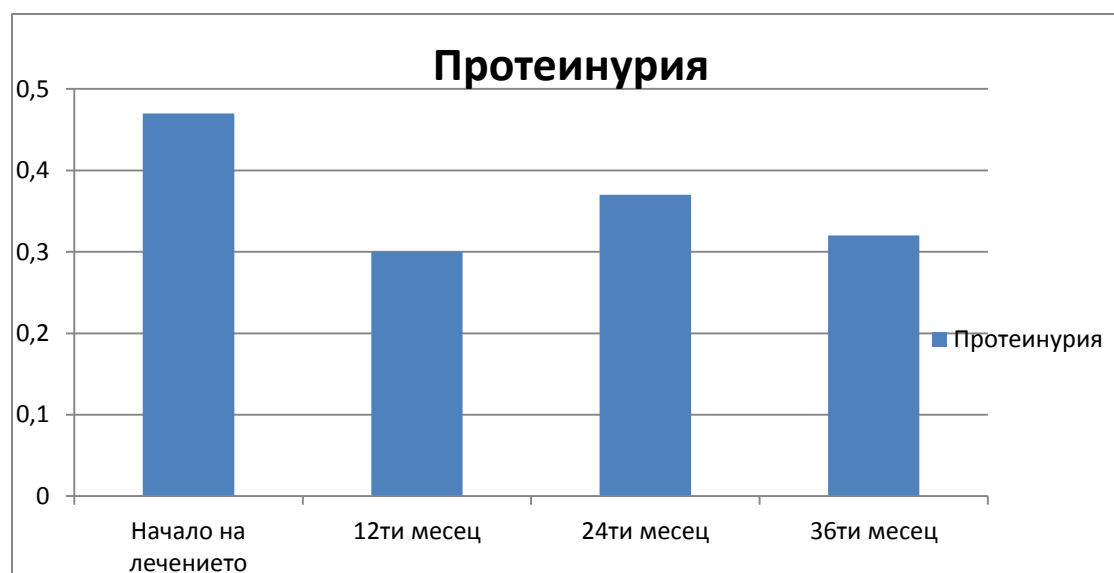


Хемоглобин в началото на терапията	131.27 22.465	SD	125.72 19.32	SD	130.75 22.774	SD	p(a-b)=0.179, p(a-c)=0.985, p(b-c)=0.344
Хемоглобин след 12 месеца	132.31 18.796	SD	138.28 19.574	SD	132.54 16.929	SD	p(a-b)=0.065, p(a-c)=0.996, p(b-c)=0.150
Хемоглобин след 24 месеца	132.9 21.397	SD	139.29 15.341	SD	131.32 15.423	SD	p(a-b)=0.110, p(a-c)=0.320, p(b-c)=0.640
Хемоглобин след 36 месеца	134.54 SD20.403		137.78 16.806	SD	131.02 14.652	SD	p(a-b)=0.619, p(a-c)=0.473, p(b-c)=0.199
Средна продължителност на лечението в месеци	32.98 7.187	SD	25.95 10.884	SD	31.5 8.648	SD	<b>p(a-b)&lt;0.001</b> , p(a-c)=0.462, <b>p(b-c)&lt;0.001</b>
BMI	25.242 4.905	SD	25.299 4.969	SD	26.307 4.901	SD	p(a-b)=0.996, p(a-c)=0.293, p(b-c)=0.435
HLA несъвпадения	3.44 SD 1.097		2.91 0.944	SD	3.0 SD 1.342		p(a-b)=0.440, p(a-c)=0.565, p(b-c)=0.981
Алоантитела	13 (9.1%)		12 (16.3%)		9 (12.5%)		p(a-b)=0.053, p(a-c)=0.138, p(b-c)=0.288
Донор мъж %	55,3%		52.7%		49.1%		p(a-b)=0.084, p(a-c)=0.063, p(b-c)=0.226
Възраст на донора	<b>41.17</b> <b>13.854</b>	<b>SD</b>	<b>48.17</b> <b>12.117</b>	<b>SD</b>	44.65 14.297	SD	<b>p(a-b)=0.009</b> , p(a-c)=0.289, p(b-c)=0.403
Тип донор - трупен %	55 (44.4%)		49 (49%)		39 (60%)		p(a-b)=0.295, p(a-c)=0.059, p(b-c)=0.285
Систолно АН	129.06 13.557	SD	132.30 16.741	SD	132.71 15.427	SD	p(a-b)=0.283, p(a-c)=0.208, p(b-c)=0.985
Диастолно АН	81.47 11.019	SD	82.97 11.101	SD	82.57 9.605	SD	p(a-b)=0.589, p(a-c)=0.757, p(b-c)=0.972

таблица 12 Обща характеристика на пациентите.

От проведеното проучване и сравнението между трите групи пациенти се установи значима разлика във времето, прекарано на диализа и възрастта на донора между пациентите на самостоятелна терапия с ACEinh/ARB и ССВ. От проведените анализи тези фактори не показаха значение върху наличието или степента на протеинурията.

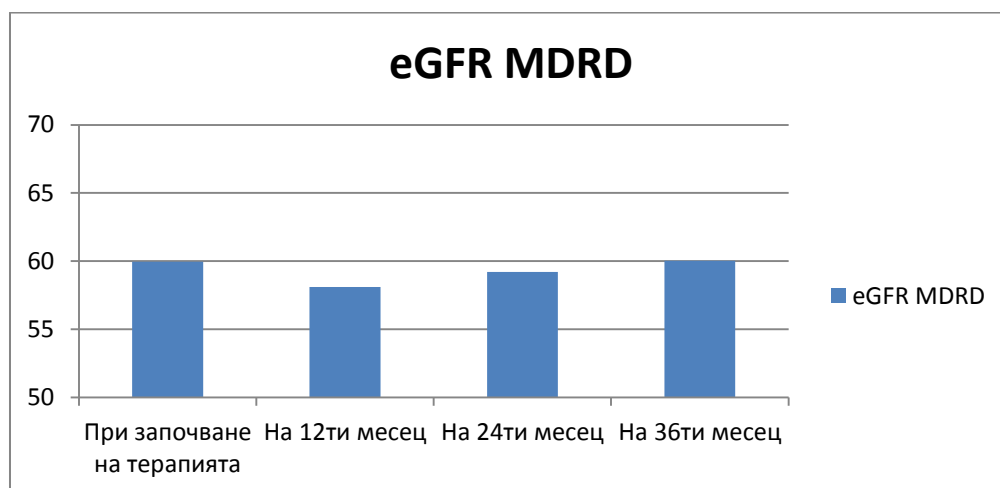
Ефект на лечението с ACEinh/ARB върху протеинурията е представен на фиг. 18.



**фигура 13 Лечението с ACEinh/ARB има статистически значим ефект върху протеинурията.**

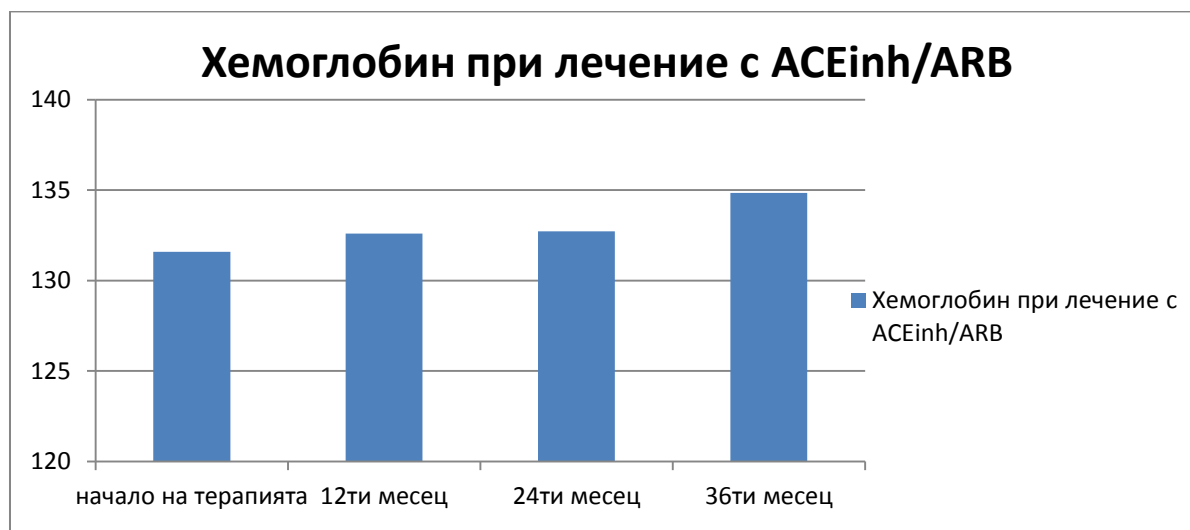
От проведения Wilcoxon Signed rank test се установи значимо намаляване на протеинурията на 12ти ( $p < 0,001$ ) и 24ти месец ( $p = 0,027$ ) след започване на терапията с ACEinh/ARB. Тази статистическа значимост се губи на 36ти месец от терапията.

Няма статистически значима разлика в изчислената скорост на гломерулна филтрация на 12ти, 24ти и 36ти месец след започване на терапията с ACEinh/ARB ( $p=0,131$ ,  $p=0,473$ ,  $p=671$ , съответно) – фиг. 19.



**фигура 14** Промяната на изчислената гломерулна филтрация няма статистическа значимост.

Не се установи статистически значима промяна и в хемоглобиновите нива – фиг. 20.



**фигура 15** Промяната в хемоглобина след започване на терапия с ACEinh/ARB не е статистически значима.

При 49 БТ пациенти, лечението с ACEinh/ARB е започнато в рамките на първите 3 месеца след трансплантацията. От проведения one-way ANOVA и Mann-Whitney Test не се установи статистически значима разлика в eGFR и протеинурията в началото на лечението, на 12ти, 24ти и 36ти месец при ранно започване на лечението в сравнение с по-късно включване на ACEinh/ARB. Установи се статистически значима разлика в нивото на изходния хемоглобин, ойто е бил по-нисък в първите месеи след БТ ( $p < 0,001$ ), като тази значимост изчезва на 12ти, 24ти и 36ти месец.

Сравнение на протеинурията, eGFR и хемоглобин при лечение с ACEinh/ARB самостоятелно, CCB самостоятелно и ACEinh/ARB в комбинация с CCB – табл. 14.

Patient characteristics	ACEinh/ARB (a)	CCB (b)	Combination (c)	P value
Total number	143	74	72	
eGFR at the beginning of therapy	59.86 SD 21.289	57.77 SD 23.489	57.51 SD 18.126	p(a-b)=0.770, p(a-c)=0.723, p(b-c)=0.997
eGFR after 12 months	58.03 SD 17.041	57.53 SD 21.012	59.39 SD 16.369	p(a-b)=0.979, p(a-c)=0.860, p(b-c)=0.806
eGFR after 24 months	59.11 SD 18.621	57.45 SD 20.588	56.52 SD 16.613	p(a-b)=0.855, p(a-c)=0.637, p(b-c)=0.963
eGFR after 36months	59.40 SD 18.900	59.92 SD 23.330	56.87 SD 15.078	p(a-b)=0.988, p(a-c)=0,689, p(b-c)=0.728
P value	p=0.133, p=0.532, p=0.469	p=0,890, p=290, p=0,205	p=0,196, p=0,895, p=0,512	

#### таблица 13 Сравнение на eGFR между трите групи пациенти

От проведения статистически анализ не се установи статистически значима разлика в протеинурията, eGFR на 12ти, 24ти и 36ти месец в сравнение с изходната при лечение с CCB самостоятелно или в комбинация с ACEinh/ARB

Установи се статистически значимо повишаване на хемоглобина на 12ти ( $p<0,001$ ), 24ти ( $p=0,031$ ) и 36ти ( $p=0,001$ ) месец от началото на лечение с CCB самостоятелно, но не и в комбинация с ACEinh/ARB - табл 15.

Patient characteristics	ACEinh/ARB (a)	CCB (b)	Combination (c)	P value
Hemoglobin at the beginning of therapy	131.27 SD 22.465	125.72 SD 19.32	130.75 SD 22.774	$p(a-b)=0.179$ , $p(a-c)=0.985$ , $p(b-c)=0.344$
Hemoglobin after 12 months	132.31 SD 18.796	138.28 SD 19.574	132.54 SD 16.929	$p(a-b)=0.065$ , $p(a-c)=0.996$ , $p(b-c)=0.150$
Hemoglobin after 24 months	132.9 SD 21.397	139.29 SD 15.341	131.32 SD 15.423	$p(a-b)=0.110$ , $p(a-c)=0.320$ , $p(b-c)=0.640$
Hemoglobin after 36 months	134.54 SD 20.403	137.78 SD 16.806	131.02 SD 14.652	$p(a-b)=0.619$ , $p(a-c)=0.473$ , $p(b-c)=0.199$
P value	$p=0,455$ , $p=0,629$ , $p=0,210$	$p<0,001$ , $p<0,001$ , $p=0,002$	$p=0,405$ , $p=0,535$ , $p=0,475$	

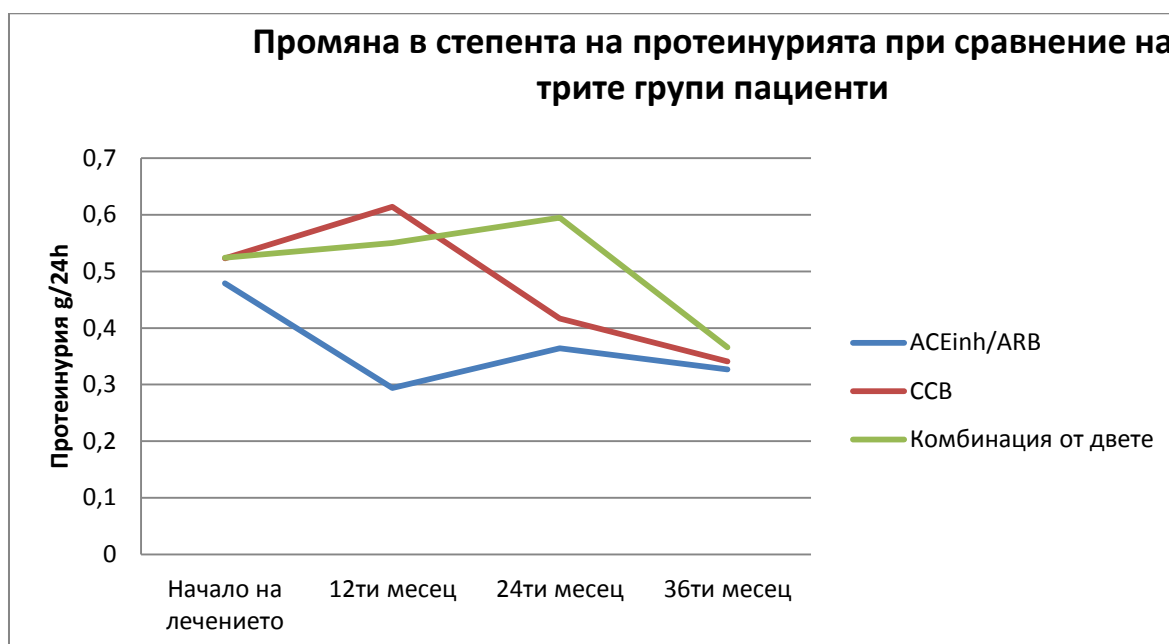
таблица 14 Сравнение на нивата на хемоглобина при трите групи пациенти

От проведения one-way ANOVA – няма статистически значима разлика в eGFR и нивото на хемоглобина между трите групи пациенти при започване на терапията, на 12ти, 24ти и 36ти месец от началото на терапията.

От проведения статистически анализ се установи сигнификантна разлика в степента на протеинурия на 12ти месец между лекуваните с ACEinh/ARB и тези с CCB -  $p=0,037$  – табл 16 и фиг 21.

Patient characteristics	ACEinh/ARB (a)	CCB (b)	Combination (c)	P value
Proteinuria at the beginning of therapy	0.479 SD 0.595	0.523 SD 0.742	0.524 SD 0.633	p(a-b)=0.885, p(a-c)=0.881, p(b-c)=1.000
Proteinuria after 12 months	0.294 SD 0.337	0.614 SD 1.28	0.550 SD 1.168	p(a-b)=0.037, p(a-c)=0.124, p(b-c)=0.902
Proteinuria after 24 months	0.364 SD 0.514	0.417 SD 0.580	0.595 SD 1.838	p(a-b)=0.951, p(a-c)=0.320, p(b-c)=0.640
Proteinuria after 36 months	0.327 SD 0.437	0.341 SD 0.494	0.366 SD 0.531	p(a-b)=0.989, p(a-c)=0.870, p(b-c)=0.964
P value	p<0,001, p=0,014, p=0,051	p=0,880, p=0,555, p=0,786	p=0,173, p=0,165, p=0,060	

таблица 15 Сравнение в степента на протеинурията между трите групи пациенти



фигура 16 Сравнение на промяната на протеинурията при трите групи пациенти във времето.

В светлината на експериментални проучвания за позитивен ефект от терапията с ACE инх/ARB върху гломерулосклерозата и тубулоинтерстициалната увреда,

идентифицирахме 91 БТ пациента са с биопсично доказана патология на графта. От тях 36 пациенти са на лечение с ACEinh/ARB, което е започнато до 24 месец след БТ и е продължило поне 12 месеца. Характеристиките на пациентите са предствени на таблица 17.

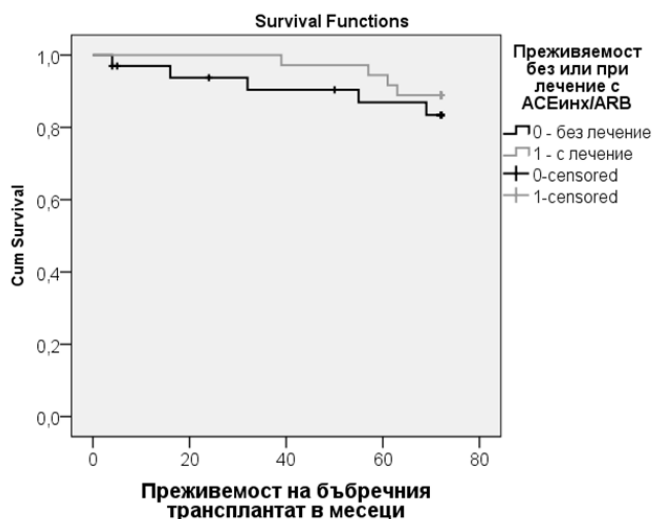
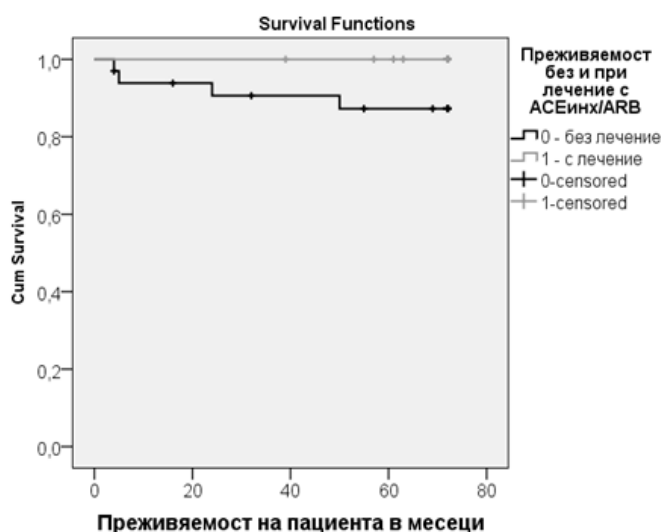
Променлива	ACEinh/ARB treatment	Control group	P value
Брой паиенти	36	33	
Възраст	34.20 SD 12.4	36.13 SD 14.378	0.560
Пол			0.099
Мъже	28 (77.8%)	20 (60.6%)	
Жени	8 (22.2%)	13 (39.4%)	
Месеца на ХД	33.94 SD 29.262	28.7 SD 32.174	0.484
Тип дондр			0.672
Трупен	11 (30.6%)	11 (33.3%)	
Жив	25 (69.5%)	22 (66.7%)	
Възраст на донора	41.24 SD 13.274	36.12 SD 10.885	0.209
Пол на донора	19 (52.8%)	24 (72.7%)	0.141
HLA несъвпадения	3.22 SD 0.972	3.00 SD 1.41	0.595
Алоантитела			0.177
0%	29 (80.6%)	22 (66.7%)	ns
HLA class I/II	7 (19.4%)	11 (33.3%)	ns
Отложена функция на графта	11 (30.6%)	5 (15.2%)	0.130
Систолно АН	133.61 SD 14.223	135.78 SD 18.144	0.583
Диастолно АН	84.03 SD 8.436	85.63 SD 11.76	0.519
BMI	24.65 SD 4.94	25.68 SD 6.286	0.450

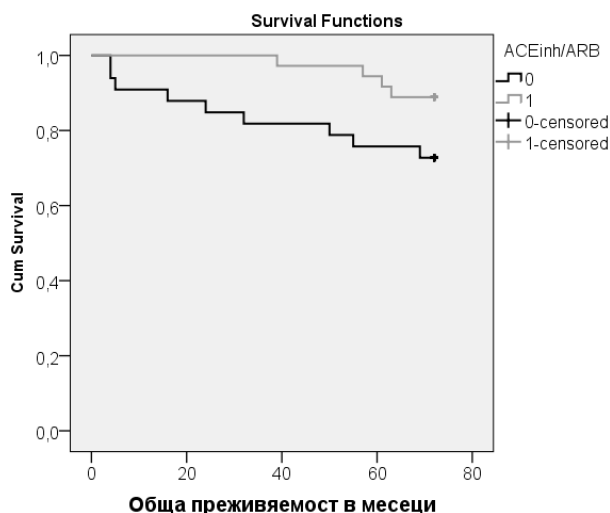
Захарен диабет	5 (13.9%)	6 (18.2%)	0.804
eGFR 12 месец	57.92 SD 18.698	53.57 SD 19.98	0.365
eGFR 24 месец	56.36 SD 17.150	51.52 SD 17.54	0.267
eGFR 36 месец	52.11 SD 17.297	48.93 SD 18.8	0.489
eGFR 60 месец	55.53 SD 18.836	48.0 SD 21.18	0.156
Протеинурия 12 месец	0.428 SD 0.558	0.193 SD 0.133	0.807
Протеинурия 24 месец	0.360 SD 0.441	0.171 SD 0.060	0.516
Протеинурия 36 месец	0.638 SD 1.734	0.276 SD 0.363	0.390
Протеинурия 60 месец	0.359 SD 0.389	0.655 SD 0.799	0.799
Терапия със статин	9 (25%)	4 (12.5%)	0.191
Имуносупресия			
КС	28 (77.8%)	26 (78.8%)	0.919
MMF	33 (91.7%)	28 (84.8%)	0.377
AZA	1 (2.8%)	3 (9.1%)	0.262
Tacrolimus	15 (41.7%)	13 (39.4%)	0.848
CsA	14 (38.9%)	16 (48.5%)	0.422
mTOR inh	8 (22.2%)	4 (12.1%)	0.269
ПББ			
Остро отхвърляне	9 (25%)	10 (30.3%)	ns
Хронично отхвърляне	8 (22.2%)	8 (24.2%)	ns
Хронична нефропатия	7(19.4%)	9 (27.3)	ns
CNI токсичност	7 (19.4%)	3 (9.1%)	ns
Гломурулонефрит – рецидив или de novo	5 (14%)	3 (9.1%)	ns

**таблица 16 Характеристика на пациентите с биопсично доказана патология на графта с или без лечение с ACE инх/ARB.**



При сравнение на двете групи пациенти не се установи значима разлика в никой от изследваните показатели. При равни други условия и при провеждане на Kaplan Meier анализ се установи статистически значимо по-висока 6-годишната преживяемост на пациентите, лекувани с ACEинх/ARB -  $p=0,029$ , като в тази група не е имало починали пациенти, т.е. преживяемостта е 100%. При пациентите без лечение преживяемостта е 87,2%. Преживяемостта на графта при лечение с ACEинх/ARB е по-висока, но не значимо –  $p=0.474$  – 88.9% при лекуваните и 83.4% при пациентите без лечение, като това се наблюдава и при сравняване на общата преживяемост –  $p=0,070$ , 88,9% при лечение и 72,7% без лечение – фиг 22.





**фигура 17 Преживяемост на графта и пациента при лечение с АСЕинх/АРВ в пациенти с биопсично доказана патология на графта.**

От унифакторния анализ, влияние върху преживяемостта на графта имат:

1. Алоантитела (HR 4.771, 95% CI 1.190 to 19.121,  $p=0.027$ )
2. Протеинурия на 6ти месец (HR 3.270, 95% CI 1.295 to 8.254,  $p=0.012$ )
3. Лечение с дихидропиридинови калциеви антагонисти (HR 5.322, 95% CI 1.105 to 25.641,  $p=0.037$ ).

От мултифакторния анализ само протеинурията на 6ти месец остава значим фактор HR 3.898, 95% CI 1.216 to 12.494,  $p=0.022$ .

От унифакторния и мултифакторния анализ, ефект върху общата преживяемост имат:

1. Протеинурията на 6ти месец - HR 2.899, CI 1.186 to 7.088,  $p=0.020$
2. Лечението с дихидропиридинови калциеви антагонисти - HR 4.915, 95% CI 1.351 to 17.874,  $p=0.016$

Изводи:

1. Установи се статистически значимо намаляване на протеинурията на 12ти и 24ти месец след започване на терапия с ACEinh/ARB без намаляване на eGFR и нивото на хемоглобина
2. При пациенти със стабилна функция, ранното включване на ACEinh/ARB води до статистически значимо намаляване на протеинурията на 12ти и 36ти месец. Няма статистически значима разлика в бъбречната функция във времето. Хемоглобинът при започване на терапията е статистически значимо по-нисък в сравнение с 12ти, 24ти и 36ти месец. След първата година нивата на хемоглобина не се различават от тези при пациентите, започнали лечението по-късно след трансплантацията.
3. Установи се значима разлика в протеинурията на 12ти месец след началото на лечението между пациенти, лекувани с ACE инх/ARB и ССВ.
4. ACEинх/ARB имат значим протективен ефект върху преживяемостта на пациента, включително и при биопсично доказана патология на графта.
5. ACEинх/ARB не показаха самостоятелен значим ефект върху преживяемостта на графта.
6. Дихидропиридиновите ССВ показаха значим негативен ефект върху общата преживяемост и преживяемостта на графта при пациенти с биопсично доказана патология.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Това е първото цялостно проучване при бъбречно трансплантирани пациенти в България, характеризиращо ефекта на протеинурията върху преживяемостта на пациента и графта (обща и цензурирана за смърт). Подобно на съобщения в световната литература, в българската популация пациенти установихме по-ниска преживяемост на пациента и графта при пациенти с протеинова екскреция над 0,15г/24ч дори рано след БТ – на трети месец. Пациентите с протеинова екскреция над 0,15г/24ч имат и по-ниска изчислена гломерулна филтрация в сравнение с апротеинуричните, като тази разлика е статистически значима на втората година. В мултивариантния анализ протеинурията на трети месец има негативен ефект върху общата (HR 1.718, 95% CI 1.072 to 2.752,  $p=0.024$ ) и преживяемостта на графта, цензурирана за смърт (HR 3.866, 95% CI 1.968 to 7.598,  $p<0.001$ ), независимо от възрастта и бъбречната функция на трети месец. Функцията на графта на трети месец след БТ има значим ефект върху общата преживяемост на 6тата година (HR 0.985, 95% CI 0.970 to 1.000,  $p=0.046$ ). От мултифакторния анализ лечението с кортикостероиди показва негативен ефект върху преживяемостта на пациента (HR 5.126, 95% CI 1.194 to 22.016,  $p=0.028$ ) и общата преживяемост (HR 4.399, 95% CI 1.703 to 11.362,  $p=0.002$ ), което вероятно отразява факта, че спирането на терапията с КС се предприема само при стабилни пациенти с нисък имунологичен риск и без протеинурия.

Подобно на резултатите от големи мултицентърни проучвания, промяната в лечението с включване на mTOR инхибитор в нашата група пациенти, води до статистически значимо повишаване на eGFR на 6ти и 12ти месец. В дългосрочен план тази значимост се губи, като това вероятно се дължи на

страничните ефекти от лечението с mTOR инхибитори и голямия процент пациенти с вече настъпило увреждане от CNIs. Не се установява по-голямо подобрене в eGFR при пациенти с изходен eGFR >40мл/мин, но това може да се дължи на малкия брой пациенти, проследявани повече от 2 години. Оправдана е промяна в терапията при eGFR <40 по индикации, различни от установена CNI токсичност (неоплазии, хепатотоксичност, вируси) и в тези случаи не може да се очаква голямо подобряване на бъбречната функция. mTOR инхибиторите могат да доведат до повишаване на съществуваща протеинурия или de novo поява на такава. Механизмите за това са свързани с намалена на експресия на нефрин, подоцин и синаптоподин - белтъци, необходими за изграждането на слит-диафрагмите и поддържане на интегритета на филтрационната бариера от подоцитите. Поради доказано увреждащ ефект протеинурията, причинена от mTOR инхибитори трябва да се лекува. Това се доказва и в настоящето проучване със статистически значимата разлика в бъбречната функция на петата година от терапия между пациенти с и без протеинурия на 6ти месец след началото на терапията с mTOR инхибитор. Наличието на протеинурия над 0,164г/24ч се оказва единствен предиктор за наличие на протеинурия след началото на терапията и при протеинурични пациенти, започване на лечение с mTOR инхибитор следва да става при добра преценка на риска. Терапия, включваща ACE инхибитори и статини, доказано намалява протеинурията, като и двата типа медикаменти имат отношение към регулацията на инфламаторни медиатори и могат да намалят ефектите на mTOR инхибиторите върху експресията на нефрин, подоцин и синаптоподин и да стабилизират подоцитите. В проведеното проучване се доказва протективния ефект на ACE инхибиторите върху развитието на протеинурия 6 месеца след

започване на терапия с mTOR инхибитор и е удачно при липса на противопоказания двете групи да се употребяват заедно.

Лечението с ACEинхбитор/ARB намалява протеиновата екскреция значимо в общата популация пациенти след 12 месечна терапия ( $p=0,005$ ), но не предпазва от развитието на протеинурия. От мултифакторния анализ лечението с тези групи медикаменти има значим протективен ефект върху преживяемостта на пациента (HR 0.437, 95% CI 0.198 to 0.967,  $p=0.041$ ). В унифакторния анализ ACE inhibitors/ARB имат значим ефект и върху общата преживяемост (HR 0.503, 95% CI 0.291 to 0.869,  $p=0.014$ ), но в мултифакторния анализ тази значимост се губи. Подобно на по-големи проучвания, при БТ пациенти в България лечението с ACE инхибитор/ARB не показва значим ефект върху преживяемостта на графта.

В светлината на проучвания в животински модели за ефекта на ACEинх/ARB върху забавяне на гломерулосклерозата и тубулната атрофия, отговорни за хроничните и необратими увреди в бъбречния трансплантат, идентифицирахме пациенти с биопсично доказана патология на графта и ги разделихме в две групи – с лечение и контролна група. Отново полза за преживяемостта се откри само за пациентите ( $p=0.029$ ), но не и самостоятелно за графта.

Резултатите, получени в нашето проучване потвърждават тези в световната литература, отчитащи намаляване на протеинурията при БТ пациенти на лечение с ACEinh/ARB. В някои проучвания не е установено подобряване на преживяемостта на графта и пациента и авторите препоръчват употребата на ССВ като първа линия на антихипертензивна терапия поради по-добрата бъбречна функция в сравнение с ACEinh/ARB. От резултатите в проведеното наше проучване, лечението с дихидропиридинови ССВ показва негативен ефект

върху преживяемостта на графта, цензурирана за смърт (HR 5.322, 95% CI 1.105 to 25.641,  $p=0.037$ ), както и върху общата преживяемост (HR 4.915, 95% CI 1.351 to 17.874,  $p=0.016$ ) при пациенти с биопсично доказана патология на графта. Бихме препоръчали използването като терапия на първа линия на този клас медикаменти с внимание в тази група пациенти.

## ОСНОВНИ ИЗВОДИ

1. За първи път в България се изследва и доказва връзката на протеинурията на трети месец след БТ със значимо по-ниска eGFR на втората година, като най-голям негативен ефект има протеинурия в границите 0,5-1г/24ч.
2. За пръв път в България се изследва връзката и се доказва статистически значима разлика в иГФ между нормоалбуминуричните пациенти и тези с албуминурия в границите 30-300мг/24ч и над 300мг/24ч, както и по-високата честота на остра и хронична реакция на отхвърляне при пациентите с албуминурия в границите 30-300мг/24ч и над 300мг/24ч. Албуминурията би могла да служи като маркер на субклинична имунологична увреда на графта.
3. За пръв път у нас се установи, че терапията със статини и стриктният контрол на липидния статус при тази група пациенти могат да подобрят преживяемостта.
4. За първи път в България се изследва и доказва връзката на протеинурията на трети месец със значим негативен ефект върху преживяемостта на графта и пациента.
5. Доказа се, че лечението с ACEinh/ARB е свързано със значимо понижаване на протеинурията след БТ без значим ефект върху eGFR и нивото на хемоглобина.
6. Установи се, че лечението с ACE инхибитор/ARB има значим протективен ефект върху преживяемостта на пациента общо при пациентите, както и при пациенти с биопсично доказана патология на графта.



7. Не се установи самостоятелен значим ефект от лечението с ACE инхибитор/ARB ефект върху преживяемостта на графта.

8. Доказа се, че лечението с ССВ или комбинацията ССВ-ACEinh/ARB не е свързана със значимо по-ниска протеинурия след включването им в терапевтичната схема, а при пациенти с биопсично доказана патология на графта се установява значимо по-ниска обща преживяемост и преживяемост на графта.

9. Нашите данни за първи път показаха, че терапията с mTOR инхибитори е свързана със значимо нарастване на броя и количеството на протеинурията в популацията изследвани пациенти, като единствен рисков фактор за наличието на протеинурия след началото на терапията е протеинурия над 0,164г/24ч преди промяната в лечението.

10. За първи път у нас се установи, че наличието на ACEinh/ARB в терапевтичната схема преди включване на mTOR инхибитор е свързано със значимо по-ниско ниво на протеинурия и има значима протективна роля за развитието ѝ.

11. На базата на целия клиничен опит за първи път може да се приеме, че пациентите с протеинурия при терапия с mTOR инхибитор имат по-ниска преживяемост, но поради недостатъчен брой пациенти, не се установи статистическа значимост.

ПРИНОСИ

В национален мащаб

1. За първи път в България се изследва и доказва връзката на протеинурията на трети месец след БТ със значимо по-ниска eGFR на втората година, като най-голям ефект има протеинурия в границите 0,5-1г/24ч.
2. За пръв път в България се доказва връзка между степента на албуминурията и функцията на графта, както и между албуминурията и честотата на острите и хронични реакции на отхвърляне
3. За първи път в България се изследва и доказва връзката на протеинурията на трети месец със значим негативен ефект върху преживяемостта на графта и пациента.
4. За пръв път в България се проучва влиянието на лечение с ACEinh/ARB върху протеинурията, бъбречната функция и хемоглобиновите нива.
5. За пръв път у нас се установи, че лечението с ACE инхибитор/ARB има значим протективен ефект върху преживяемостта на пациента, и при пациенти с биопсично доказана патология на графта.
6. За пръв път в България се прави сравнение в протеинурията, БФ и нивото на хемоглобина при лечение с ACEinh/ARB или ССВ.
7. За първи път в България се доказва, че лечението с ССВ или комбинацията ССВ-ACEinh/ARB не е свързана със значимо по-ниска протеинурия след включването им в терапевтичната схема, а при пациенти с биопсично доказана патология на графта се установява значимо по-ниска обща преживяемост и преживяемост на графта.

С приложен характер:

1. Определи се рисковата стойност над 0,164г/24ч на протеинурията при започване на терапия с mTOR инхибитор.
2. Определи се протективната роля на терапията с ACE инхибитор/ARB по отношение на развитието и степента на протеинурията при включване на mTOR инхибитор.
3. Установи се, че терапията със статини и стриктния контрол на липидния статус при протеинуричните пациенти могат да подобрят преживяемостта.

В световен мащаб:

1. На базата на целия клиничен опит за първи път може да се приеме, че пациентите с протеинурия при терапия с mTOR инхибитор имат по-ниска преживяемост, но поради недостатъчен брой пациенти, не се установи статистическа значимост.
2. Установи се, че при БТ пациенти с биопсично доказана патология на графта, терапията с ACEinh/ARB подобрява преживяемостта на пациента.
3. Установи се, че при пациенти с биопсично доказана патология на графта, терапията с дихидропиридинови калциеви антагонисти може да влоши общата преживяемост и преживяемостта на графта.

## Книгопис

1. Делийска, Б. "Новости в структурата на гломерулната филтрационна." Vol. 8. 2. Актуална нефрология, 2008.
2. Делийска, Б. "Протеинурия при бъбречни заболявания." n.d.
3. Паскалев, Е. "Нефрология." София: БУЛГАРРЕСУРС, 2015.
4. Паскалев, Е, et al. "Използване на нискотоксични имunosупресивни протоколи при бъбречна трансплантация." , VI Национален конгрес по нефрология, 5-7 октомври 2012
5. Паскалев, Е, et al. "Циклоспоринова токсичност при пациенти с бъбречна трансплантация." , VI Национален конгрес по нефрология, 5-7 октомври 2012
6. Паскалев, Е, Б Златков and Ж Филипов. "Бъбречната трансплантация - оптимално лечение на бъбречната недостатъчност." Vol. 1. Нефрология и урология, 2015.
7. Паскалев, Е, Б Златков and М Антонов. "Причини за протеинурия след бъбречна трансплантация." VI Национален конгрес по нефрология, 5-7 октомври 2012
8. Филипов, Ж, Б Златков and Е Паскалев. "Плазмафереза в Клиника по нефрология и трансплантация." 2013. Национална конференция по нефрология 18-20 октомври 2013.
9. (KDIGO), Kidney Disease: Improving Global Outcomes. "KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients." Vol. 9. American Journal of Transplantation, 2009.
10. Abbate, M, C Zoja and G Remuzzi. "How Does Proteinuria Cause Progressive Renal Damage." Vol. 17. 1. JASN, 2006.

11. Abecassis, M, et al. "Kidney Transplantation as Primary Therapy for End-Stage Renal Disease: A National Kidney Foundation/Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (NKF/KDOQI™) Conference." Vol. 3. 2. Clin J Am Soc Nephrol, 2008.
12. Adair, BD, et al. "Structure of the kidney slit diaphragm adapter protein CD2-associated protein as determined with electron microscopy." Vol. 25. 7. J Am Soc Nephrol., 2014.
13. Ahsan, N, et al. "Recurrent type I membranoproliferative glomerulonephritis after renal transplantation and protective role of cyclosporine in acute crescentic transformation." Vol. 11. 1. Clin Transplant., 1997.
14. Akbari, A, et al. "Spot urine protein measurements in kidney transplantation: a systematic review of diagnostic accuracy." Vol. 29. 4. Nephrol Dial Transplant, 2014.
15. Alasfar, S, Carter-Monroe N and Rosenberg AZ. "Membranoproliferative glomerulonephritis recurrence after kidney transplantation: using the new classification." Vol. 17. 7. BMC Nephrol, 2016.
16. Alter, M, et al. "Non-melanoma skin cancer is reduced after switch of immunosuppression to mTOR-inhibitors in organ transplant recipients." Vol. 12. 6. J Dtsch Dermatol Ges, 2014.
17. Ambrus, JL and NR Sridhar. "Immunologic aspects of renal disease." Vol. 278. 22. JAMA, 1997.
18. Amer, H, et al. "Proteinuria after kidney transplantation, relationship to allograft histology and survival." Vol. 7. 12. Am J Transplant., 2007.
19. Amer, H, et al.. "Urine high and low molecular weight proteins one-year post-kidney transplant: relationship to histology and graft survival." Vol. 13. 3. Am J Transplant., 2013.
20. Amer, Hatem and Fernando G. Cosio. "Significance and Management of Proteinuria in Kidney." Journal of the American Society of Nephrology, 2009. doi: 10.1681/ASN.2008091005

21. Amin, AP, et al. "The synergistic relationship between estimated GFR and microalbuminuria in predicting long-term progression to ESRD or death in patients with diabetes: results from the Kidney Early Evaluation Program (KEEP)." Vol. 61. 4. *Am J Kidney Dis.*, 2013.
22. Aminu, MS, et al. "Obesity and graft dysfunction among kidney transplant recipients: Increased risk for atherosclerosis." Vol. 25. 6. *Indian J Nephrol*, 2015.
23. Andrésdóttir, MB. "Recommendations for the diagnosis and treatment of dense deposit disease." Vol. 4. 2. *Nat Clin Pract Nephrol.*, 2008.
24. Ardalan, MR. "Current concepts on anti-Phospholipase A2 receptor antibody in Idiopathic membranous nephropathy." Vol. 2. 2. *J Renal Inj Prev*, 2013.
25. Artz, MA, PM Dooper and EJ Meuleman. "Time course of proteinuria after living-donor kidney transplantation." Vol. 76. 2. *Transplantation.*, 2003.
26. Astor, BC, et al. "Glomerular filtration rate, albuminuria, and risk of cardiovascular and all-cause mortality in the US population." Vol. 167. 10. *Am J Epidemiol*, 2008.
27. Atkins, RC, et al. "Proteinuria reduction and progression to renal failure in patients with type 2 diabetes mellitus and overt nephropathy." Vol. 45. 2. *Am J Kidney Dis*, 2005.
28. Bacchetta, J, et al. "Paraneoplastic glomerular diseases and malignancies." Vol. 70. 1. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2009.
29. Bakris, GL. "Slowing Nephropathy Progression: Focus on Proteinuria Reduction." Vol. 3. *CJASN*, 2008.
30. Ballermann, BJ. "Contribution of the endothelium to the glomerular permselectivity barrier in health and disease." Vol. 106. 2. *Nephron Physiol*, 2007.
31. Ballermann, BJ.. "Glomerular endothelial cell differentiation." Vol. 67. 5. *Kidney Int.*, 2005.
32. Bardonnaud, N, et al. "Outcomes of renal transplantation in obese recipients." Vol. 44. 9. *Transplant Proc*, 2012.

33. Bazzi, C, et al. "A modern approach to selectivity of proteinuria and tubulointerstitial damage in nephrotic syndrome." Vol. 58. 4. *Kidney International*, 2000.
34. Bertelli, R, et al. "Recurrence of focal segmental glomerulosclerosis after renal transplantation in patients with mutations of podocin." Vol. 41. 6. *Am J Kidney Dis*, 2003.
35. Bertoni, E. "Chronic kidney disease is still present after renal transplantation with excellent function." Vol. 38. 4. *Transplant Proc.*, 2006.
36. Bianchi, S, R Bigazzi and VM Campese. "Microalbuminuria in essential hypertension: significance, pathophysiology, and therapeutic implications." Vol. 34. 6. *Am J Kidney Dis*, 1999.
37. Biancone, L, et al. "Loss of nephrin expression in glomeruli of kidney-transplanted patients under m-TOR inhibitor therapy." Vol. 10. 10. *Am J Transplant.*, 2010.
38. Biesenbach, G, et al. "Effect of mild dietary protein restriction on urinary protein excretion in patients with renal transplant fibrosis." Vol. 146. 4. *Wien Med Wochenschr.*, 1996.
39. Boesken, WH, et al. "Proteinuria as diagnostic marker after human kidney transplantation." Vol. 11. *Proc Eur Dial Transplant Assoc*, 1975.
40. Bolton, GR, WM Deen and BS Daniels. "Assessment of the charge selectivity of glomerular basement membrane using Ficoll sulfate." Vol. 274. 5. *Am J Physiol.*, 1998.
41. Bonkain, F, et al. "Nephrotic syndrome and renal failure as an unusual presentation of solid tumour." Vol. 3. 1. *NDT Plus*, 2010.
42. Boute, N, et al. "NPHS2, encoding the glomerular protein podocin, is mutated in autosomal recessive steroid-resistant nephrotic syndrome." Vol. 24. 4. *Nat Genet.*, 2000.
43. Braun, MC and DM Stablein. "Glomerulonephritis type II in renal allografts: The North American Pediatric." Vol. 16. 7. *J Am Soc Nephrol.*, 2005.

44. Brenner, BM and EL Milford. "Nephron underdosing: a programmed cause of chronic renal allograft failure." Vol. 21. 5. Am J Kidney Dis., 1993.
45. Bretagnol, A, et al. "Renal transplantation in patients with autosomal dominant polycystic kidney disease: pre-transplantation evaluation and follow-up." Vol. 3. 7. Nephrol Ther, 2007.
46. Bridoux, F, et al. "Renal transplantation in light chain amyloidosis: coming out of the cupboard." Vol. 26. 6. Nephrol Dial Transplant, 2011.
47. Brunskil, I EW and SS Potter. "Pathogenic pathways are activated in each major cell type of the glomerulus in the Cd2ap mutant mouse model of focal segmental glomerulosclerosis." Vol. 16. 71. BMC Nephrol, 2015.
48. Bruzzi, I, A Benigni and G Remuzzi. "Role of increased glomerular protein traffic in the progression of renal failure." Kidney Int Suppl., 1997.
49. Bumbea, V, et al. "Long-term results in renal transplant patients with allograft dysfunction after switching from calcineurin inhibitors to sirolimus." Vol. 20. 11. Nephrol Dial Transplant, 2005.
50. Cai, MM, I Simpson and WR Mulley. "In search of an effective treatment for recurrent mesangiocapillary glomerulonephritis in the renal allograft." Nephrology (Carlton), 2014.
51. Calabuig, AS, Guirado L and Ramos D. "Prognostic significance and diagnosis of proteinuria in renal transplantation." Vol. 26. 1. Transplant Rev (Orlando), 2012.
52. Campese, VM, et al. "Do HMG-CoA reductase inhibitors improve kidney function? The saga continues." Vol. 24. 5. J Nephrol., 2011.
53. Canaud, G, et al. "Recurrence from primary and secondary glomerulopathy after renal transplant." Vol. 25. 8. Transpl Int, 2012.
54. Carroll, MF and JL Temte. "Proteinuria in adults: a diagnostic approach." Vol. 62. 6. Am Fam Physician., 2000.



55. Carta, P, et al. "5 year comparison of very low-dose cyclosporine and high-dose everolimus vs standard cyclosporine and enteric-coated mycophenolate in renal transplantation patients." Vol. 46. 7. *Transplant Proc.*, 2014.
56. Chandrakantan, Arun, Piti Ratanapanichkich and Mowaffaq Said. "Recurrent IgA nephropathy after renal transplantation despite immunosuppressive regimens with mycophenolate mofetil." Vol. 20. 6. *Nephrol Dial Transplant*, 2005.
57. Cheungpasitporn, W, et al. "The Effect of Renin-angiotensin System Inhibitors on Kidney Allograft Survival: A Systematic Review and Meta-analysis." Vol. 8. 7. *N Am J Med Sci.*, 2016.
58. Chiurciu, C, P Ruggerenti and G Remuzzi. "Thrombotic microangiopathy in renal transplantation." Vol. 7. 1. *Ann Transplant*, 2002.
59. Cho, JH, et al. "Successful treatment of recurrent focal segmental glomerulosclerosis with a low dose rituximab in a kidney transplant recipient." Vol. 36. 4. *Ren Fail.*, 2014.
60. Chung, J, et al. "Glomerulonephritis is the major cause of proteinuria in renal transplant recipients: histopathologic findings of renal allografts with proteinuria." Vol. 14. 5. *Clin Transplant.*, 2000.
61. CKD, Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Working Group. "KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease." Vol. 3. *Kidney inter.*, 2013.
62. Consortium, Chronic Kidney Disease Prognosis, K Matsushita and M van der Velde. "Association of estimated glomerular filtration rate and albuminuria with all-cause and cardiovascular mortality in general population cohorts: a collaborative meta-analysis." Vol. 375. *Lancet*, 2010.
63. Contreras, G, et al. "Recurrence of lupus nephritis after kidney transplantation." Vol. 21. 7. *J Am Soc Nephrol.*, 2010.
64. Coombes, JD, et al. "Rapamycin worsens renal function and intratubular cast formation in protein overload nephropathy." Vol. 68. 6. *Kidney Int.*, 2005.

65. Cosio, FG, et al. "Transplant glomerulopathy." Vol. 8. 3. Am J Transplant., 2008.
66. Cotter, J, et al. "Risk factors for development of microalbuminuria in diabetic and nondiabetic normoalbuminuric hypertensives with high or very high cardiovascular risk - a twelve-month follow-up study." Vol. 113. 1. Nephron Clin Pract., 2009.
67. Courtney, AE, et al. "Does angiotensin blockade influence graft outcome in renal transplant recipients with IgA nephropathy?" Vol. 21. 12. Nephrol Dial Transplant, 2006.
68. Cravedi, P, W van der Touw and PS Heeger. "Complement Regulation of T-Cell Alloimmunity." Vol. 33. 6. Semin Nephrol., 2013.
69. Cross, NB, et al. "Antihypertensives for kidney transplant recipients: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials." Vol. 88. 1. Transplantation., 2009.
70. Cruzado, JM, Gil-Vernet S and Ercilla G. "Hepatitis C virus-associated membranoproliferative glomerulonephritis in renal allografts." Vol. 7. 11. J Am Soc Nephrol, 1996.
71. Currie, G and C Delles. "Proteinuria and its relation to cardiovascular disease." Vol. 7. Int J Nephrol Renovasc Dis., 2013.
72. Dabade, TS, et al. "Recurrent idiopathic membranous nephropathy after kidney transplantation: a surveillance biopsy study." Vol. 8. 6. Am J Transplant, 2008.
73. D'Agati, VD, FJ Kaskel and RJ Falk. "Focal segmental glomerulosclerosis." Vol. 365. 25. N Engl J Med, 2011.
74. D'Amico, G1, F Ferrario and MP Rastaldi. "Tubulointerstitial damage in glomerular diseases: its role in the progression of renal damage." Vol. 26. 1. Am J Kidney Dis., 1995.
75. Dattolo, PC et al. "Conservative Management of Chronic Kidney Disease Stage 5: Role of Angiotensin Converting Enzyme Inhibitors." Vol. 29. 6. J Nephrol, 2016.

76. D'Cunha, PT, Parasuraman R and Venkat KK. "Rapid resolution of proteinuria of native kidney origin following live donor renal transplantation." Vol. 5. 2. Am J Transplant, 2005.
77. Deen, WM, MJ Lazzara and BD Myers. "Structural determinants of glomerular permeability." Vol. 281. 4. Am J Physiol Renal Physiol, 2001.
78. Diekmann, F, et al. "Predictors of success in conversion from calcineurin inhibitor to sirolimus in chronic allograft dysfunction." Vol. 4. 11. Am J Transplant., 2004.
79. Djamali, A, et al. "Medical Care of Kidney Transplant Recipients after the First Posttransplant Year." Vol. 1. 4. CJASN, 2006.
80. Dragun, D, et al. "Angiotensin II type 1-receptor activating antibodies in renal-allograft rejection." Vol. 352. 6. N Engl J Med., 2005.
81. Ducloux, D, et al. "Recurrence of hemolytic-uremic syndrome in renal transplant recipients: a meta-analysis." Vol. 65. 10. Transplantation., 1998.
82. Eardley, KS, et al. "The relationship between albuminuria, MCP-1/CCL2, and interstitial macrophages in chronic kidney disease." Vol. 69. 7. Kidney Int., 2006.
83. Eaton, Douglas and John Pooler. "Vander's Renal Physiology." McGraw-Hill Medical, 2009.
84. Eddy, Allison A. "Proteinuria and interstitial injury." Vol. 19. 2. Nephrol Dial Transplant, 2004.
85. El-Zoghby, ZM, et al. "Identifying specific causes of kidney allograft loss." Vol. 9. 3. Am J Transplant., 2009.
86. Eng, HS, et al. "Donor human leukocyte antigen specific antibodies predict development and define prognosis in transplant glomerulopathy." Vol. 72. 5. Hum Immunol., 2011.
87. Erkan, E. "Proteinuria and progression of glomerular diseases." Vol. 28. 7. Pediatr Nephrol., 2013.
88. Fernández-Fresnedo, G, et al. "Proteinuria: a new marker of long-term graft and patient survival in kidney transplantation." Vol. 19. 3. Nephrol Dial Transplant, 2004.

89. Fernández-Fresnedo, G, et al. "The risk of cardiovascular disease associated with proteinuria in renal transplant patients." Vol. 73. 8. *Transplantation.*, 2002.
90. First, MR, et al. "Proteinuria following transplantation. Correlation with histopathology and outcome." Vol. 38. 6. *Transplantation.*, 1984.
91. Floege, J. "Recurrent IgA nephropathy after renal transplantation." Vol. 24. 3. *Semin Nephrol*, 2004.
92. Floege, J, F Eitner and CE Alpers. "A new look at platelet-derived growth factor in renal disease." Vol. 12. 23. *J Am Soc Nephrol*, 2008.
93. Floege, Jurgen, Richard Johnson and John Feehally. "Comprehensive Clinical Nephrology." Saunders/Elsevier, 2010.
94. Franz, S, et al. "Tubular toxicity in sirolimus- and cyclosporine-based transplant immunosuppression strategies: an ancillary study from a randomized controlled trial." Vol. 55. 2. *Am J Kidney Dis.*, 2010.
95. Garcia-Garcia, G., P. Harden and J. Chapman. "The global role of kidney transplantation." Vol. 22. 2. *Indian J Nephrol*, 2012.
96. Garg, AX, et al. "Albuminuria and renal insufficiency prevalence guides population screening: results from the NHANES III." Vol. 61. 6. *Kidney Int*, 2002.
97. Geetha, D, et al. "Renal transplantation in antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis: a multicenter experience." Vol. 91. 12. *Transplantation*, 2011.
98. Geetha, D, et al. "Successful induction of remission with rituximab for relapse of ANCA-associated vasculitis post-kidney transplant: report of two cases." Vol. 7. 12. *Am J Transplant.*, 2007.
99. Geissler, EK. "The impact of mTOR inhibitors on the development of malignancy." Vol. 40. 10. *Transplant Proc.*, 2008.
100. Gera, M, et al. "Recurrence of ANCA-associated vasculitis following renal transplantation in the modern era of immunosuppression." Vol. 71. 12. *Kidney Int.*, 2007.

101. Gill, JS, et al. "The survival benefit of kidney transplantation in obese patients." Vol. 13. 8. Am J Transplant., 2013.
102. Glasscock, RJ. "Is the Presence of Microalbuminuria a Relevant Marker of Kidney Disease?" Vol. 12. 5. Curr Hypertens Rep., 2010.
103. Gloor, JM, et al. "Transplant glomerulopathy: subclinical incidence and association with alloantibody." Vol. 7. 9. Am J Transplant, 2007.
104. Gorriz, JL and Martinez-Castelao A. "Proteinuria: detection and role in native renal disease progression." Vol. 26. 1. Transplant Rev, 2012.
105. Griffin, EJ, et al. "Early focal segmental glomerulosclerosis as a cause of renal allograft primary nonfunction." Case Rep Transplant., 2013.
106. Grzešk, G, et al. "Calcium blockers inhibit cyclosporine A-induced hyperreactivity of vascular smooth muscle cells." Vol. 5. Mol Med Rep, 2012.
107. Halimi, JM. "Low-grade proteinuria and microalbuminuria in renal transplantation." Vol. 96. 2. Transplantation., 2013.
108. Halimi, JM, et al. "Early low-grade proteinuria: causes, short-term evolution and long-term consequences in renal transplantation." Vol. 5. 9. Am J Transplant, 2005.
109. Halimi, JM, et al. "Respective predictive role of urinary albumin excretion and nonalbumin proteinuria on graft loss and death in renal transplant recipients." Vol. 7. 12. Am J Transplant, 2007.
110. Halimi, JM, M Buchler and A Al Najjar. "Urinary albumin excretion and the risk of graft loss and death in proteinuric and non-proteinuric renal transplant recipients." Am J Transplant., 2007.
111. Hamar, P and D Kerjaschki. "Blood capillary rarefaction and lymphatic capillary neoangiogenesis are key contributors to renal allograft fibrosis in an ACE inhibition rat model." Vol. 311. 4. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2016.
112. Hamilton, P, et al. "Urinary protein selectivity in nephrotic syndrome and pregnancy: resurrection of a biomarker when renal biopsy is contraindicated." Vol. 7. 6. Clin Kidney J., 2014.

113. Hanf, W, CS Bonder and PTH Coates. "Transplant Glomerulopathy: The Interaction of HLA Antibodies and Endothelium." *Journal of Immunology Research*, 2014.
114. Haraldsson, B, J Nyström and WM Deen. "Properties of the glomerular barrier and mechanisms of proteinuria." *Vol. 88. 2. Physiol Rev.*, 2008.
115. Hariharan, S, et al. "Recurrent and de novo glomerular disease after renal transplantation: a report from Renal Allograft Disease Registry (RADR)." *Vol. 68. 5. Transplantation*, 1999.
116. Heerspink, HJ. "Therapeutic approaches in lowering albuminuria: travels along the renin-angiotensin-aldosterone-system pathway." *Vol. 18. 4. Adv Chronic Kidney Dis*, 2011.
117. Heinze, G, et al. "Angiotensin-converting enzyme inhibitor or angiotensin II type 1 receptor antagonist therapy is associated with prolonged patient and graft survival after renal transplantation." *Vol. 17. 3. J Am Soc Nephrol.*, 2006.
118. Hinojosaa, JB and MA Govantesb. "Progression of urinary protein excretion after kidney transplantation: A marker for poor long-term prognosis." *Vol. 35. 4. Nefrologia*, 2015.
119. Hiremath, S, et al. "Renin angiotensin system blockade in kidney transplantation: a systematic review of the evidence." *Vol. 7. 10. Am J Transplant.*, 2007.
120. Holmberg, C and H Jalanko. "Congenital nephrotic syndrome and recurrence of proteinuria after renal transplantation." *Vol. 29. 12. Pediatr Nephrol.*, 2014.
121. Hudson, BG, et al. "Alport's syndrome, Goodpasture's syndrome, and type IV collagen." *Vol. 348. 25. N Engl J Med.*, 2003.
122. Husain, S and B Sis. "Advances in the understanding of transplant glomerulopathy." *Vol. 62. 2. Am J Kidney Dis*, 2013.
123. Ibis, A, et al. "Early onset proteinuria after renal transplantation: a marker for allograft dysfunction." *Vol. 39. 4. Transplant Proc.*, 2007.

124. Ignjatović, L, et al. "Conversion from calcineurin inhibitors to sirolimus of recipients with chronic kidney graft disease grade III for a period 2003-2011." Vol. 70. 9. *Vojnosanit Pregl.*, 2013.
125. Iseki, K, et al. "Proteinuria and the risk of developing end-stage renal disease." Vol. 63. *Kidney International*, 2003.
126. Ito, N, et al. "mTORC1 activation triggers the unfolded protein response in podocytes and leads to nephrotic syndrome." Vol. 91. 11. *Lab Invest.*, 2011.
127. Kalluri, R. "Proteinuria with and without Renal Glomerular Podocyte Effacement." Vol. 17. 9. *J Am Soc Nephrol.*, 2006.
128. Kanasaki, K, G Taduri and D Koya. "Diabetic nephropathy: the role of inflammation in fibroblast activation and kidney fibrosis." Vol. 4. 7. *Front Endocrinol (Lausanne).*, 2013.
129. Kaplan, JM, et al. "Mutations in ACTN4, encoding alpha-actinin-4, cause familial focal segmental glomerulosclerosis." Vol. 24. 3. *Nat Genet*, 2000.
130. Kapoor, A. "Malignancy in kidney transplant recipients." Vol. 68. 1. *Drugs*, 2008.
131. Karthikeyan, V, et al. "The burden of chronic kidney disease in renal transplant recipients." Vol. 4. 2. *Am J Transplant*, 2004.
132. Kato, R, et al. "Efficacy of everolimus in patients with advanced renal cell carcinoma refractory or intolerant to VEGFR-TKIs and safety compared with prior VEGFR-TKI treatment." Vol. 44. 5. *Jpn J Clin Oncol.*, 2014.
133. Kaufeld, J., M. Schiffer and C Chatzikyrkou. "Pathogenesis and Management of Hypertension after Kidney Transplantation." Vol. 8. 4. *Current Hypertension Reviews*, 2012.
134. Kennedy, C, et al. "Glomerular disease recurrence in second and subsequent kidney transplants." Vol. 79. 1. *Clin Nephrol*, 2013.
135. Kennedy, C, et al. "Transplant outcomes in patients with idiopathic membranous nephropathy." *Int J Nephrol.*, 2013.

136. Kerr, H and A Richards. "Complement-mediated injury and protection of endothelium: lessons from atypical haemolytic uraemic syndrome." Vol. 217. 2. Immunobiology., 2012.
137. Kim, HS, et al. "The use of everolimus to target carcinogenic pathways in a patient with renal cell carcinoma and tuberous sclerosis complex: a case report." Vol. 8. 95. J Med Case Rep, 2014.
138. Kim, MJ, et al. "Oral cholecalciferol decreases albuminuria and urinary TGF- $\beta$ 1 in patients with type 2 diabetic nephropathy on established renin-angiotensin-aldosterone system inhibition." Vol. 80. 8. Kidney Int., 2011.
139. Kim, SM, et al. "The association between albumin to creatinine ratio and total protein to creatinine ratio in patients with chronic kidney disease." Vol. 78. 5. Clin Nephrol., 2012.
140. Knoll, GA. "Proteinuria in kidney transplant recipients: prevalence, prognosis, and evidence-based management." Vol. 54. 6. Am J Kidney Dis., 2009.
141. Knoll, Greg A et al. "Ramipril versus placebo in kidney transplant patients with proteinuria: a multicentre, double-blind, randomised controlled trial." Vol. 4. 4. The Lancet Diabetes & Endocrinology, 2016.
142. Kofman, T, et al. "Renal transplantation in patients with AA amyloidosis nephropathy: results from a French multicenter study." Vol. 11. 11. Am J Transplant., 2011.
143. Kumar, R. "New clinical trials with vitamin D and analogs in renal disease." Vol. 80. 8. Kidney Int., 2011.
144. Kute, VB, et al. "Renal transplantation in secondary amyloidosis associated with tuberculosis." Case Rep Transplant, 2013.
145. Lai, KN, et al. "Polymeric IgA1 from patients with IgA nephropathy upregulates transforming growth factor-beta synthesis and signal transduction in human mesangial cells via the renin-angiotensin system." Vol. 14. 12. J Am Soc Nephrol, 2003.



146. Lebowitz, D, et al. "Research and innovation in the development of everolimus for oncology." Vol. 6. 3. Expert Opin Drug Discov., 2011.
147. Leca, N. "Focal segmental glomerulosclerosis recurrence in the renal allograft." Vol. 21. 5. Adv Chronic Kidney Dis., 2014.
148. Lenihan, CR, JB Lockridge and JC Tan. "A new clinical prediction tool for 5-year kidney transplant outcome." Vol. 63. 4. Am J Kidney Dis., 2014.
149. Letavernier, E and Legendre C. "mTOR inhibitors-induced proteinuria: mechanisms, significance, and management." Vol. 22. 2. Transplant Rev (Orlando), 2008.
150. Letavernier, E, et al. "High sirolimus levels may induce focal segmental glomerulosclerosis de novo." Vol. 2. 2. Clin J Am Soc Nephrol., 2007.
151. Letavernier, E, et al. "Sirolimus interacts with pathways essential for podocyte integrity." Vol. 24. 2. Nephrol Dial Transplant, 2009.
152. Lieberthal, W and JS Levine. "Mammalian target of rapamycin and the kidney. I. The signaling pathway." Vol. 303. 1. Am J Physiol Renal Physiol., 2012.
153. Lieberthal, W and JS Levine. "Mammalian target of rapamycin and the kidney. II. Pathophysiology and therapeutic implications." Vol. 303. 2. Am J Physiol Renal Physiol., 2012.
154. Liebl, R and Kramer BK. "Recurrence and spontaneous remission of membranous nephropathy after renal transplantation." Vol. 70. 5. Clin Nephrol., 2008.
155. Lionaki, S, C Skalioti and JN Boletis. "Kidney transplantation in patients with systemic lupus erythematosus." Vol. 4. 3. World J Transplant, 2014.
156. Liu, Ailian, Alan Dardik and Barbara J. Ballermann. "Neutralizing TGF- $\beta$ 1 antibody infusion in neonatal rat delays in vivo glomerular capillary formation." Vol. 56. 4. Kidney International, 1999.
157. Livneh, A, et al. "Colchicine prevents kidney transplant amyloidosis in familial Mediterranean fever." Vol. 60. 4. Nephron., 1992.
158. López Jiménez, V, et al. "Transplant glomerulopathy: clinical course and factors relating to graft survival." Vol. 44. 9. Transplant Proc., 2012.

159. Ma, J, et al. "1,25-dihydroxyvitamin D(3) inhibits podocyte uPAR expression and reduces proteinuria." Vol. 8. 5. PLoS One, 2013.
160. Macian, F. "NFAT proteins: key regulators of T-cell development and function." Vol. 5. 6. Nat Rev Immunol, 2005.
161. MacIsaac, RJ, G Jerums and ME Cooper. "New insights into the significance of microalbuminuria." Vol. 13. 1. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2004.
162. Makris, K and Kafkas N. "Neutrophil gelatinase-associated lipocalin in acute kidney injury." Vol. 58. Adv Clin Chem, 2012.
163. Maluf, DG, et al. "Evaluation of molecular profiles in calcineurin inhibitor toxicity post-kidney transplant: input to chronic allograft dysfunction." Vol. 14. 5. Am J Transplant, 2014.
164. Mansour, SG, et al. "Biomarkers for the detection of renal fibrosis and prediction of renal outcomes: a systematic review." Vol. 18. 1. BMC Nephrol., 2017.
165. Meier-Kriesche, HU and Kaplan B. "Waiting time on dialysis as the strongest modifiable risk factor for renal transplant outcomes: a paired donor kidney analysis." Vol. 74. 10. Transplantation., 2002.
166. Melilli, E, et al. "Mechanisms and risk factors for the development of the proteinuria after kidney transplantation." Vol. 14. 9. Transplant Rev (Orlando)., 2012.
167. Menon, MC, PY Chuang and He CJ. "The glomerular filtration barrier: components and crosstalk." Int J Nephrol, 2012.
168. Meyer, Timothy W. "Tubular injury in glomerular disease." Vol. 63. 2. Kidney Int. , 2003.
169. Miglinas, Marius, Arvydas Laurinavicius and Diana Lukasevic. "Proteinuria after Kidney Transplantation." Vol. 4. 1. J Nephrol Ther, 2013.
170. Moeller, T, et al. "Salt intake and hypertension in renal transplant patients." Vol. 53. 3. Clin Nephrol, 2000.
171. Molnar, MZ, et al. "A clinical and pathological variant of acute transplant glomerulopathy." Case Rep Pathol., 2014.

172. Morath, C, et al. "Sirolimus in renal transplantation." Vol. 22. 8. Nephrol Dial Transplant, 2007.
173. Moroni, G, et al. "The long-term outcome of renal transplantation of IgA nephropathy and the impact of recurrence on graft survival." Vol. 28. 5. Nephrol Dial Transplant., 2013.
174. Moroni, G, et al. "The long-term prognosis of renal transplantation in patients with lupus nephritis." Vol. 45. 5. Am J Kidney Dis., 2005.
175. Morozumi, K, et al. "Cyclosporine nephrotoxicity: how does it affect renal allograft function and transplant morphology?" Vol. 36. 2. Transplant Proc, 2004.
176. Morozumi, K, Takeda A and Otsuka Y. "Recurrent glomerular disease after kidney transplantation: an update of selected areas and the impact of protocol biopsy." Vol. 19. 3. Nephrology (Carlton), 2014.
177. Mreich, E, JD Coombes and GK Rangan. "Sirolimus does not reduce receptor-mediated endocytosis of albumin in proximal tubule cells." Vol. 83. 1. Transplantation., 2007.
178. Mundel, P and J Reiser. "Proteinuria: an enzymatic disease of the podocyte?" Vol. 77. 7. Kidney Int., 2010.
179. Myslak, M., et al. "Interpreting post-transplant proteinuria in patients with proteinuria pre-transplant." Vol. 6. 7. American Journal of Transplantation, 2006.
180. Naesens, M, DR Kuypers and M Sarwal. "Calcineurin inhibitor nephrotoxicity." Vol. 4. 2. Clin J Am Soc Nephrol, 2009.
181. Naik, MG Heller KM, Arns W and German Sirolimus Study Group. "Proteinuria and sirolimus after renal transplantation: a retrospective analysis from a large German multicenter database." Vol. 28. 1. Clin Transplant, 2014.
182. Nair, S, et al. "Effect of a cooked meat meal on serum creatinine and estimated glomerular filtration rate in diabetes-related kidney disease." Vol. 37. 2. Diabetes Care, 2014.

183. Nakamura, T, et al. "Atorvastatin reduces proteinuria in non-diabetic chronic kidney disease patients partly via lowering serum levels of advanced glycation end products (AGEs)." Vol. 3. 5. *Oxid Med Cell Longev*, 2010.
184. Nankivell, BJ, et al. "The natural history of chronic allograft nephropathy." Vol. 349. 24. *N Engl J Med.*, 2003.
185. Nauta, F, JI Steohan and Bakker. "Albuminuria, Proteinuria, and Novel Urine Biomarkers as Predictors of Long-term Allograft Outcomes in Kidney Transplant Recipients." Vol. 57. 5. *American Journal of Kidney Disease*, 2011.
186. Noris, M and G Remuzzi. "Glomerular Diseases Dependent on Complement Activation, Including Atypical Hemolytic Uremic Syndrome, Membranoproliferative Glomerulonephritis, and C3 Glomerulopathy: Core Curriculum 2015." Vol. 66. 2. *Am J Kidney Dis.*, 2015.
187. Obeidat, M, Obeidat M and Ballermann BJ. "Glomerular endothelium: a porous sieve and formidable barrier." Vol. 318. 9. *Experimental Cell Research*, 2012.
188. Obeidová, H, et al. "Genetic basis of nephrotic syndrome--review." Vol. 107. 1. *Prague Med Rep.*, 2006.
189. Oblak, M, et al. "Increase in proteinuria after acute kidney graft rejection is associated with decreased graft function and survival." Vol. 45. 4. *Transplant Proc.*, 2013.
190. Opelz, G, et al. "No improvement of patient or graft survival in transplant recipients treated with angiotensin-converting enzyme inhibitors or angiotensin II type 1 receptor blockers: a collaborative transplant study report." Vol. 17. 11. *J Am Soc Nephrol.*, 2006.
191. Pan, QR, et al. "Resveratrol increases nephrin and podocin expression and alleviates renal damage in rats fed a high-fat diet." Vol. 6. 7. *Nutrients.*, 2014.
192. Panek, R, T Lawen and BA Kiberd. "Screening for proteinuria in kidney transplant recipients." Vol. 26. 4. *Nephrol Dial Transplant*, 2011.
193. Paoletti, E, et al. "Effects of ACE inhibitors on long-term outcome of renal transplant recipients: a randomized controlled trial." Vol. 95. 6. *Transplantation.*, 2013.

194. Pascual, J, et al. "Chronic renal allograft injury: early detection, accurate diagnosis and management." Vol. 26. 4. *Transplant Rev (Orlando)*, 2012.
195. Pavenstädt, H, W Kriz and M Kretzler. "Cell biology of the glomerular podocyte." Vol. 83. 1. *Physiol Rev.*, 2003.
196. Peev, V, J Reiser and N Alachkar. "Diabetes mellitus in the transplanted kidney." *Front Endocrinol (Lausanne).*, 2014.
197. Pfetscher, S A. "Making decisions about end stage renal disease treatment a review of theories and issues." Vol. 4. 1. *Adv Ren Replace Ther*, 1997.
198. Philipp, T, et al. "Candesartan improves blood pressure control and reduces proteinuria in renal transplant recipients: results from SECRET." Vol. 25. 3. *Nephrol Dial Transplant.*, 2010.
199. Polkinghorne, KR. "Detection and measurement of urinary protein." Vol. 15. 6. *Curr Opin Nephrol Hypertens.*, 2006.
200. Pollak, Martin R., et al. "The Glomerulus: The Sphere of Influence." Vol. 9. 8. *CJASN*, 2014.
201. Ponticelli, C and Graziani G. "Proteinuria after kidney transplantation." Vol. 25. 9. *Transplant International*, 2012.
202. Ponticelli, C and RJ Glassock. "Posttransplant recurrence of primary glomerulonephritis." Vol. 5. 12. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2010.
203. Praga, Manuel. "Obesity—a neglected culprit in renal disease." Vol. 17. *Nephrol Dial Transplant*, 2002.
204. Prasad, N, et al. "Outcomes of de novo allograft diabetic nephropathy in renal allograft recipients." Vol. 11. 3. *Exp Clin Transplant*, 2013.
205. Preiss, DJ, et al. "The influence of a cooked-meat meal on estimated glomerular filtration rate." Vol. 44. 1. *Ann Clin Biochem*, 2007.
206. Radha, S, et al. "Thrombotic microangiopathy in renal allografts." Vol. 24. 1. *Indian J Nephrol.*, 2014.

207. Rodrigues, EF, FG Cosio and SH Nasr. "The pathology and clinical features of early recurrent membranous glomerulonephritis." Vol. 12. 4. Am J Transplant., 2012.
208. Roland, M, et al. "Early pulse pressure and low-grade proteinuria as independent long-term risk factors for new-onset diabetes mellitus after kidney transplantation." Vol. 8. 8. Am J Transplant., 2008.
209. Roodnat, JI, et al. "Proteinuria after renal transplantation affects not only graft survival but also patient survival." Vol. 72. 3. Transplantation, 2001.
210. Rosenkranz, AR and G Mayer. "Proteinuria in the transplanted patient." Vol. 15. 9. Nephrol Dial Transplant., 2000.
211. Ruggenti, P, et al. "Urinary protein excretion rate is the best independent predictor of ESRF in non-diabetic proteinuric chronic nephropathies. "Gruppo Italiano di Studi Epidemiologici in Nefrologia" (GISEN)." Vol. 53. 5. Kidney Int., 1998.
212. Ruiz, JC, A Sánchez-Fructuoso and S Zárraga. "Management of proteinuria in clinical practice after kidney transplantation." Vol. 26. 1. Transplant Rev (Orlando)., 2012.
213. Ruotsalainen, V, et al. "Nephrin is specifically located at the slit diaphragm of glomerular podocytes." Vol. 96. 14. Proc Natl Acad Sci U S A., 1999.
214. Sabry, A. "Proteinuria among renal transplant patients and its relation to hepatitis C virus and graft outcome: a single center experience." Vol. 8. 2. Exp Clin Transplant, 2010.
215. Saint-Remy, A, et al. "Urinary and dietary sodium and potassium associated with blood pressure control in treated hypertensive kidney transplant recipients: an observational study." BMC Nephrol., 2012.
216. Salahudeen, AK, et al. "Effects of dietary protein in patients with chronic renal transplant rejection." Vol. 41. 1. Kidney Int, 1992.
217. Salifu, MO, et al. "Allograft diabetic nephropathy may progress to end-stage renal disease." Vol. 8. 4. Pediatr Transplant., 2004.
218. Salvadori, M and E Bertoni. "Complement related kidney diseases: Recurrence after transplantation." Vol. 6. 4. World J Transplant., 2016.

219. Salvadori, M and E Bertoni. "Is it time to give up with calcineurin inhibitors in kidney transplantation?" Vol. 3. 2. World J Transplant, 2013.
220. Salvadori, M and G Rosso. "Reclassification of membranoproliferative glomerulonephritis: Identification of a new GN: C3GN." Vol. 5. 4. World J Nephrol., 2016.
221. Salvadori, M, G Rosso and E Bertoni. "Update on ischemia-reperfusion injury in kidney transplantation: Pathogenesis and treatment." Vol. 5. 2. World J Transplant., 2015.
222. Samaan, F, et al. "Prevalence and progression of chronic kidney disease after renal transplantation." Vol. 43. 7. Transplant Proc, 2011.
223. Samaniego, M, et al. "Outcome of renal transplantation in fibrillary glomerulonephritis." Vol. 55. 2. Clin Nephrol., 2001.
224. Saurina, A, JM Campistol and C et al Piera. "Conversion from calcineurin inhibitors to sirolimus in chronic allograft dysfunction: changes in glomerular hemodynamics and proteinuria." Vol. 21. 2. Nephrol Dial Transpl, 2006.
225. Schena, FP, Pascoe MD and Alberu J. "Conversion from calcineurin inhibitors to sirolimus maintenance therapy in renal allograft recipients: 24-month efficacy and safety results from the CONVERT trial." Vol. 87. 2. Transplantation., 2009.
226. Schewior, L, et al. "The challenge of Wegener's granulomatosis after kidney transplantation." Vol. 22. 4. Transpl Int., 2009.
227. Schlöndorff, D and B Banas. "The Mesangial Cell Revisited: No Cell Is an Island." Vol. 20. 6. JASN, 2009.
228. Schlöndorff, D. "Roles of the mesangium in glomerular function." Vol. 49. 6. Kidney Int, 1996.
229. Seitz-Polski, B, et al. "Prediction of membranous nephropathy recurrence after transplantation by monitoring of anti-PLA2R1 (M-type phospholipase A2 receptor) autoantibodies: a case series of 15 patients." Vol. 29. 12. Nephrol Dial Transplant, 2014.

230. Sethi, S, et al. "Recurrent AA amyloidosis in a kidney transplant." Vol. 57. 6. Am J Kidney Dis., 2011.
231. Sethi, S, Zand L and Leung N. "Membranoproliferative glomerulonephritis secondary to monoclonal gammopathy." Vol. 5. 5. Clin J Am Soc Nephrol., 2010.
232. Shamseddin, MK and GA Knoll. "Posttransplantation proteinuria: an approach to diagnosis and management." Vol. 6. 7. Clin J Am Soc Nephrol., 2011.
233. Shimizu, A, et al. "Focal segmental glomerulosclerosis after renal transplantation." Vol. 25. 23. Clin Transplant., 2011.
234. Slagman, MC, et al. "Moderate dietary sodium restriction added to angiotensin converting enzyme inhibition compared with dual blockade in lowering proteinuria and blood pressure: randomised controlled trial." BMJ, 2011.
235. Smink, PA, et al. "Albuminuria, estimated GFR, traditional risk factors, and incident cardiovascular disease: the PREVEND (Prevention of Renal and Vascular Endstage Disease) study." Vol. 60. 5. Am J Kidney Dis, 2012.
236. Smith, RJ, et al. "New approaches to the treatment of dense deposit disease." Vol. 18. 9. J Am Soc Nephrol., 2007.
237. Smithies, O. "Why the kidney glomerulus does not clog: a gel permeation/diffusion hypothesis of renal function." Vol. 100. 7. Proc Natl Acad Sci U S A., 2003.
238. Soler, MJ, et al. "New options and perspectives for proteinuria management after kidney transplantation." Vol. 26. 1. Transplant Rev (Orlando), 2012.
239. Solez, K, et al. "Banff '05 Meeting Report: differential diagnosis of chronic allograft injury and elimination of chronic allograft nephropathy ('CAN')." Vol. 7. 3. Am J Transplant., 2007.
240. Sprangers, B and DR Kuypers. "Recurrence of glomerulonephritis after renal transplantation." Vol. 27. 4. Transplant Rev (Orlando)., 2013.
241. Sprangers, B, et al. "Beneficial effect of rituximab in the treatment of recurrent idiopathic membranous nephropathy after kidney transplantation." Vol. 5. 5. Clin J Am Soc Nephrol., 2010.



242. Staek, O, et al. "Recurrent Primary Focal Segmental Glomerulosclerosis Managed With Intensified Plasma Exchange and Concomitant Monitoring of Soluble Urokinase-Type Plasminogen Activator Receptor-Mediated Podocyte  $\beta$ 3-integrin Activation." Vol. 99. 12. *Transplantation*, 2015.
243. Stahl, R, E Hoxha and K Fechner. "PLA2 autoantibodies and recurrent membranous nephropathy after transplantation." Vol. 363. 5. *N Engl J Med.*, 2010.
244. Stallone, G, et al. "Sirolimus and proteinuria in renal transplant patients: evidence for a dose-dependent effect on slit diaphragm-associated proteins." Vol. 91. 9. *Transplantation.*, 2011.
245. Steinhäuslin, F and JP Wauters. "Quantitation of proteinuria in kidney transplant patients: accuracy of the urinary protein/creatinine ratio." Vol. 43. 2. *Clin Nephrol.*, 1995.
246. Stevens, KK, et al. "Proteinuria and outcome after renal transplantation: ratios or fractions?" Vol. 65. 9. *Transplantation.*, 2013.
247. Straathof-Galema, L, et al. "Sirolimus-associated heavy proteinuria in a renal transplant recipient: evidence for a tubular mechanism." Vol. 6. 2. *Am J Transplant*, 2006.
248. Stratakis, S, Stylianou K and Petrakis I. "Rapamycin ameliorates proteinuria and restores nephrin and podocin expression in experimental membranous nephropathy." *Clin Dev Immunol*, 2013.
249. Suárez Fernández, ML and G-Cosío F. "Causes and consequences of proteinuria following kidney transplantation." Vol. 31. 4. *Nefrologia*, 2011.
250. Suhai, I SM. "Significance of urinary proteome pattern in renal allograft recipients." *J Transplant.*, 2014.
251. Sun, Q, et al. "Picking transplant glomerulopathy out of the CAN: evidence from a clinico-pathological evaluation." *BMC Nephrol.*, 2012.
252. Sun, Q, et al. "The Prevalence of Immunologic Injury in Renal Allograft Recipients with De Novo Proteinuria." Vol. 7. 5. *Plos One*, 2012.

253. Suri, DL, et al. "Transplant glomerulopathy as a cause of late graft loss." Vol. 35. 4. Am J Kidney Dis., 2000.
254. Taal, MW and BM Brenner. "Renal risk scores: progress and prospects." Vol. 73. 11. Kidney Int., 2008.
255. Talreja, H, et al. "Classification of Kidney Transplant Recipients Using a Combination of Estimated GFR and Albuminuria Reflects Prognosis." Vol. 13. 5. Am J Transplant., 2013.
256. Talreja, H, et al. "Predicting kidney transplantation outcomes using proteinuria ascertained from spot urine samples versus timed urine collections." Vol. 64. 6. Am J Kidney Dis, 2014.
257. Toblli, JE, et al. "Understanding the Mechanisms of Proteinuria: Therapeutic Implications." International Journal of Nephrology, 2012.
258. Tonelli, M, et al. "Systematic review: kidney transplantation compared with dialysis in clinically relevant outcomes." Am J Transplant., 2011.
259. Torras, J, Herrero-Fresneda I and Gulias O. "Rapamycin has dual opposing effects on proteinuric experimental nephropathies: is it a matter of podocyte damage?" Vol. 24. 12. Nephrol Dial Transplant, 2009.
260. Toto, RD. "Microalbuminuria: definition, detection, and clinical significance." Vol. 6. 11. J Clin Hypertens (Greenwich), 2004.
261. Unal, A, et al. "Microalbuminuria is associated with high prevalence of anemia in renal transplant recipients." Vol. 45. 3. Transplant Proc., 2013.
262. Vathsala, A, et al. "Proteinuria in cyclosporine-treated renal transplant recipients." Vol. 49. 1. Transplantation., 1990.
263. Vergoulas, GV. "Hemolytic uremic syndrome after renal transplantation." Vol. 10. 3. Hippokratia, 2008.
264. Verhave, JC, et al. "Sodium intake affects urinary albumin excretion especially in overweight subjects." Vol. 256. 4. J Intern Med, 2004.

265. Vincenti, F and Ghiggeri GM. "New insights into the pathogenesis and the therapy of recurrent focal glomerulosclerosis." Vol. 5. 6. Am J Transplant., 2005.
266. Viswanathan, G and Upadhyay A. "Assessment of proteinuria." Vol. 18. 4. Adv Chronic Kidney Dis., 2011.
267. Vollenbröker, B, et al. "mTOR regulates expression of slit diaphragm proteins and cytoskeleton structure in podocytes." Vol. 296. 2. Am J Physiol Renal Physiol., 2009.
268. Wągrowaska-Danilewicz, M and M Danilewicz. "Nephrotic syndrome and neoplasia: our experience and review of the literature." Vol. 62. 1. Pol J Pathol., 2011.
269. Wang, Y, et al. "Beneficial effects of tonsillectomy for mesangial immunoglobulin A (IgA) deposition and clinical outcome in five kidney transplant patients with recurrent IgA nephropathy: case report." Vol. 46. 2. Transplant Proc., 2014.
270. Wartiovaara, J, et al. "Nephrin strands contribute to a porous slit diaphragm scaffold as revealed by electron tomography." Vol. 114. 10. J Clin Invest., 2004.
271. Warwick, G, et al. "Planning, Initiating and Withdrawal of Renal Replacement Therapy UK Renal Association 6th Edition." UK Renal Association, 2014.
272. Wavamunno, MD, et al. "Transplant glomerulopathy: ultrastructural abnormalities occur early in longitudinal analysis of protocol biopsies." Vol. 7. 12. Am J Transplant., 2007.
273. Wei, C and J Reiser. "Minimal change disease as a modifiable podocyte paracrine disorder." Vol. 26. 6. Nephrol Dial Transplant, 2011.
274. Weir, MR. "Microalbuminuria and cardiovascular disease." Vol. 2. 3. Clin J Am Soc Nephrol., 2007.
275. White, CA, et al. "Classification of Kidney Transplant Recipients Using a Combination of Estimated GFR and Albuminuria Reflects Prognosis." Vol. 2. 8. Transplant Direct., 2016.
276. Wingo, CS and Clapp WL. "Proteinuria: potential causes and approach to evaluation." Am J Med Sci, 2000.

277. Wu, J, et al. "High-dose mycophenolate mofetil in the treatment of posttransplant glomerular disease in the allograft: a case series." Vol. 98. 3. *Nephron Clin Pract.*, 2004.
278. Yamanaka, K, et al. "Depression of Complement Regulatory Factors in Rat and Human Renal Grafts Is Associated with the Progress of Acute T-Cell Mediated Rejection." Vol. 11. 2. *PLoS One.*, 2016.
279. Yarlagadda, SG, et al. "Association between delayed graft function and allograft and patient survival: a systematic review and meta-analysis." Vol. 24. 3. *Nephrol Dial Transplant*, 2009.
280. Yildiz, A, et al. "The prognostic importance of severity and type of post-transplant proteinuria." Vol. 13. 3. *Clin Transplant.*, 1999.
281. Yin, S, et al. "TGF $\beta$ -incurred epigenetic aberrations of miRNA and DNA methyltransferase suppress Klotho and potentiate renal fibrosis." *Biochim Biophys Acta.*, 2017.
282. Yuan, W, et al. "1,25-Dihydroxyvitamin D3 suppresses renin gene transcription by blocking the activity of the cyclic AMP response element in the renin gene promoter." Vol. 282. 41. *J Biol Chem.*, 2007.
283. Zenker, M, et al. "Human laminin beta2 deficiency causes congenital nephrosis with mesangial sclerosis and distinct eye abnormalities." Vol. 13. 21. *Hum Mol Genet.*, 2004.
284. Zhang, R, H Laguardia and A Paramesh. "Early inhibition of the renin-angiotensin system improves the long-term graft survival of single pediatric donor kidneys transplanted in adult recipients." Vol. 26. 6. *Transpl Int.*, 2013.
285. Zhu, P, et al. "Targeted Complement Inhibition Protects Vascularized Composite Allografts From Acute Graft Injury and Prolongs Graft Survival When Combined With Subtherapeutic Cyclosporine A Therapy." Vol. 101. 4. *Transplantation*, 2017.

**Списък на публикациите във връзка с дисертационния труд:**

1. В. Стаменова Протеинурия при бъбречно трансплантирани пациенти Нефрология, диализа и трансплантация, 21, 2015, №1
2. В.Стаменова, Е. Паскалев, Ж.Филипов, Б.Златков, М.Димитров, М.Ортова, М.Петрова, Т.Методиева, Л.Христова, М.Лубих Гломерулна филтрация и протеинурия при лечение с mTOR инхибитор при бъбречно трансплантирани пациенти Нефрология, диализа и трансплантация, 21, 2015, №4
3. Vera Stamenova, Maya Petrova, Tanya Metodieva, Borreli Zlatkov, Jean Filipov, Martin Lubih, Emil Paskalev Proteinuria, ACE inhibitor or angiotensin II receptor blocker and survival in kidney transplant recipients in Bulgaria. International Journal of Current Research; IF 0.08

**Участия в научни форуми:**

1. Национална конференция по нефрология 13.10.2016 - 16.10.2016 г. В. Стаменова, Е. Паскалев, Л. Христова, Б. Златков, Ж. Филипов, Т. Методиева, М. Петрова, М. Лубих Затлъстяване, бъбречна функция и протеинурия при бъбречно трансплантирани пациенти.
2. Национална конференция по нефрология 13.10.2016 - 16.10.2016 г В. Стаменова, Е. Паскалев, Л. Христова, Б. Златков, Ж. Филипов, Т. Методиева, М. Петрова, М. Лубих Албуминурия при бъбречно трансплантирани пациенти.
3. Училище по нефрология 13 - 15 май 2016 год. В. Стаменова; Протеинурия - клинична значимост.

4. VII Национален конгрес по нефрология 20-22.11.2015 г. Обща характеристика на протеинурията при бъбречно трансплантирани пациенти. В. Стаменова, Е. Паскалев.

5. VII Национален конгрес по нефрология 20-22.11.2015 г. Втора постерна сесия Влияние на ACE инхибиторите/ARB върху протеинурията при бъбречно трансплантирани пациенти. В. Стаменова, Е. Паскалев

Участия в международни научни форуми:

1. 4th European Fabry Expert Lounge, Amsterdam, Netherlands, 11-12 March 2016, Fabry PhD and Young Researchers Initiative, presentation "The diagnosis and Treatment of Fabry Disease in Bulgaria"