

Медицински университет София, Медицински факултет,  
Клиничен център по нефрология

УМБАЛ „Александровска“ ЕАД, София

Клиника по нефрология и трансплантация

## **АВТОРЕФЕРАТ**

На тема:

**Протеинурия при бъбречно трансплантирани пациенти**

Докторант: д-р Вера Евгениева Стаменова

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

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

1. Проф. д-р Емил Паскалев Димитров, дмн – вътрешен член, УМБАЛ „Александровска“, Клиничен център по нефрология, Медицински факултет при МУ, научен ръководител – със становище
2. Проф. д-р Боряна Петрова Делийска, дмн – вътрешен член, УМБАЛ „Царица Йоана- ИСУЛ“, Клиничен център по нефрология, Медицински факултет при МУ – с рецензия
3. Проф. д-р Валентина Христова Маджова, дм - МУ-Варна – външен член – с рецензия
4. Доц. д-р Велислава Димитрова Димитрова – външен член, УМБАЛ „Лозенец“, Медицински факултет при СУ – със становище
5. Доц. д-р Светла Василева Стайкова, дм- МУ Варна, външен член – със становище

Резервни членове:

1. Проф. д-р Евгений Стефанов Възелов Медицински Университет София, Клиничен център по нефрология, вътрешен резервен член, който става редовен при отсъствието на вътрешен титуляр
2. Проф. д-р Здравко Илиев Киряков, дмн – външен резервен член за МУ-София, пенсиониран преподавател повече от пет години от академичния състав на Медицински факултет при МУ-София, който става редовен при отсъствие на титуляр – външен член за МУ-София член на журито.

Материалите по защитата са на разположение в Клиничен център по нефрология, Клиника по нефрология и трансплантация, УМБАЛ „Александровска“, София, бул. „Георги Софийски“ № 1

Дисертационният труд съдържа 150 страници, 22 фигури, 17 таблици, 285 цитирани статии.

Публичната защита ще се състои на 27.06.2017г в Аудитория "Проф. Янко Добрев" в сградата на втора хирургия при Александровска болница с начало 14 часа.

Използвани съкращения:

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

AZA – azathioprine

BMI – body mass index

CCB – калциеви антагонисти

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

АКИ – албумин/креатининов индекс

АХ – артериална хипертония

БТ – бъбречна трансплантация

БФ- бъбречна функция

ДАН – диастолно артериално налягане

ЗД – захарен диабет

ПББ – пункционна бъбречна биопсия

ПКИ – протеин/креатининов индекс

СГФ – скорост на гломерулна филтрация (eGFR)

ТХБН – терминална бъбречна недостатъчност

ХБЗ – хронично бъбречно заболяване

## ВЪВЕДЕНИЕ

Протеинурията е маркер за бъбречна патология и фактор, допринасящ към прогресията на хроничното бъбречно заболяване независимо от първоначалната диагноза. Протеинурията е асоциирана и с по-висока сърдечно съдова и обща смъртност. Механизмите, по които настъпва увредата в нативните бъбреци са:

1. Обструкция на тубулния лумен от белтъчни цилиндри
2. Облитерация на изхода на Баумновата капсула от адхезии на капилярния конволут
3. Увреждащи ефекти върху тубулните клетки от филтрирани макромолекули
4. Ефекти на протеини, които имат специфичен рецептор (цитокини, растежни фактори)
5. Последствия от ексцесивната ендоцитоза на филтрирани плазмени протеини
6. Токсични ефекти на молекули, свързани с филтрираните плазмени протеини (липиди).

Всичко това води до експресия на хемоатрактантни и адхезионни молекули от тубулните епителни клетки, активация на комплемента (синтезиран локално от тубулните епителни клетки и филтриран в гломерулите) с цитотоксичен, проинфламаторен и фиброгенен ефект; инфилтрация от възпалителни клетки в интерстициума и активиране на фиброгенезата от синтезата на TGF- $\beta$  – главен стимул за епително-мезенхимна трансформация. Тази патогенетична верига има за резултат тубулна апоптоза, атрофия и интерстициална фиброза.

След бъбречна трансплантация (БТ) протеинурията е индикатор за голям брой заболявания- от повторна поява или новопоявил се гломерулонефрит, до специфични заболявания на графта като остра и хронична реакция на отхвърляне, страничен ефект от лечението с mTOR инхибитор, калциневринова токсичност. Както при нативни бъбреци, лечението на протеинурията след БТ е предизвикателство. Изявата на протеинурия се асоциира с прогресия на заболяването, загуба на графта и по-висока смъртност на пациентите. Значението на детекцията и лечението на протеинурията се подчертава от честотата на проследяване

след БТ – веднъж през първия месец, на всеки 3 месеца през първата година и веднъж годишно след това. Биопсия на графта се препоръчва при новопоявила се протеинурия и в случаите на поява на неизяснена протеинурия над 3г/24ч. Патогенетичното лечение на заболяването, довело до изява на протеинурия не винаги води до намаляване ѝ до физиологични граници или изходна стойност. Много проучвания оценяват ефекта от допълнителни терапевтични мерки за намаляване на протеинурията и сърдечно съдовия риск - добър контрол на АН, лечение с блокери на ангиотензин конвертиращия ензим (ACE inh) или блокери на ангиотензин 2 рецептор 1 (ARBs), калциеви антагонисти (CCBs), антагонисти на алдостерона, по-нисък прием на белтъчини и сол, контрол на телесното тегло, лечение със статини, спиране на тютюнопушенето. Използването на ACEinh/ARB доказано води до намаляване на протеинурията, забавяне на прогресията на заболяването и отлагане на необходимостта от бъбречно заместващо лечение при пациенти с нативни бъбреци със и без захарен диабет. Нарастващ брой клинични проучвания оценяват ефекта от блокирането на РААС след БТ като съобщават противоречиви резултати.

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.

## ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ

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
5. Да се изследват факторите, влияещи върху развитието на протеинурия при лечение с mTOR инхибитори, включени в имunosупресивния режим на БТ пациенти и значението на протеинурията при тази група пациенти върху 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

## МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

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

1. Срезово проучване на бъбречно трансплантираните пациенти с функциониращ графт на диспансерно наблюдение в Клиника по нефрология и трансплантация. Брой – общо 503 БТ пациенти с функциониращ графт, проследени до м12.2016г. При 168 пациента с доказана протеинурия паралелно е изследван и протеин/креатининов индекс (ПКИ) и е изследвана корелацията между пробите.
2. Срезово проучване на БТ с функциониращ графт и различна по степен албуминурия. Изследвани са 32 БТ за наличието на албуминурия. Определена е степента на албуминурията – нормо-, микро – и макроалбуминурия 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. Брой - 430 БТ пациенти. С протеинурия над 0,15г/24ч на трети месец са 212 (44,7%) пациенти. Изследвани са влиянието на наличието на протеинурията на трети месец върху бъбречната функция във времето и влиянието на протеинурията на трети месец върху бъбречната функция след разделяне на пациентите според степента на протеинурията.
4. Ретроспективно проучване на влиянието на протеинурията върху преживяемостта на графта и пациента при 240 БТ пациента с функциониращ графт на 3ти месец, трансплантирани между 01.01.2005 и 31.12.2010г.
5. Ретроспективно лонгитудинално проучване на ефекта от включване на mTOR инхибитор върху протеинурията и бъбречната функция. Общ брой пациенти - 67. Терапията с mTOR инхибитор е продължила поне 12 месеца. Пациентите са проследени за  $44,24 \pm 6,06$  месеца. Целта на проучването е да се установи: 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 след включване на mTOR инхибитор

6. Ретроспективно лонгитудинално проучване на ефекта от лечението с ACE/ARB, ССВ или комбинация от двете групи медикаменти. От 474 пациенти с функциониращ графт 143 са на терапия с ACE инхибитор/ARB от поне 12 месеца, 74 са на терапия с ССВ 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 ACEinh/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, количествени данни за нормално разпределение- с paired sample t-test, или Mann-Whitney U-test при разпределение различно от нормалното. ROC анализ - за определяне на предиктивна стойност; Kaplan Meier log rank test за определяне на преживяемост и унивариантен и мултивариантен Cox regression анализ за определяне на риска.

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

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

Изчислена скорост на гломерулна филтрация – eGFR по формула MDRD.

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



## РЕЗУЛТАТИ

### 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. 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, а на основното заболяване – на фигура 1.

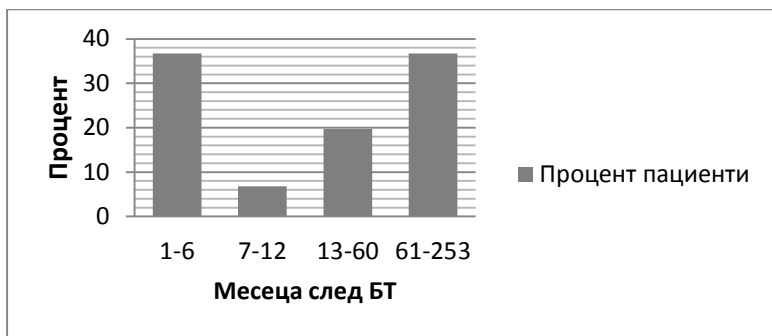
ПАРАМЕТЪР	СТОЙНОСТ
ОБЩ БРОЙ	474
Мъже %	63,22
Жени%	36,78
Възраст	44 $\pm$ 12,3
Тип донор	
Трупен %	46,13
Жив родствен	32,80
Жив неродствен	21,07
Донор мъж %	55,10
Донор възраст	42,64 $\pm$ 13,96
Несъвпадения по HLA	2,98 $\pm$ 1,1
Месеца на ХД	37 $\pm$ 34,2
БТ преди провеждане на ХД %	6,56
Отложена функция 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

Табл. 1 Характеристики на пациентите

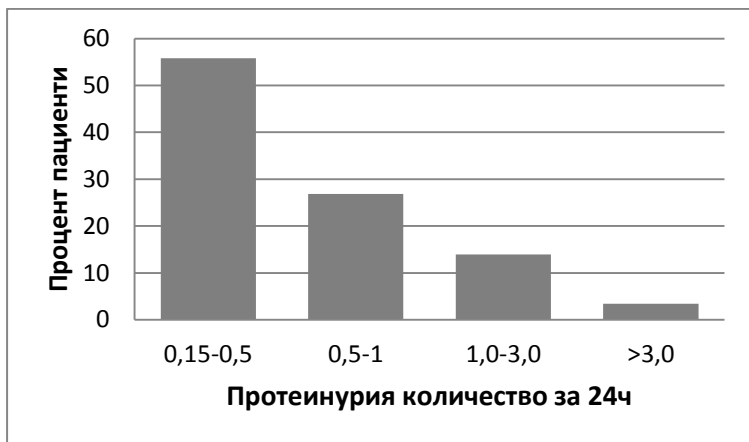
Протеинурията според време на поява след БТ.

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% (фиг 1). От фигура 2 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. 1 Характеристика на протеинурията според време на поява

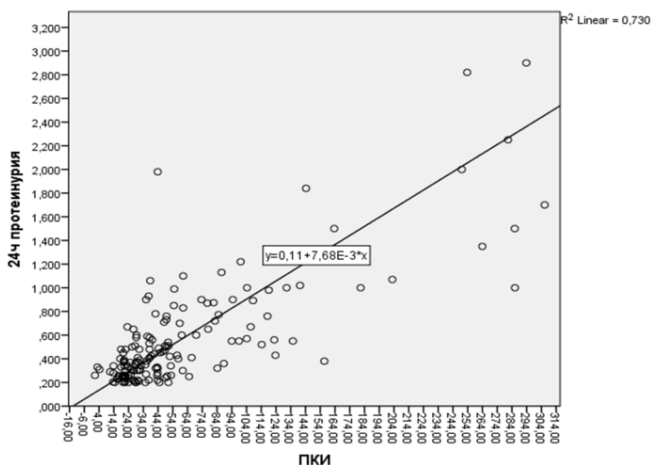


Фиг. 2 Характеристика на протеинурията по степен.

Протеин/креатининов индекс

При 168 пациенти с доказана протеинурия, паралелно е изследван и протеин/креатинин индекс (ПКИ) и е изследвана корелацията между пробите

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. 3 Корелационен анализ за връзката между 24ч-протеинурия и протеин/креатинин индекс.

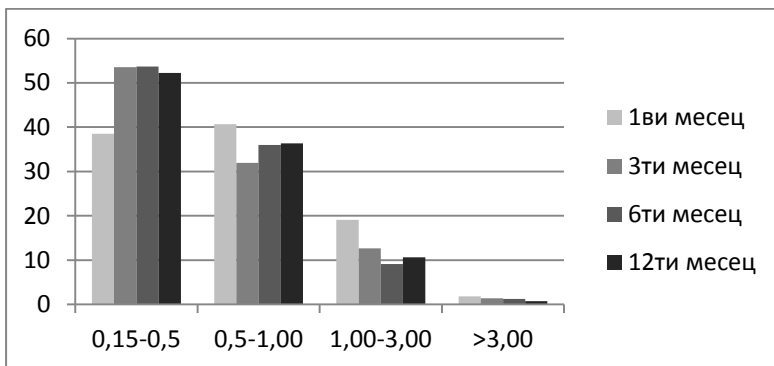
Промяна в степента и честотата на протенурията след БТ

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.

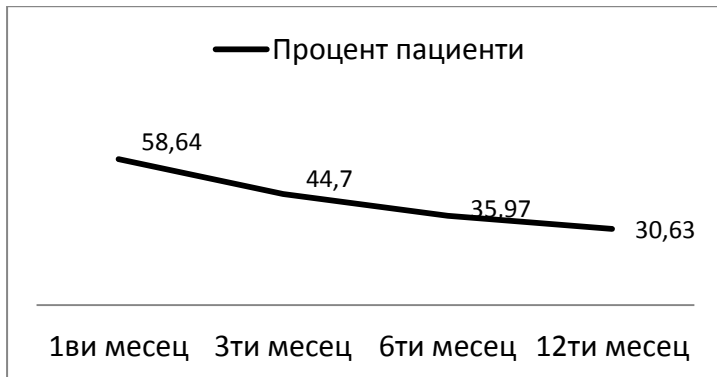
Държава	Брой пациенти	Граница на протеинурията гр/24ч	Време след трансплантацията (месеци)	Честота на протеинурия
Fernandez-Fresnedo et al,5 2002 Испания	532	>3	>12	13,7
Park et al,23 2000 Южна Корея	884	>1	>6	40,0
Fernandez-Fresnedo et al,19 2004 Испания	3365	>0,5	12	15,3
Halimi et al,20 2005 Франция	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

Табл 2 Честота на протеинурията след БТ.

По степен и честота протеинурията на първи месец се характеризира с най-голям процент пациенти – 40% с протеинурия между 0,5 и 1г/24ч. От трети месец до първата година, тази характеристика се променя и най-голям е процентът пациенти с нискостепенна протеинурия – около 53% (фиг 4).



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



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

Най-голям процент пациенти с протеинурия се установява през първи месец след бъбречната трансплантация. Със стабилизиране на бъбречната функция и изчезване на фактори като протеинурията от собствените бъбреци, увредата от исхемия-реперфузия, отложената функция на графта на 12ти месец този процент намалява до 30,6%,.

От проведеното срезово проучване се направиха следните изводи:

1. В 23,8 % от пациентите 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. 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

4. Честотата на протеинурията намалява във времето след бъбречната трансплантация и достига 30% на 12ти месец.

## СРЕЗОВО ПРОУЧВАНЕ НА ВЛИЯНИЕТО НА АЛБУМИУРИЯТА 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
Имуносупресив на терапия – mTOR	1	2	0
ЗД	0	2	0

таблица 3 Характеристика на пациентите според степента на протеинурия.

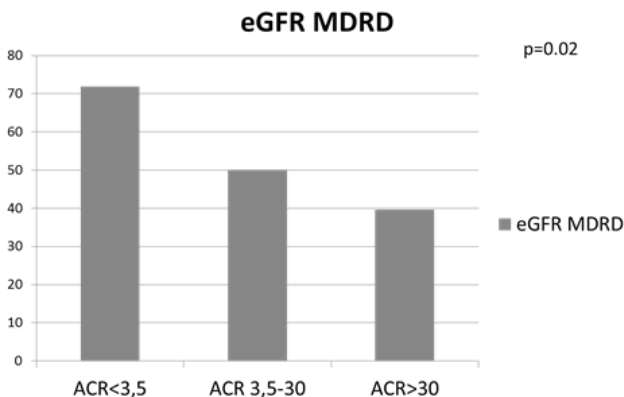
Показател	Албуминурия <30мг/24ч	Албуминурия 30-300мг/24ч	Албуминурия над 300мг/24ч	Статистическа разлика
Систолно АН	122.14 SD 14.9	136.64 SD 15.99	135.00 SD 12.9	<b>p=0.093a</b> p=0.310b p=0.999c

Диастолично АН	79.64 SD 8.4	85.00 SD 8.5	90 SD 8.2	p=0.231a <b>p=0.095b</b> p=0.556c
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 4 Сравнение на пациентите при различните степени на албинурия.

Беше сравнена бъбречната функция при различна по степен албинурия, изследвана с албумин/креатининов индекс (ACR) – фиг. 9.





фигура 6 Сравнение на бъбречната функция при различна степен на албуминурията.

В направеното проучване имаше разлика 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, Tасг 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, Tасг 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 ( Tасг – 3, 1 – само КС+MMF)

## ИЗВОДИ

1. Има статистически значима разлика в иГФ между нормоалбуминуричните пациенти и тези с 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.

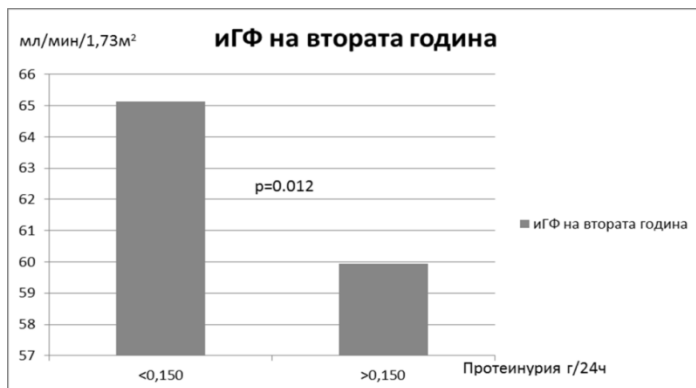
## РЕТРОСПЕКТИВНО ЛОНГИТУДИНАЛНО ПРОУЧВАНЕ ПРИ ПРОТЕИНУРИЯ НА ТРЕТИ МЕСЕЦ

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. Характеристиките са представени в таблица 3.

Показател	Протеинурия <0,15г/24ч	Протеинурия 0,15-0,5г/24ч	Протеинурия 0,5-1,0г/24ч	Протеинурия >1,0г/24ч	Стойност на p
<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
<b>Месеца на ХД</b>	39.2 SD 34.58	37.05 SD 37.43	32.37 SD 27.538	30.97 SD 29.527	Ns
<b>Тип донор % трупен</b>	43,9	53,5	38,2	43,3	Ns
<b>Донор възраст</b>	40.92 SD 14.14	43.25 SD 12.54	44.83 SD 14.292	46.82 SD 15.305	Ns
<b>Донор пол % Мъже</b>	54.7	49.4	59.3	65.2	
<b>HLA несъвпадения</b>	3.13 SD 1.3	2.76 SD 1.03	2.89 SD 0.782	3.33 SD 0.577	Ns
<b>Алоантитела 0 %</b>	87,4	90,3	88,2	80,0	
<b>Систолно налягане</b>	<b>126.58 SD 13.36</b>	<b>130.79 SD 15.62</b>	129.93 SD 14.75	133.17 SD 14.353	<b>0.042</b>
<b>Диастолно налягане</b>	80.95 SD 9.29	81.8 SD 10.39	81.84 SD 8.55	79.67 SD 15.92	Ns
<b>ИТМ</b>	24.4 SD 4.8	24.9 SD 5.1	25.23 SD 4.39	26.73 SD 4.61	Ns
<b>Бъбречна биопсия</b>					
<b>Остро отхвърляне</b>	11.5	10.5	7.4	16.7	Ns
<b>Хронично отхвърляне</b>	6.5	3.5	13.2	10.0	Ns
<b>Хронична нефропатия</b>	13.4	7.9	5.9	6.7	Ns
<b>ГН (релапс)</b>	3.8	3.5	4.4	10	Ns

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

Таблица 5. Характеристика на пациентите при различна по степен протеинурия.



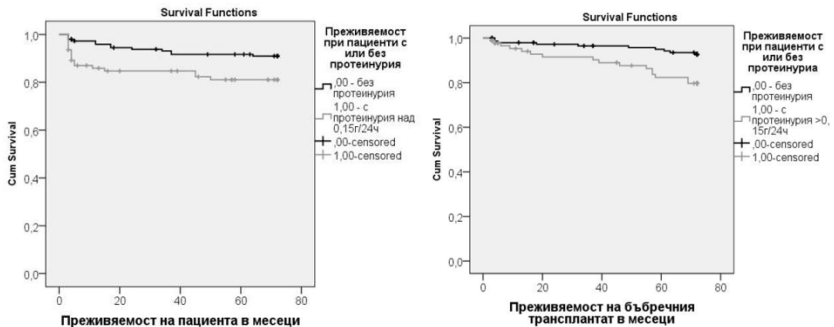
Фиг. 7 Разлика в бъбречна функция на втората година при пациенти с и без протеинурия на трети месец.

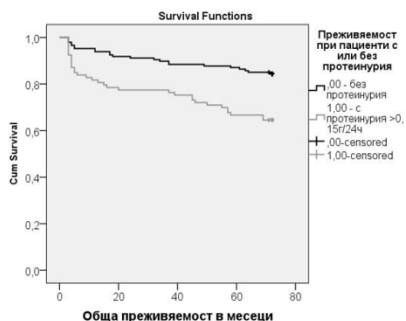
На фиг. 7 е представена статистически значима разлика в бъбречната функция на втората година при наличие на протеинурия на 3ти месец ( $p=0,012$ ).

Изводи:

1. Установи се статистически значима разлика в бъбречната функция на втората година между апротеинуричните пациенти и тези с протеинурия над 0,15г/24ч на трети месец след БТ.
2. Пациентите с протеинурия над 1г/24ч на трети месец са били с протеинурия над 1г/24ч и на първата година, имали са най-висок процент сърдечносъдови усложнения и най-висока честота на ЗД.
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 8). Характеристиките на пациентите са представени на табл 6.





Фиг 8 Преживяемост при протеинурия на 3ти месец.

Показател	Протеинурия под 0.15g/24h	Протеинурия над 0.15g/24h	Стойност на р
<b>БРОЙ</b>	147	93	
<b>ВЪЗРАСТ</b>	<b>36.90 SD 13.108</b>	<b>41.15 SD 12.546</b>	<b>0.016</b>
<b>ПОЛ</b>			0.202
<b>Мъже</b>	95 (64.6%)	68 (73.1%)	
<b>Жени</b>	52 (35.4%)	25 (26.9%)	
<b>Месеца на ХД</b>	38.55 SD 35.172	39.63 SD 39.458	0.826
<b>Тип донор</b>			0.065
<b>трупен</b>	55 (37.4%)	37 (39.8%)	
<b>жив</b>	92 (62.6%)	56 (60.2%)	
<b>Донор възраст</b>	<b>39.71 SD 13.936</b>	<b>44.69 SD 11.075</b>	<b>0.032</b>
<b>Донор пол</b>			0.329
<b>мъже</b>	88 (59.9%)	48 (51.6%)	
<b>жени</b>	59 (40.1%)	45 (48.4%)	
<b>HLA несъвпадения</b>	<b>3.34 SD 1.078</b>	<b>2.67 SD 1.33</b>	<b>0.040</b>
<b>Алоантитела</b>	30 (20.4%)	13 (14%)	0.206
<b>Систолно налягане</b>	129.31 SD 15.134	131.98 SD 16.105	0.200
<b>Диастолично налягане</b>	82.07 SD 9.567	82.53 SD 12.096	0.747
<b>ИТМ</b>	24.56 SD 5.25	24.88 SD 4.06	0.612
<b>Бъбречна биопсия</b>	57 (38.78%)	32 (34.41%)	0.487
<b>Остро</b>	15 (26.32%)	10 (31.25%)	ns

<b>отхвърляне</b>			
<b>Хронично отхвърляне</b>	9 (15.78%)	8 (25%)	ns
<b>Хронична нефропатия</b>	18 (31.58%)	5 (15.62%)	ns
<b>Калциневринова токсичност</b>	8 (14.04%)	3 (9.38%)	ns
<b>ГН (релапс или de novo)</b>	7 (12.28%)	6(18.75%)	ns
<b>eGFR на 3ти месец</b>	<b>59.48 SD 22.51</b>	<b>50.88 SD 23.056</b>	<b>0.005</b>
<b>eGFR на 12ти месец</b>	<b>60.03 SD 19.39</b>	<b>52.74 SD 19.31</b>	<b>0.009</b>
<b>eGFR на 24ти месец</b>	<b>61.05 SD 18.26</b>	<b>52.81 SD 19.31</b>	<b>0.002</b>
<b>eGFR на 36ти месец</b>	<b>60.23 SD 20.55</b>	<b>53.17 SD 20.94</b>	<b>0.021</b>
<b>eGFR на 60ти месец</b>	59.67 SD 21.33	54.89 SD 18.54	0.133
<b>Хемоглобин</b>	136.16 SD 17.71	132.97 SD 15.86	0.244
<b>Отложена функция</b>	<b>22 (15%)</b>	<b>29 (31.2%)</b>	<b>0.003</b>
<b>Имуносупресия</b>			
<b>КС</b>	101 (68.7%)	74 (79.6%)	0.065
<b>AZA</b>	14 (9.5%)	12 (12.9%)	0.412
<b>MMF</b>	116 (78.9%)	79 (84.9%)	0.243
<b>CsA</b>	68 (46.3%)	49 (52.7%)	0.332
<b>Tacrolimus</b>	62 (42.2%)	35 (37.6%)	0.063
<b>mTORinhibitor</b>	19 (12.9%)	9 (9.7%)	0.187

Табл 6 Характеристика на пациентите.

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 под 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 провеждане на унифакторен анализ, показателите, значимо повлияващи преживяемостта на пациента са представени 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

Табл 7 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 представени на табл. 8.

Factor	HR	P value	95% CI
eGFR на 3ти месец ( над 56ml/min/1,73m <sup>2</sup> )	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
Систолично налягане (над 130.339)	1.024	0.038	1.001 to 1.046
Диастолично налягане (над 82,246)	1.043	0.015	1.008 to 1.080

Табл 8 Унифакторен анализ – преживяемост на графта

От мултифакторния Сох 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 представени 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

Табл 9 Унифакторен анализ – обща преживяемост.

От мултифакторния Сох 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. В изледваната група БТ пациенти протеинурията на трети месец след БТ оказва негативен ефект върху шестгодишната преживяемост на графта и пациента.



2. От всички изследвани фактори с достатъчна значимост за преживяемостта на пациентите са наличието на захарен диабет и терапия с кортикостероиди, като негативни фактори. Лечението с АСЕинх/ARB показва протективен ефект по отношение на преживяемостта на пациентите.
3. Върху преживяемостта на графта значими фактори с негативен ефект са наличието на алоантитела и протеинурия на 3ти месец над 0,15г/24ч.
4. Върху общата преживяемост значим негативен ефект имат протеинурията на 3ти месец, терапията с кортикостероиди и наличието на ЗД. Протективен ефект върху общата преживяемост оказват терапията със статини и изчислена ГФ над 56мл/мин/1,73м<sup>2</sup> на 3ти месец.

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

Проведе се ретроспективно проучване, включващо 67 бъбречно трансплантирани 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. Проведен беше анализ на факторите, имащи влияние върху развитието на протеинурия при терапия с mTOR инхибитор. Изследвано беше влиянието на терапията с ACEinh/ARB върху протеинурията след започване на терапия с mTOR инхибитор.

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

Преди започване на терапията средната стойност на гломерулна филтрация, изчислена по MDRD формула, е 55 ±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 ±16, 59 ±17 и 56 ±18 мл/мин/1,73м<sup>2</sup> (p=0.019, p=0.024 и p=0,047, съответно), след което стойностите

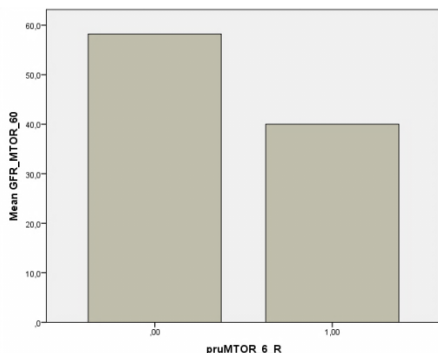
остават стабилни, но се губи статистически значимата разлика с изходното ниво.

При разделяне на пациентите в две групи – започнали терапия при eGFR под 40мл/мин/1,73м<sup>2</sup> и започнали терапия при eGFR над 40 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>, се установи повишаване на eGFR – 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 на 62,3 SD 14; при пациентите с начална eGFR под 40мл/мин/1,73м<sup>2</sup> – от 34 SD 4 на 42,5 SD 16. 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 1,1, 1,17 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 включени 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 ( $p=0.02$ ). Резултатът е предсавен на фиг 9.

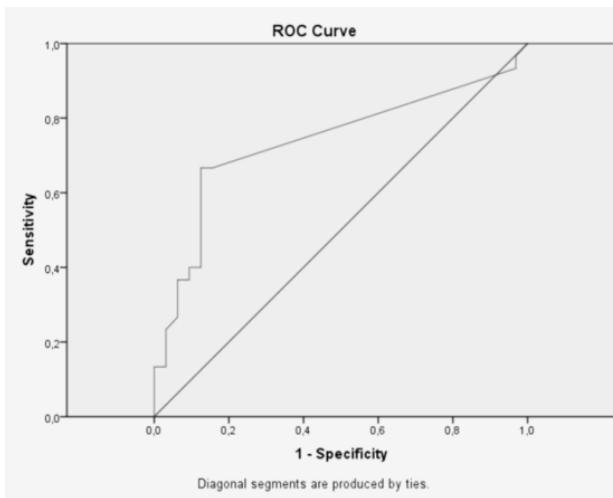


Фиг. 9 Бъбречната функция на 5тата година е статистически значимо по-ниска при пациентите, които са развили протеинурия на 6ти месец след започване на терапията с mTOR инхибитор.

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 развитието 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 развитие на протеинурия с достатъчна специфичност и чувствителност се определи 0,164г/24ч (Фиг. 10). Други изследвани фактори - пол, възраст, време от провеждане на бъбречната трансплантация до началото на лечение с mTOR инхибитор, изчислена гломерулна филтрация, тип донор нямат статистически значимо влияние върху развитието на протеинурия.



Фиг. 10 ROC – крива

Протективен фактор за развитие на протеинурия на 6ти 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. 10).

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)	.529	.023	.019	.011	.032	.333	.004	.973
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.

Табл. 10 Mann-Whitney U test и статистически значимо по-ниска протеинурия още на 1ви месец при пациентите, приемали 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 развитието 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 ЗА 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 11.

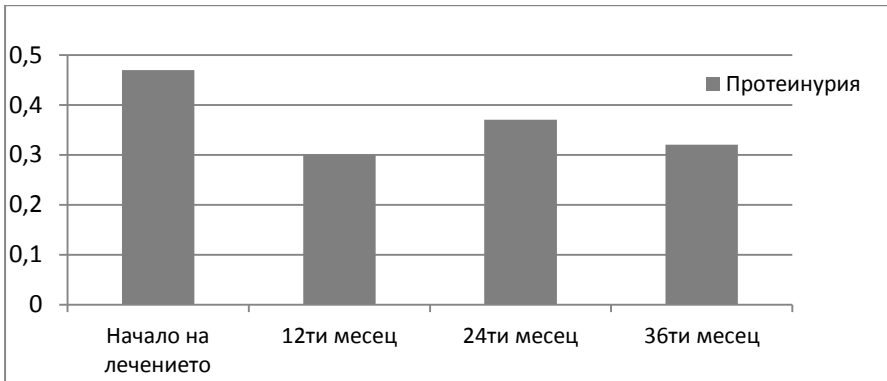
Patient characteristics	ACEinh/ARB (a)	CCB (b)	Combination (c)	P value
Total number	143	74	72	
Age	44.75 SD 12.071	46.15 SD 12.134	47.40 SD 10.977	p(a-b)=0.687 p(a-c)=0.268 p(b-c)=0.798
Male patients %	89 (62.2%)	50 (66.7%)	53 (74.6%)	p=0.074
Months after KT	42.21 SD 57.4	33.42 SD 55.19	32.78 SD 48.36	p(a-b)=0.503, p(a-c)=0.477, p(b-c)=0.0.997
Months on dialysis treatment before KT	<b>31.73 SD 27.92</b>	<b>44.03 SD 37.436</b>	36.14 SD 30.809	<b>p(a-b)=0.018</b> p(a-c)=0.597 p(b-c)=0.285
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
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	<b>0.294 SD 0.337</b>	<b>0.614 SD 1.28</b>	0.550 SD 1.168	<b>p(a-b)=0.037</b> , 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
Hemoglobin at the beginning of	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,



therapy					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
Mean duration of treatment in months	32,98 SD 7.187	25.95 SD 10.884	31.5 SD 8.648		<b>p(a-b)&lt;0.001</b> , p(a-c)=0.462, <b>p(b-c)&lt;0.001</b>
BMI	25.242 SD 4.905	25.299 SD 4.969	26.307 SD 4.901		p(a-b)=0.996, p(a-c)=0.293, p(b-c)=0.435
HLA mismatches	3.44 SD 1.097	2,91 SD 0.944	3.0 SD 1.342		p(a-b)=0.440, p(a-c)=0.565, p(b-c)=0.981
Alloantibodies	13 (9.1%)	12 (16.3%)	9 (12.5%)		p(a-b)=0.053, p(a-c)=0.138, p(b-c)=0.288
Male donor %	55,3%	52.7%	49.1%		p(a-b)=0.084, p(a-c)=0.063, p(b-c)=0.226
Donor age	<b>41.17 SD 13.854</b>	<b>48.17 SD 12.117</b>	44.65 SD 14.297		<b>p(a-b)=0.009</b> , p(a-c)=0.289, p(b-c)=0.403
Type of donor - cadaveric %	55 (44.4%)	49 (49%)	39 (60%)		p(a-b)=0.295, p(a-c)=0.059, p(b-c)=0.285
Systolic BP	129.06 SD 13.557	132.30 SD 16.741	132.71 SD 15.427		p(a-b)=0.283, p(a-c)=0.208, p(b-c)=0.985
Diastolic BP	81.47 SD 11.019	82.97 SD 11.101	82.57 SD 9.605		p(a-b)=0.589, p(a-c)=0.757, p(b-c)=0.972

Табл. 11 Обща характеристика на пациентите

Ефект на лечението с ACEinh/ARB върху протеинурията е представен на фиг. 12.



Фиг. 12 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.

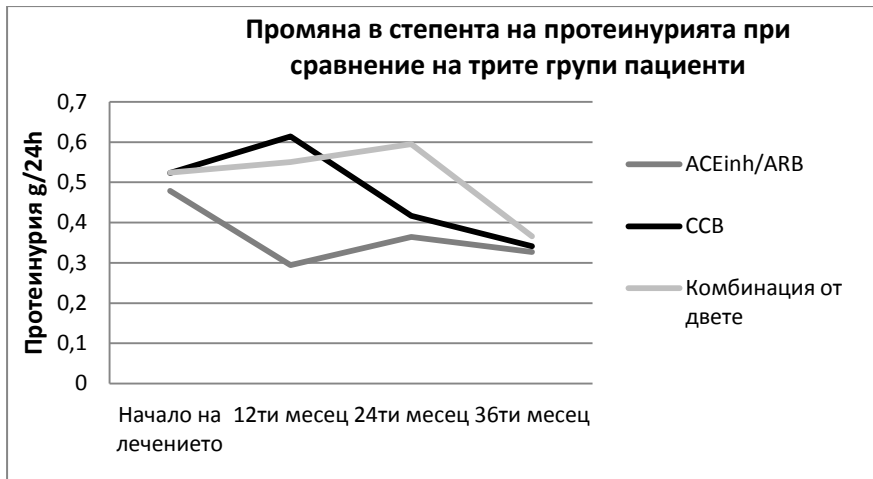
Няма статистически значима разлика в изчислената скорост на гломерулна филтрация на 12ти, 24ти и 36ти месец след започване на терапията с ACEinH/ARB ( $p = 0,131$ ,  $p = 0,473$ ,  $p = 0,671$ , съответно). Не се установи статистически значима промяна и в хемоглобиновите нива.

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 ССВ 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 ССВ самостоятелно, но не и в комбинация с ACEinH/ARB.

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 -  $p=0,037$ .



Фиг 13 Сравнение на протеинурията във времето при лечение с ACEinh/ARB, CCB или комбинация от групите медикаменти.

В светлината на експериментални проучвания за позитивен ефект от терапията с ACE инх/ARB върху гломерулосклерозата и тубулоинтерстициалната увреда, идентифицирахме 91 БТ пациенти с биопсично доказана патология на графта. От тях 36 са на лечение с ACEинх/ARB, което е започнато до 24 месец след БТ и е продължило поне 12 месеца. Характеристиките на пациентите са представени на таблица 12.

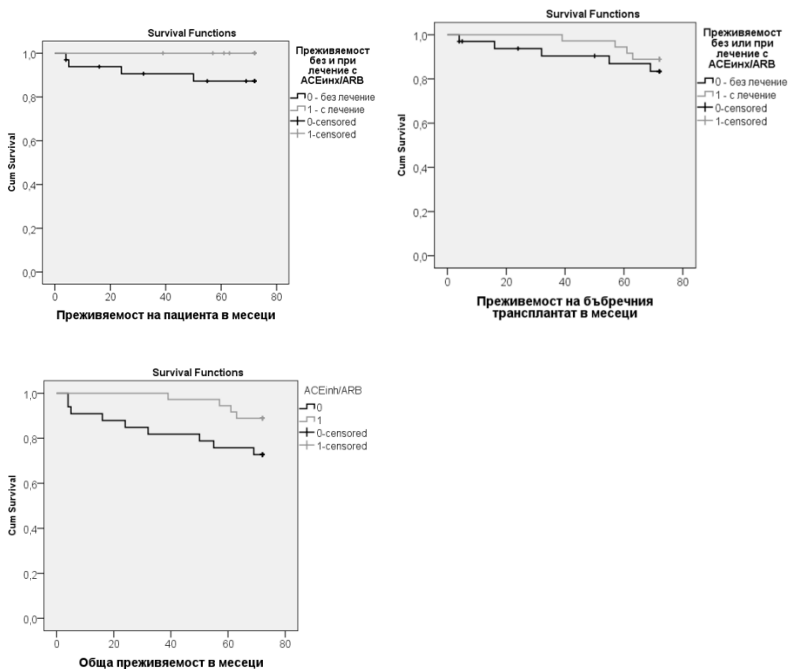
Factor	ACEinh/ARB treatment	Control group	P value
<b>NUMBER</b>	36	33	
<b>AGE</b>	34.20 SD 12.4	36.13 SD 14.378	0.560
<b>SEX</b>			0.099
<b>Men</b>	28 (77.8%)	20 (60.6%)	
<b>Women</b>	8 (22.2%)	13 (39.4%)	
<b>Months on HD</b>	33.94 SD 29.262	28.7 SD 32.174	0.484

<b>Donor type</b>			0.672
<b>cadaveric</b>	11 (30.6%)	11 (33.3%)	
<b>living</b>	25 (69.5%)	22 (66.7%)	
<b>Donor age</b>	41.24 SD 13.274	36.12 SD 10.885	0.209
<b>Donor sex - male</b>	19 (52.8%)	24 (72.7%)	0.141
<b>HLA mismatches</b>	3.22 SD 0.972	3.00 SD 1.41	0.595
<b>Alloantibodies</b>			0.177
<b>None</b>	29 (80.6%)	22 (66.7%)	ns
<b>HLA class I/II</b>	7 (19.4%)	11 (33.3%)	ns
<b>DGF</b>	11 (30.6%)	5 (15.2%)	0.130
<b>Systolic pressure</b>	133.61 SD 14.223	135.78 SD 18.144	0.583
<b>Diastolic pressure</b>	84.03 SD 8.436	85.63 SD 11.76	0.519
<b>BMI</b>	24.65 SD 4.94	25.68 SD 6.286	0.450
<b>Diabetes</b>	5 (13.9%)	6 (18.2%)	0.804
<b>eGFR 12months</b>	57.92 SD 18.698	53.57 SD 19.98	0.365
<b>eGFR 24months</b>	56.36 SD 17.150	51.52 SD 17.54	0.267
<b>eGFR 36months</b>	52.11 SD 17.297	48.93 SD 18.8	0.489
<b>eGFR 60months</b>	55.53 SD 18.836	48.0 SD 21.18	0.156
<b>Proteinuria month 12</b>	0.428 SD 0.558	0.193 SD 0.133	0.807
<b>Proteinuria month 24</b>	0.360 SD 0.441	0.171 SD 0.060	0.516
<b>Proteinuria month 36</b>	0.638 SD 1.734	0.276 SD 0.363	0.390
<b>Proteinuria month 60</b>	0.359 SD 0.389	0.655 SD 0.799	0.799
<b>Statin</b>	9 (25%)	4 (12.5%)	0.191
<b>Immunosuppression</b>			
<b>Corticosteroid</b>	28 (77.8%)	26 (78.8%)	0.919
<b>MMF</b>	33 (91.7%)	28 (84.8%)	0.377
<b>AZA</b>	1 (2.8%)	3 (9.1%)	0.262
<b>Tacrolimus</b>	15 (41.7%)	13 (39.4%)	0.848
<b>CsA</b>	14 (38.9%)	16 (48.5%)	0.422
<b>mTOR inh</b>	8 (22.2%)	4 (12.1%)	0.269
<b>Kidney biopsy</b>			
<b>Acute rejection</b>	9 (25%)	10 (30.3%)	ns
<b>Chronic rejection</b>	8 (22.2%)	8 (24.2%)	ns
<b>Chronic nephropathy</b>	7(19.4%)	9 (27.3)	ns

<b>CNI toxicity</b>	7 (19.4%)	3 (9.1%)	ns
<b>GN- relapse or de novo</b>	5 (14%)	3 (9.1%)	ns

Таблица 12 Характеристика на пациентите с биопсично доказана патология на графта с или без лечение с ACE инх/ARB.

При провеждане на Kaplan Meier анализ се установи статистически значимо по-висока шестгодишна 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 14.



Фиг 14 Преживяемост на графта и пациента при лечение с ACEинх/ARB 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. Установи се значима разлика в протеинурията на 12ти месец след началото на лечението между пациенти, лекувани с ACE инх/ARB и ССВ.
3. ACEинх/ARB имат значим протективен ефект върху преживяемостта на пациента, включително и при биопсично доказана патология на графта.
4. ACEинх/ARB не показаха самостоятелен значим ефект върху преживяемостта на графта.
5. Дихидропиридиновите ССВ показаха значим негативен ефект върху общата преживяемост и преживяемостта на графта при пациенти с биопсично доказана патология.

## ОБСЪЖДАНЕ

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, при БТ пациенти в България 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 бтата 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 големия процент пациенти с вече настъпило увреждане от CNIs. Не се установи 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 синаптодин, белтъци, необходими за изграждането на слит-диафрамите и поддържане на интегритета на филтрационната бариера от подоцитите. Поради доказано увреждащ ефект на протеинурията, авторите се обединяват около мнението, че 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. Наличието на протеинурия над 0,164г/24ч се оказва единствен предиктор за развитие 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 върху експресията на нефрин, подоцин и синаптодин 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 БТ 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 инх/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. 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 да забавят 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 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 пониска eGFR на втората година, като най-голям 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 eGFR 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 стриктния 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 протеинурични пациенти и количеството на протеинурията в популацията изследвани пациенти, като единствен рисков фактор за поява на протеинурия е наличието на такава 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 протективна роля по отношение на 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. 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.
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 стриктният 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.

## Списък на публикациите и участията в научни форуми

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 БЪБРЕЧНОТРАНСПЛАНТИРАНИ 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 БЪБРЕЧНОТРАНСПЛАНТИРАНИ 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 АСЕ ИНХИБИТОРИТЕ/ARB ВЪРХУ ПРОТЕИНУРИЯТА ПРИ БЪБРЕЧНОТРАНСПЛАНТИРАНИ ПАЦИЕНТИ. В. Стаменова, Е. Паскалев

Участия в международни научни форуми:

1. 4<sup>th</sup> 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"