



МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ -ПЛОВДИВ  
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ  
КАТЕДРА ПО ПЕДИАТРИЯ“ ПРОФ. ИВАН АНДРЕЕВ“

**Д-р Петя Петкова Маркова**

**Проследяване бъбречната функция при деца,  
провеждащи химиотерапия**

**АВТОРЕФЕРАТ**

*На дисертационен труд за присъждане на  
образователна и научна степен „Доктор“*

Професионално направление : **7.1. Медицина**  
Докторска програма : **Педиатрия. 03.01.50**

**Научни ръководители:**

**Проф. д-р Мария Спасова, дм**

**Проф. д-р Полина Митева- Шумналиева, дм**

Пловдив, 2025г.

## **Съдържание**

<b>I Въведение.....</b>	<b>5</b>
<b>II Цел и Задачи.....</b>	<b>7</b>
1 Цел	
2 Задачи	
<b>III Материал и Методи.....</b>	<b>8</b>
1. Дизайн на проучването.....	8
2 Методи.....	9
<b>IV. Резултати и дискусия .....</b>	<b>13</b>
4.1. Резултати и дискусия по първа задача.....	13
4.2 Резултати и дискусия по втора задача.....	22
4.3. Резултати и дискусия по трета задача.....	35
4.4. Резултати и дискусия по четвърта задача.....	56
4.5. Резултати и дискусия по пета задача.....	65
4.6. Резултати и дискусия по шеста задача.....	72
<b>V. Приложения.....</b>	<b>73</b>
<b>VI. Изводи.....</b>	<b>75</b>
<b>VII. Приноси.....</b>	<b>76</b>
<b>VIII. Списък с публикацииите, научните съобщения и проектите по темата на дисертационния труд.....</b>	<b>77</b>

## **Списък на съкращенията**

### **Съкращения на кирилица**

АСЕ- ангиотензин II конвертаза инхибитори  
АТФ- аденозин три фосфат  
АХ- артериална хипертония  
БЗТ- бъбречно заместителна терапия  
ДНК- дезоксирибонуклеинова киселина  
ДКК- диференциална кръвна картина  
ЕКК- електрокорпорално кръвообръщение  
ИПП – инхибитори на протонната помпа  
КМТ- костно-мозъчна трансплантация  
НСПВС – нестероидни противовъзпалителни средства  
ОБУ- остра бъбречна увреда  
ОБЗ- остро бъбречно заболяване  
ОБН- остра бъбречна недостатъчност  
ОКТ2- органичен катион транспортер  
ПКК- пълна кръвна картина  
РНК- рибонуклеинова киселина  
СУЕ- скорост на утаяване на еритроцитите  
ТМА- тромботична микроангиопатия  
ТЛС – тумор лизис синдром  
УЗ – ултразвук  
ХБЗ- хронично бъбречно заболяване  
ХУС- Хемолитично - уремичен синдром

### **Съкращения на латиница**

AKIN - Acute Kidney Injury Network  
APGAR –A- Appearance, P- Pulse, G- Grimace, A-Activity, R-respiration  
BRAF- ген, който кодира протеин, наречен B-Raf, който е протоонкоген  
DAMPА -2,4 диамино N(10) метилптероична киселина

DTPA - diethylenetriaminepentaacetic acid  
ESKD- End- stage kidney disease  
eGFR- изчислена скорост на гломерулната филтрация  
FeNa%- фракционирана екскреция на натрий  
Feurea – фракционирана екскреция на урея  
FeФ%- фракционираната екскреция на фосфати  
GFR- скорост на гломерулната филтрация  
IGFBP-7- insulin like growth factor – binding protein7  
И-18 – interleukin 18  
KIM-1- kidney injury molecule-1  
KDIGO- Kidney Disease Improving Global Outcomes  
L-FABP – liver-type fatty acid-binding protein  
MTX- Methotrexate  
NGAL-neutrophil gelatinase – associated lipocalin  
NHE-3- Sodium/hydrogen exchanger-3  
РААС- ренин – ангиотензин – алдостерон система  
PO<sub>4</sub>- фосфати  
RIFLE- **R**isk, **I**njury, **F**ailure, **L**oss, **E**nd -stage kidney disease  
RAI - Renal Angina index  
T<sub>mp</sub>/GFR- бъбречен праг за фосфати  
TIMP-2 - Urinary tissue inhibitor of metalloproteinases-2  
uNGAL – уринен NGAL  
7-ОН- MTX – 7 хидрокси метотрексат  
51Cr( [51Cr]-EDTA- етилендиаминтетраоцетната киселина, белязана с 51Cr

## Въведение

Острата бъбречна увреда (ОБУ) е чест проблем при децата с онкологични заболявания. Етиологията ѝ е мултифакторна, но с най-голямо значение е нефротоксичността на провежданата химиотерапия. Възникването на ОБУ по време на лечението налага намаляване дозата на съответния медикамент или замяната му с друг - по-малко нефротоксичен. Това може да има неблагоприятен ефект върху крайния терапевтичен резултат. Втори аспект на нефротоксичността е хроничното бъбречно заболяване (ХБЗ), проявяващо се години след спиране на терапията. Днес над 80 % от онкоболните деца се считат за излекувани. От изключително значение предвид очакванията за нормален живот при тези пациенти е намаляването на дълготрайните странични ефекти от провежданата химиотерапия. При използване на режими на лечение, включващи Cisplatin и Ifosfamide, се установява ХБЗ при 20-50 % от лекуваните деца. Не е ясно дали ХБЗ се предшества от ОБУ и евентуално дали своевременното лечение на ОБУ може да предотврати ХБЗ в бъдеще. Трети аспект на ОБУ вследствие онкотерапия е непознатите все още нежелани лекарствени реакции, в частност нефротоксичност, на навлизащата все по-смело имунотерапия (прицелна терапия).

Класическата диагностика на ОБУ е чрез нивата на серумния креатинин и наличието на олигурия, които обаче са късни маркери – повишават се след повече от 48ч от възникването на бъбречната увреда. Те не могат да диференцират типа на увредата – преренален от ренален. Нивата на серумния креатинин се повишават при отпадане функцията на над 50 % от нефроните. Това означава, че леки и умерени нарушения на бъбречната функция ще останат неразпознати. В условия на медикаментозна нефротоксичност, основният патогенетичен механизъм на ОБУ е тубулната увреда, която по правило е неолигурична и дори и при тежка увреда може да не настъпи промяна в нивата на серумния креатинин.

Уринните биомаркери (NGAL, KIM- 1, IL -18, L-FABP) са нова група лабораторни показатели, които позволяват ранна диагностика на ОБУ в редица клинични ситуации - при пациенти в интензивни отделения след сърдечна операция, при мултиорганна недостатъчност, при новородени в интензивни отделения. Най- ранният от тях е NGAL(neutrophil gelatinase – associated lipocalin) - установява се повишение с висока честота още на първи ден от увредата, преди останалите показатели за ОБУ. Той е маркер за настъпила субклинична увреда. Има висока чувствителност – установява се висока честота на повишение на NGAL сред пациентите с доказана чрез златния стандарт ОБУ. NGAL има висока специфичност – установява се висока честота на нормални стойности на NGAL при пациентите без ОБУ съгласно златния стандарт. Ролята му като ранен маркер за настъпване на

ОБУ в условия на нефротоксичност в онкологията е все още не добре проучен.

## **II Цел и Задачи**

**1 Целта** на настоящия труд е проследяване бъбречната функция при деца, провеждащи химиотерапия.

За изпълнението на тази цел сме си поставили следните задачи:

### **2.Задачи:**

2.1 Да се направи анализ на честотата, характеристиката и типа на ОБУ в детска онкохематология за период от 5 години чрез преглед на болничната документация

2.2. Да се проследи динамиката на NGAL в урина като ранен маркер за ОБУ при деца, провеждащи химиотерапия.

2.3 Да се проучи ролята на класическите маркери за ОБУ- креатинин и GFR като маркери за ОБУ в детската онкология.

2.4. Да се установи значимостта на маркерите за проксимална тубулна увреда – фракционирана екскреция на фосфати и бъбречен праг за фосфати като ранни маркери за нефротоксичност

2.5. Да се направи анализ на честотата на ХБЗ сред децата, провеждали преди повече от една година химиотерапия, както и ролята на NGAL като маркер за хронично бъбречно заболяване.

2.6 Да се предложи алгоритъм за проследяване на бъбречната функция при деца, лекувани с нефротоксични медикаменти.

### **III Материал и Методи**

#### **1. Дизайн и организация на проучванията**

За изпълнение на поставените цел и задачи са проведени следните проучвания:

**1.1 Ретроспективно проучване** върху хоспитализирани пациенти в Клиниката по Педиатрия на УМБАЛ „Св. Георги“ за периода 2016-2020 г. с анализ на медицинска документация в съответствие със стандартите и критериите за анонимност и етичност и на изискванията на болничното заведение по отношение на медицинската документация.

#### **Включващи критерии:**

1. Възраст от 0 до 18 години
2. Диагноза на основното заболяване: солидни тумори и малигнени хемопатии.
3. Новодиагностицирани пациенти , постъпващи за първи път на лечение в детска онкохематология

#### **Исключващи критерии са:**

1. Деца с предхождащи бъбречни заболявания,
2. Деца с хронично бъбречно заболяване,
3. Пациенти след проведена костно-мозъчна трансплантация.

Данните са получени от електронното досие на пациентите, а именно възраст на изява на заболяването, вид заболяване, лабораторни данни при постъпването- урея, креатинин, електролити, кръвно-газов анализ, както и в хода на лечението, анализ на урина. Анализирани са следните променливи: възраст при диагнозата на онкологичното заболяване, вид на заболяването (солиден тумор или малигнена хемопатия), бъбречна инфилтрация при дебюта на заболяването, наличие на други ко-морбидности като сърдечна недостатъчност, неврологична увреда, чернодробна дисфункция, дихателна недостатъчност, наличие на инфекция, включително септична такава, данни за тумор лизис синдром, лабораторни данни при постъпването – нива на серумен креатинин, урея, електрорилити, кръвно -газов анализ , като и в хода на лечението, анализ на урина, химиотерапия с нефротоксични медикаменти (високодозов Methotrexate, Ifosfamide , Cisplatin, Carboplatin) по отношение изявата на епизод на остра бъбречна увреда.

Събития, случили се 14 дни преди настъпването на епизод на остра бъбречна увреда, са приемани като рискови фактори за изявата ѝ. Допълнително е проучена тежестта на ОБУ.



**1.2 Срезово проучване**, включващо 40 деца, провеждащи химиотерапия с нефротоксични медикаменти в отделението по детска онкохематология на Клиниката по Педиатрия на УМБАЛ „Св. Георги“.

**Включващи критерии:**

- Възраст от 0 до 18 години
- Провеждащи лечение с нефротоксичен медикамент
- Без данни за предхождаща бъбречна увреда или бъбречна аномалия
- Подписано информирано съгласие

**Изключващи критерии са :**

- наличие на коморбидно състояние- данни за сепсис
- лечение с друг нефротоксичен медикамент – антибиотик, противовирусен или противогъбичен медикамент

При всички деца е изследвана кръвна проба преди започване на всеки химиотерапевтичен цикъл, общо 116 цикъла, както и на 12 час след приключването му.

В урина се измерени нива на NGAL, съотношение NGAL/ креатинин, FeФ% - фракционирана екскреция на фосфати, изчисли се бъбречен праг за фосфати. В кръв са анализирани ниво на серумен креатинин, урея, електролити – включително фосфор и магнезий, изчисли се eGFR по оригиналната формула на Schwartz, по коригираната спрямо телесната повърхност формула на Schwartz, както и по формулата на Brandt.

**1.3. Проспективно проучване** върху група от 28 деца, приключили своето лечение с нефротоксични медикаменти преди поне една година за анализ и оценка за настъпване на хронично бъбречно заболяване.

**Включващи критерии:**

- Диагностицирани и лекувани с нефротоксични медикаменти в клиниката по Детска онкохематология
- Приключила терапия преди поне една година
- Подписано информирано съгласие

**Изключващи критерии:**

- Данни за ХБЗ, предхождащо изявата на онкологичното заболяване

**2. Методи**

При всички пациенти са използвани следните методи:

**2.1 Клиничен метод**

При всяка хоспитализация, подробно са описвани анамнеза, обективно състояние на детето и е извършен обстоен физикален преглед. Отражено е физическото развитие – ръст и тегло, артериално налягане.

## **2.2 Стандартни лабораторни и образни изследвания**

Всички лабораторни изследвания са проведени в Централна клинична лаборатория на при УМБАЛ „Св. Георги“- Пловдив

**2.2.1** ПКК, ДКК, СУЕ – еритроцити, хемоглобин, тромбоцити, левкоцити, диференциално броене на левкоцитите, СУЕ – изработени са на автоматична хематологична система за общо и диференциално клетъчно броене Advita 21220i, Siemens Diagnostics, на оптичен и флуоцитометричен принцип за анализ

**2.2.2** Биохимични изследвания – общ белтък, албумин , урея, креатинин, електролити, трансаминази, С-реактивен протеин – изследвани са на автоматичен биохимичен анализатор AU 480, Beckman Coulter, на турбидиметричен принцип.

**2.2.3** Уринен анализ- урина за белтък , седимент, електролити, креатинин-изработени на принципа на биохимичните изследвания, като за електролитите е използван йон- селективен модул на принципа на потенциометрията.

**2.2.4** Кръвно-газов анализ – конвенционални аналитични принципи на кръвно-газов анализатор ABL800 FLEX, Radiometer

**2.2.5** Ултразвуково изследване на отделителната система със съвременен ехографски апарат (Philips ) с конвексен трансдюсер 3,5 MHz, като са описани размера на бъбреците, тяхната структура, ехогенност, наличие на дренажни смущения, конкременти .

**2.2.6** Определяне нивата на NGAL в урина – извършено чрез Architect plus 12000ES на фирма Abbott – хемилуминисцентен имуноанализ с микрочастици за количествено определяне на липокалин , свързан с неутрофилна желатиназа (NGAL) в човешка урина. Използвани са китове за NGAL на фирма Abbot

## **2.3 Функционални изследвания**

**2.3.1** Определяне на скорост на гломерулната филтрация (eGFR) – чрез оригиналната формула на Schwartz. За норма според възрастта и пола при децата са приети стойностите, публикувани от Schwartz и Furth през 2007 година<sup>220</sup>, чрез коригирана спрямо телесната повърхност формула на Schwartz и по формулата на Brandt.

**2.3.2.** Определяне степен на Остра бъбречна увреда е извършена на база на класификацията на KDIGO 2022. Спрямо критериите на KDIGO, настъпване

на ОБУ се характеризира или с нарастване нивата на серумния креатинин или спадане на GFR с 25% за първа, 50% за втора и 75% или eGFR под 35мл/мин/1,73м<sup>2</sup> за трета степен-Таблица 1.

Таблица 1 Класификация на KDIGO за ОБУ

Стадий	Серумен креатинин	Количество урина
1	1.5 – 1.9 пъти над базовата стойност или > 26,5μmol/l за 48 часа	<0,5мл/кг/час за 6-12часа
2	1.0-2.9 нарастване над базовата стойност	<0,5мл/кг/час за >12часа
3	3.0 пъти над базовата стойност ,или креатинин >353.6μmol/l, или започване на бъбречно заместителна терапия, или eGFR<35мл/мин/1,73м <sup>2</sup> (<18години)	<0,3 мл/кг/часза >24 часа или анурия за >12 часа

**2.3.3** Определяне на стадия на Хронично бъбречно заболяване е извършено чрез използване на класификацията на KDIGO. Според нея ХБЗ се дефинира като аномалии в структурата или функцията на бъбреците, налични повече от 3 месеца, с последици за здравето. Класифицира се на база GFR категория ( G1-G5) и категория албуминурия (A1-A3)221(Таблица 8).

Таблица8. Степени на ХБЗ спрямо KDIGO

				Албуминурия категории		
				A1	A2	A3
				Нормално до леко увеличено	Умерено увеличено	Силно увеличено
				<30mg/g <3mg/mmol	30-300mg/g 3-30mg/mmol	>300mg/g >30mg/mmol
GFR ml/min/1,73m <sup>2</sup>	G1	Нормално или високо	>/= 90			
	G2	Леко намалена	60-89			
	G3a	Леко до умерено намалена	45-59			
	G3b	Умерено до силно намалена	30-44			
	G4	Силно намалена	15-29			
	G5	Бъбречна недостатъчност	<15			

**2.3.4** За маркери на проксимална тубулна увреда са използвани – Fe Ф% (фракционирана екскреция на фосфати), като норма е до 20%, в условия на

хипофосфатемия, при работещ проксимален тубул тя може да падне до 0%; бъбречен праг за фосфати-  $T_{mp}/GFR$  -Формула 6 и Формула 7.

## 2.4 Статистически методи

За анализ на данните са използвани следните статистически методи:

- **Дескриптивна и инферентна статистика**

Данните за качествени, неметрирани променливи са представени чрез абсолютни честоти и относителни дялове (брой, %). Количествените променливи са описани чрез основни параметри на централната тенденция (средна аритметична стойност Mean  $\pm$  стандартна грешка на средната аритметична - SEM), статистическо разсейване (стандартно отклонение - SD) и 95% доверителен интервал (95% CI). Количествени показатели, които не следват нормалното разпределение, са описани чрез медиана и интеквartilен размах (Interquartile range - IQR)

- За оценка на нормалността на разпределение на анализирани променливи е използван тестът на Колмогоров-Смирнов.
- При проверка на хипотези за несъществено влияние на фактори е приложен  $\chi^2$  тест за многократни таблици и точният тест на Фишер за 2x2 таблици.
- При анализ на количествени показатели при независими групи, които не следват нормално разпределение, е приложен Mann-Whitney U тест.
- Сравнението на количествени данни между две зависими групи е извършено чрез Mann-Whitney U тест за зависими извадки при променливи, които не следват нормално разпределение
- За сравнение на два или повече относителни дяла е използван z тестът. При сравнение на относителните дялове на повече от 2 групи е приложена корекция на p стойността чрез метода на Bonferroni.
- За сравнение на повече от две независими групи при променливи, които не следват нормалното разпределение е използван тест на Kruskal-Wallis.
- За ниво на значимост на нулевата хипотеза е прието  $P < 0.05$ .

Статистическата обработка на резултатите е извършена със статистически софтуер SPSS v.23.

### Графично представяне

Графичното представяне на резултатите е реализирано с Microsoft Excel 2016.

**Проучването е одобрено от Етичната комисия към Медицински университет – Пловдив ( Протокол №6/07.10.2021г).**

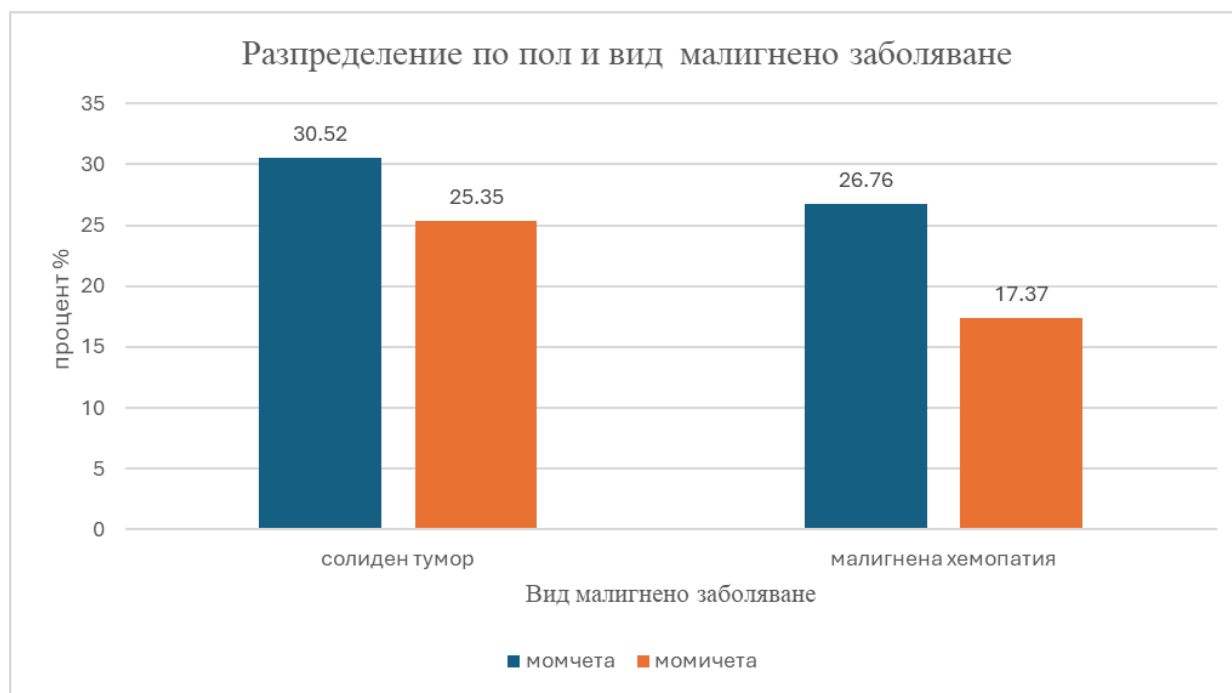
## IV. Резултати и дискусия

### 1.1 Резултати по първа задача.

Да се направи анализ на честотата, характеристиката и типа на ОБУ в детска онкохематология за период от 5 години чрез преглед на болничната документация.

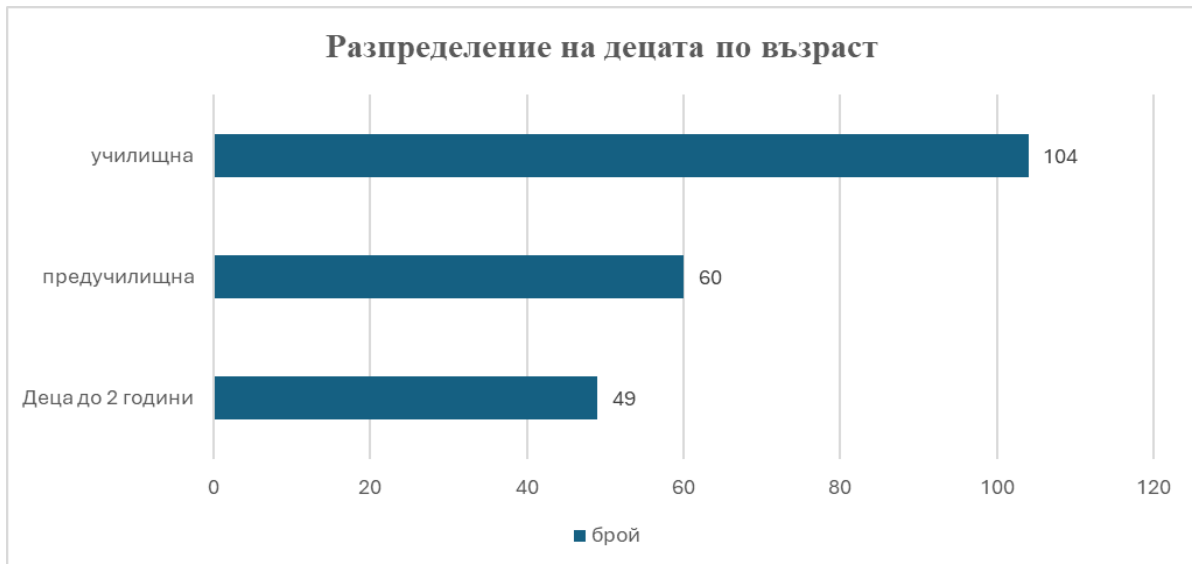
Ретроспективно са проучени 213 деца, от които 122 момчета (57,3%) и 91 момичета(42.7%), хоспитализирани за периода 2016-2020 година в отделението по детска онкохематология към Клиниката по Педиатрия на УМБАЛ „Св. Георги“.

Всички деца, на възраст от 0 до 18 години, са диагностицирани и лекувани в клиниката, като 119 (55.9%) са със солидни тумори, а останалите 94 (44.1%) с малигнена хемопатия. И за двете групи по пол преобладават момчетата. Фиг 1.



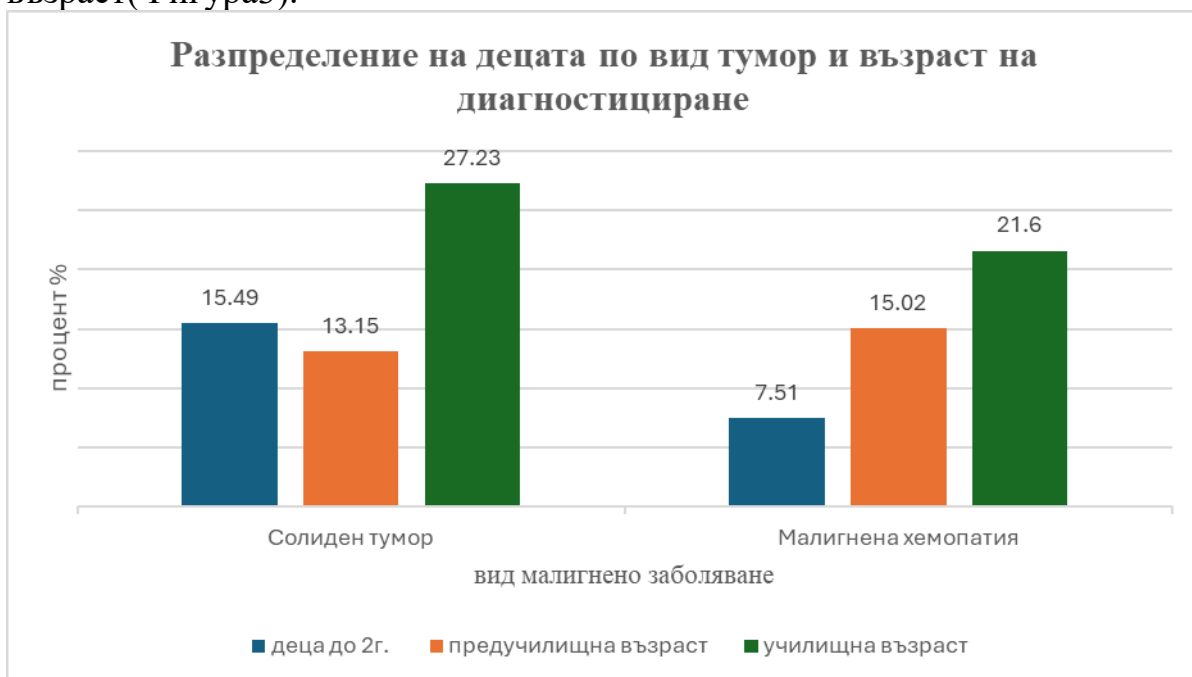
Фигура 1. Разпределение по пол и вид малигнено заболяване

По отношение на възраст на изява на малигненото заболяване, децата са разпределени на три групи – деца до 2 години, предучилищна и училищна група, като най- много са децата от училищната група- 104 от 213 деца- Фигура 2.



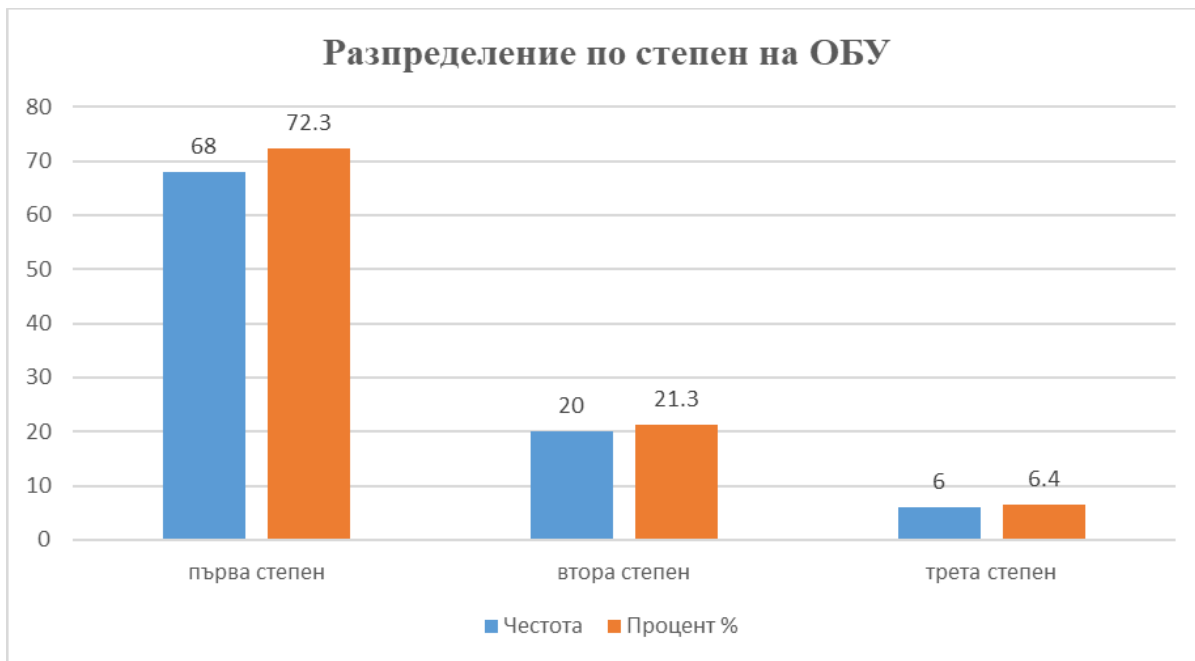
Фигура 2. Разпределение на децата по възрастови групи

С най-голям относителен дял по отношение на вида на тумора са солидните (27.23%) и малигнената хемопатия (21.60%) в групата с деца в училищна възраст (Фигура 3).



Фигура 3. Разпределение на децата по вид тумор и възраст на диагностициране

Чрез използването на критериите на KDIGO, при 94 от децата или това са 44,1% от всички деца, се установи наличие на поне един епизод на ОБУ, като 18 от тях са имали повече от един епизод по време на тяхното лечение. Най-голям процент са с първа степен на ОБУ - 68 епизода или това са 72,3% от всички епизоди на ОБУ, 20 епизода (21,3%) на ОБУ са втора степен спрямо KDIGO и само 6 епизода (6,4%) са трета степен на ОБУ. Графично степента на ОБУ е представена на Фигура 4.



Фигура 4. Разпределение според степента на ОБУ сред децата, лекувани с нефротоксични медикаменти

По отношение етиологията на ОБУ се откриха медикаментозната нефротоксичност, в частност химиотерапията, инфекция, включително септична такава в хода на медикаментозна аплазия, тумор лизис синдром, както и бъбречна инфилтрация при дебюта на заболяването. Най- голям относителен дял заема медикаментозната нефротоксичност, в частност химиотерапевтици, на която се пада дял от 58,51% от всички епизоди на ОБУ- Фигура 5.



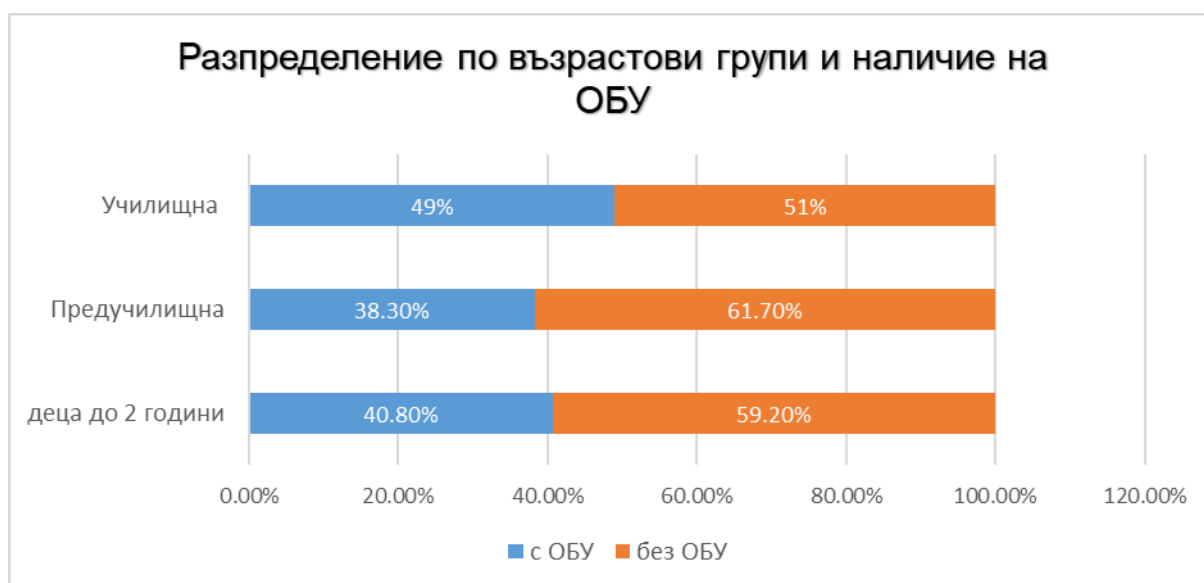
Фигура 5. Разпределение по честота на причините за ОБУ

От всички 94 деца диагностицирани с ОБУ, 54 (57.4%) са със солидни тумори, а 40(42.5%) с малигнена хемопатия. Не се установи статистически значима връзка между вида на тумора и наличието на ОБУ ( $\chi^2(1) = 0.170$ ,  $p=0.781$ ,  $N=213$ ), както и между пола и наличието на ОБУ ( $\chi^2(1) = 0.105$ ,  $p=0.781$ ,  $N=213$ )( Фигура 6).



Фигура 6. Разпределение на пациентите по вид тумор и наличие на ОБУ

Най- висок процент на възникване на ОБУ се наблюдава сред децата от училищна възраст (49%)- (Фигура 7).



Фигура 7. Разпределение на децата по възрастови групи и наличие на ОБУ



18 деца са с понесен повече от един епизод на ОБУ, но не се откри статистически значима връзка между броя на епизодите ОБУ, вида на тумора ( $p=0.401$ ) и причината за ОБУ ( $p=0.787$ ). Данните са представени на Таблица 9.

Таблица 9. Среден брой епизоди на ОБУ според степента на ОБУ, тежестта, етиологията и вида тумор

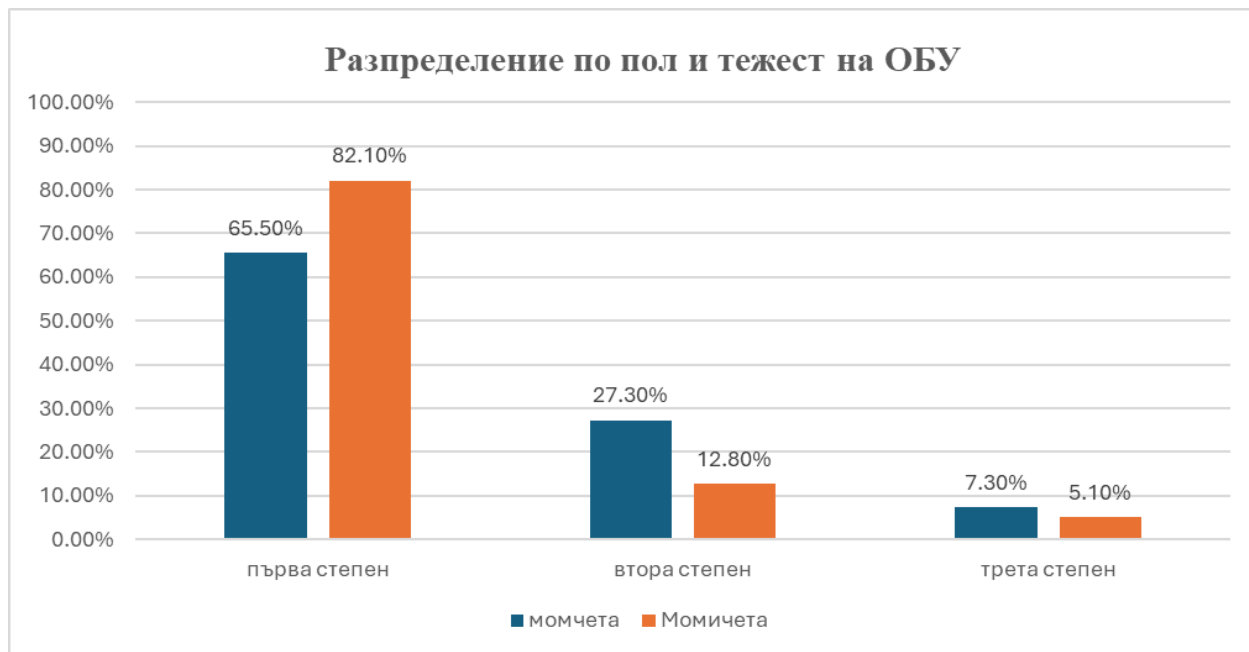
Категория		Среден брой епизоди	Стандартно отклонение	Минимум	Максимум
Тежест на ОБУ	Първа степен	1,15	0.3964	1	3
	Втора степен	1,4	0.5982	1	3
	Трета степен	1,33	0.5164	1	2
Причина за ОБУ	Медикамент - химиотерапия	1,22	0.4196	1	2
	Инфекция - сепсис	1,3	0.6569	1	3
	Дебют инфилтрация	1,13	0.3416	1	2
Вид тумор	Солиден тумор	1,24	0.4733	1	3
	Малигнена хемопатия	1,18	0.4465	1	3

И при двата вида малигнени заболявания преобладава първа степен на тежест на ОБУ, като трета степен на тежест, включително наложила бъбречно-заместителна терапия е наблюдавана при децата със солидни тумори (Фигура 8).

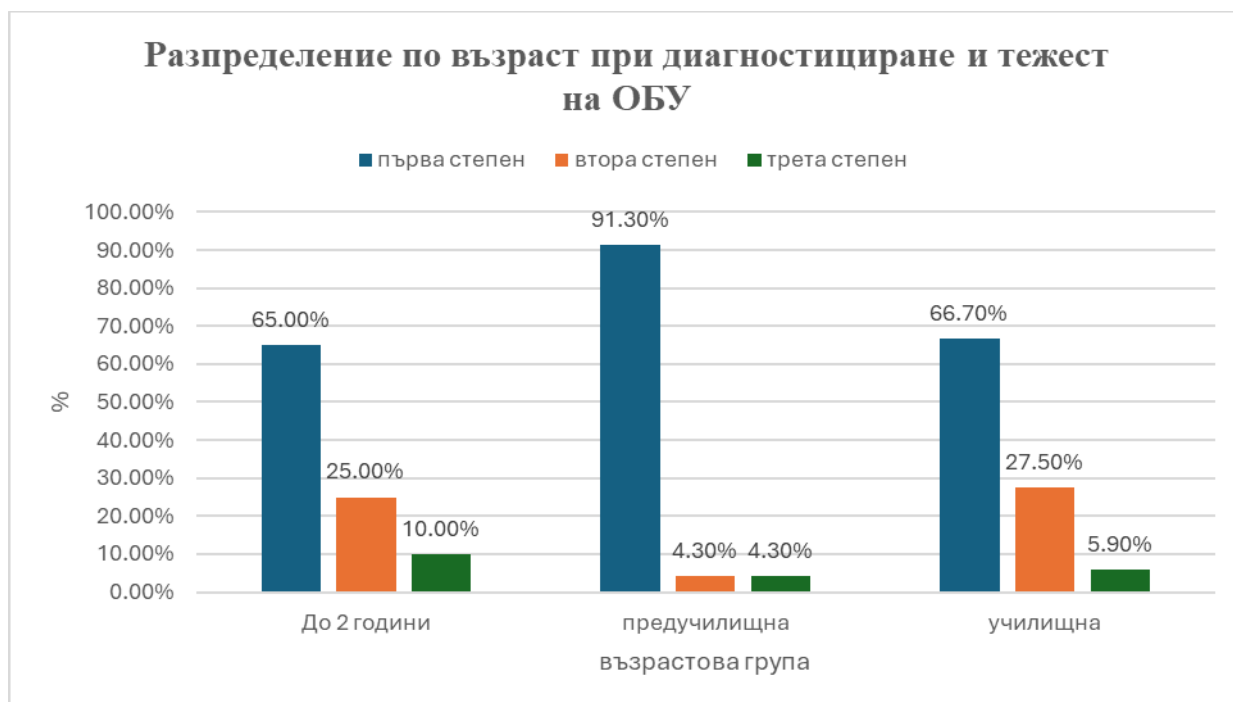


Фигура 8. Разпределение на случаите на ОБУ по степен на тежест и вид тумор

По отношение на пола, и при двата преобладава отново първа степен на тежест на ОБУ, докато втора и трета степен на тежест се наблюдава по-често сред момчетата - Фигура 9.



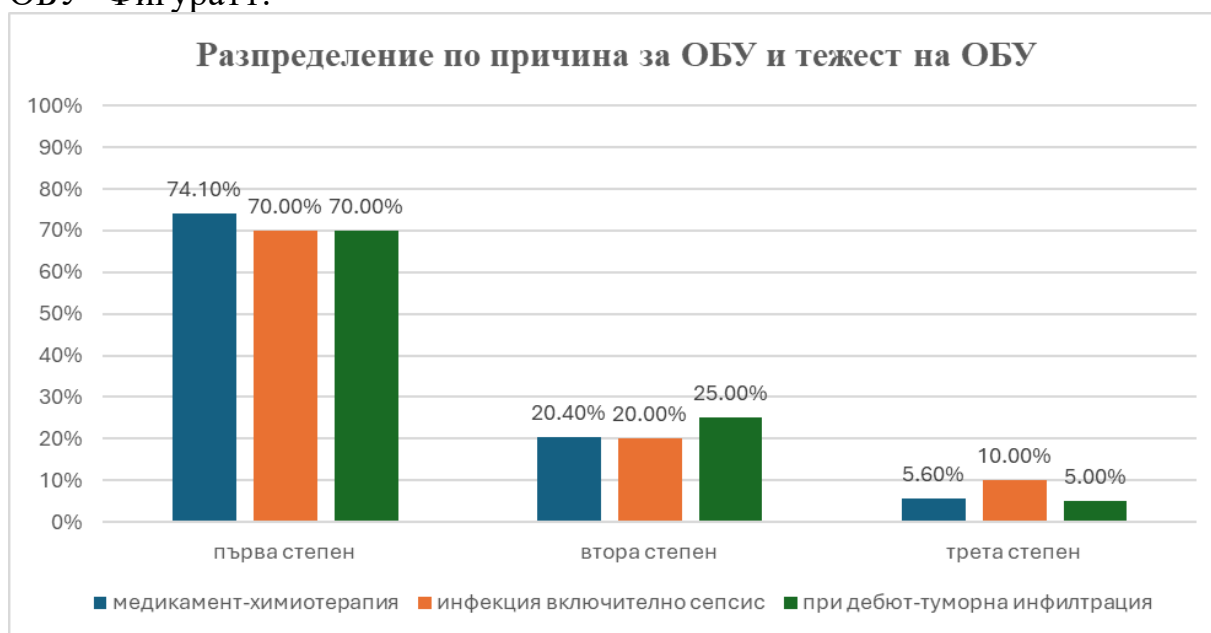
Фигура 9. Разпределение по пол и тежест на ОБУ



Фигура 10. Разпределение по възраст при диагностициране и тежест на ОБУ

Спрямо възрастта на изява по – висока честота на ОБУ и тежест на ОБУ се наблюдава сред децата в училищна възраст, както и при децата до 2 години- Фигура 10.

По – тежките втора и трета степен на ОБУ преобладават при дебюта на заболяването, включително при данни за тумор лизис синдром, както и при децата с тежка инфекция в хода на аплазия. Най- честата причина за ОБУ - медикаментозната нефротоксичност води до предимно първа степен на ОБУ- Фигура 11.



Фигура 11. Разпределение по причина за ОБУ и тежест на ОБУ

## 1.2 Дискусия по задача 1

В проведеното ретроспективно проучване е налице значително висока честота на ОБУ – 44,1% сред децата с малигнени заболявания. Тази честота се доближава до съобщавана в литературата<sup>87-94,225,226</sup>, макар че има и проучвания с по-ниска честота<sup>92, 227</sup>. На Таблица 10 са представени данни от проучвания в литературата по отношение честота и етиология на ОБУ в детската онкология.

Таблица 10. Проучвания за честотата на ОБУ сред деца, лекувани за малигнени заболявания

Проучване, година	Брой пациенти	Вид заболяване	Честота ОБУ
Park at all <sup>87</sup> 2004-2013	1868	Малигнени хемопатии и солидни тумори	52,6%

Mengqi Xiong at all <sup>92</sup> 2013-2015	9829	Малигненни хемопатии и солидни тумори	16,9%
Liezl Du Plessis <sup>226</sup> 2018	53	Остра миелоидна левкемия	64%
Rabeea Tariq at all <sup>227</sup> 2017-2019	399	Малигнени хемопатии и солидни тумори	21,33%

В едно от проучванията е на Park at all сред 1868 деца, диагностицирани с малигнени заболявания през периода 2004-2013год, 983 деца (52,6%) развиват ОБУ през първата година от лечението на основното заболяване, като най- висока е честотата сред пациентите с остра лимфобластна левкемия, следвани от тези с остра миелобластна левкемия и медулобластом<sup>87</sup>. За разлика от публикуваните в литературата данни, ние откриваме леко превалиране на ОБУ при децата със солидни тумори (57,4%) в сравнение с малигнените хемопатии(42,6%). В друго проучване на Mengqi Xiong at all, извършено между 2013 и 2015 година, включващо 9828 деца с малигнени заболявания, едва 1657 (16,9%) развиват ОБУ<sup>92</sup>. И при двата вида заболявания, сред децата от детска онкохематология, най- висок процент на дебют на заболяването се наблюдава в училищната възраст, което съвпада с литературните данни. Степента на тежест на ОБУ в тези две проучвания е трета при около 50% от епизодите и е изисквала бъбречно-заместителна терапия, докато в нашето проучване превалира първа степен на тежест на ОБУ(72,3%) и едва при 6(6,4%) деца е регистрирана трета степен на ОБУ. Вероятно обяснението на този факт е медикаментозната нефротоксичност като водеща причина за ОБУ в проучената от нас група. Водеща предимно до тубулна увреда, тя не предизвиква значително нарастване на нивата на серумния креатинин, нито до изява на олигурия, които от своя страна са задължителен критерий в скалата за определяне тежестта на ОБУ.

Развитието на ОБУ при децата с онкологични заболявания е мултифакторно. Нашето проучване установява следните рискови фактори: медикаментозна нефротоксичност в резултат на проведена химиотерапия, инфекция, включително септична такава в периодите на аплазия, синдром на остра туморна лиза и бъбречна инфилтрация при дебюта на заболяването. Сходни са и съобщаваните в литературата рискови фактори<sup>87,89,92,223</sup>. Значителен брой проучвания извеждат синдрома на остра туморна лиза като водещ фактор за възникване на ОБУ. В противовес на литературните данни,

водеща роля в етиологията на ОБУ в нашето проучване заема медикаментозната нефротоксичност и в частност химиотерапията, което обяснява и по-високата честота на ОБУ сред пациентите със солидни тумори, при които се използват нефротоксични медикаменти като Нолохан, Methotrexate, Cisplatin, Carboplatine. Вероятно обяснение на превалирането на медикаментозната нефротоксичност в настоящото проучване е, че всеки новодиагностициран пациент е проследен по отношение на бъбречната му функция до края на неговото лечение, а при част от пациентите във времето е настъпил рецидив, наложил повторно включване на терапия с нефротоксични медикаменти. В цитираните проучвания пациентите са проследени само през периода на първата година от лечението им. Допълнителна роля има и фактът, че повечето от пациентите в проучената от нас група, не са изследвани в насока тубулна увреда - основният механизъм на медикаментозна нефротоксичност, което вероятно е довело до хиподиагностика на субклинична тубулопатия. При продължаваща терапия със съответните медикаменти състоянието е еволюирало към клинично изявена ОБУ.

По отношение на възрастта на изява на малигнените заболявания и съответно епизодите на ОБУ най-висок процент от пациентите са в училищна възраст. Това се потвърждава и от други проучвания, които също не отчитат статистически значима асоциация между броя на епизодите на ОБУ и пол на пациента, тежест на ОБУ и вид на злокачественото заболяване.

### **Изводи от дискусията към Задача 1**

- Установи се висок процент ОБУ -44,1% сред децата с онкологични заболявания
- Водеща причина за ОБУ сред тези деца е химиотерапия индуцираната медикаментозна нефротоксичност.
- Най- висок процент изява на ОБУ е сред децата в училищна възраст, а най- тежките степени на ОБУ са сред децата от училищна възраст и групата от деца до 2 години.

## 2.1 Резултати по задача 2

Да се проследи динамиката на **NGAL** в урина като ранен маркер за **ОБУ** при деца, провеждащи химиотерапия

Проведено е срезово проучване в отделението по детска онкохематология на клиниката по Педиатрия на 40 деца, провеждащи в момента химиотерапия с нефротоксични медикаменти.

В таблица 11 и 12 са представени стойностите на измерените показатели разпределени по групи - преди и 12 часа след химиотерапевтичен цикъл, а също и сравнение на всеки показател по пореден цикъл.

Таблица 11. Описателни характеристики на всички показатели преди и 12ч. след химиотерапевтичен цикъл по пореден цикъл:

Пореден цикъл	Показател	преди химиотерапия			12 часа след химиотерапия		
		Mean	SD	SEM	Mean	SD	SEM
първи цикъл, N=27	креатинин в кръвта $\mu\text{mol/l}$	46.222	11.666	2.245	47.074	11.812	2.273
	eGFR кръв мл/мин/1,73м <sup>2</sup>	155.947	30.861	5.939	159.581	42.528	8.185
	Mg mmol/l	0.846	0.218	0.044	1.059	0.421	0.081
	Фосфор mmol/l	1.443	0.232	0.047	1.324	0.237	0.046
	NGAL ng/ml урина	13.012	24.145	4.735	11.081	27.816	5.353
	NGAL/креатинин урина	2.527	2.936	0.565	3.821	5.797	1.116
	FeФ.урина %	12.627	23.038	4.518	27.098	63.489	12.451
	Tmp_GFR	1.242	0.399	0.081	0.933	0.875	0.179
втори цикъл, N=24	креатинин в кръвта $\mu\text{mol/l}$	49.292	11.719	2.392	48.913	14.497	3.023
	eGFR кръв мл/мин/1,73м <sup>2</sup>	147.115	29.595	6.171	156.737	40.228	8.388
	Mg mmol/l	0.827	0.237	0.048	1.091	0.350	0.073
	Фосфор mmol/l	1.383	0.291	0.061	1.236	0.229	0.048
	NGAL урина ng/ml	14.821	18.532	3.783	7.443	8.482	1.769

	<b>NGAL/креатинин урина</b>	4.106	4.634	0.946	7.639	12.480	2.548
	<b>FeФ.урина%</b>	17.547	35.750	7.454	22.692	19.152	3.994
	<b>Tmp_GFR</b>	1.194	0.431	0.090	0.945	0.310	0.065
<b>трети цикъл, N=17</b>	<b>креатинин в кръвта μmol/l</b>	46.529	11.801	2.862	46.471	10.199	2.474
	<b>eGFR кръв мл/мин/1,73м<sup>2</sup></b>	163.258	35.344	8.572	161.481	36.839	8.935
	<b>Mg mmol/l</b>	0.862	0.058	0.014	1.209	0.431	0.104
	<b>Фосфор mmol/l</b>	1.504	0.201	0.050	1.300	0.193	0.047
	<b>NGAL ng/ml урина</b>	19.553	23.372	5.669	7.552	14.428	3.499
	<b>NGAL/креатинин урина</b>	4.255	6.906	1.675	5.023	7.404	1.796
	<b>FeФ.урина%</b>	7.390	5.777	1.444	15.707	7.714	1.871
	<b>Tmp_GFR</b>	1.405	0.210	0.054	1.096	0.228	0.055
<b>от 4-10 цикъл, N=48</b>	<b>креатинин в кръвта μmol/l</b>	54.396	14.623	2.111	54.042	16.089	2.322
	<b>eGFR кръв мл/мин/1,73м<sup>2</sup></b>	155.478	39.007	5.751	157.137	44.254	6.525
	<b>Mg mmol/l</b>	0.836	0.100	0.015	1.050	0.326	0.047
	<b>Фосфор mmol/l</b>	1.405	0.467	0.070	1.132	0.354	0.051
	<b>NGAL ng/ml урина</b>	92.117	308.326	45.460	34.647	92.396	13.477
	<b>NGAL/креатинин урина</b>	11.800	28.964	4.181	16.139	34.532	4.984
	<b>FeФ.урина %</b>	13.606	23.239	3.390	25.837	19.140	2.763
	<b>Tmp_GFR</b>	1.238	0.604	0.090	0.858	0.389	0.056

Таблица 12. Описателни характеристики на всички показатели преди и 12ч. след химиотерапевтичен цикъл по пореден цикъл, но по показатели за сравнение между циклите:

Показател	Поредност на химиотерапевтичния цикъл	преди химиотерапия				12ч.след химиотерапия		
		N	Mean	SD	SEM	Mean	SD	SEM
Креатинин в кръв $\mu\text{mol/l}$	първи цикъл	27	46,222	11,666	2,245	47,074	11,812	2,273
	втори цикъл	24	49,292	11,719	2,392	48,913	14,497	3,023
	трети цикъл	17	46,529	11,801	2,862	46,471	10,199	2,474
	от 4-10 цикъл	48	54,396	14,623	2,111	54,042	16,089	2,322
eGFR $\text{мл/мин/1,73м}^2$	първи цикъл	27	155,947	30,861	5,939	159,581	42,528	8,185
	втори цикъл	24	147,115	29,595	6,171	156,737	40,228	8,388
	трети цикъл	17	163,258	35,344	8,572	161,481	36,839	8,935
	от 4-10 цикъл	48	155,478	39,007	5,751	157,137	44,254	6,525
Mg $\text{mmol/l}$	първи цикъл	27	0,846	0,218	0,044	1,059	0,421	0,081
	втори цикъл	24	0,827	0,237	0,048	1,091	0,350	0,073
	трети цикъл	17	0,862	0,058	0,014	1,209	0,431	0,104
	от 4-10 цикъл	48	0,836	0,100	0,015	1,050	0,326	0,047
Фосфор $\text{mmol/l}$	първи цикъл	27	1,443	0,232	0,047	1,324	0,237	0,046
	втори цикъл	24	1,383	0,291	0,061	1,236	0,229	0,048
	трети цикъл	17	1,504	0,201	0,050	1,300	0,193	0,047
	от 4-10 цикъл	48	1,405	0,467	0,070	1,132	0,354	0,051
NGAL.урина $\text{ng/ml}$	първи цикъл	27	13,012	24,145	4,735	11,081	27,816	5,353
	втори цикъл	24	14,821	18,532	3,783	7,443	8,482	1,769
	трети цикъл	17	19,553	23,372	5,669	7,552	14,428	3,499
	от 4-10 цикъл	48	92,117	308,326	45,460	34,647	92,396	13,477
NGAL/креатинин урина	първи цикъл	27	2,527	2,936	0,565	3,821	5,797	1,116
	втори цикъл	24	4,106	4,634	0,946	7,639	12,480	2,548
	трети цикъл	17	4,255	6,906	1,675	5,023	7,404	1,796
	от 4-10 цикъл	48	11,800	28,964	4,181	16,139	34,532	4,984
Fe Ф %	първи цикъл	27	12,627	23,038	4,518	27,098	63,489	12,451



	втори цикъл	24	17,547	35,750	7,454	22,692	19,15 2	3,994
	трети цикъл	17	7,390	5,777	1,444	15,707	7,714	1,871
	от 4-10 цикъл	48	13,606	23,239	3,390	25,837	19,14 0	2,763
Tnp/GFR	първи цикъл	27	1,242	0,399	0,081	0,933	0,875	0,179
	втори цикъл	24	1,194	0,431	0,090	0,945	0,310	0,065
	трети цикъл	17	1,405	0,210	0,054	1,096	0,228	0,055
	от 4-10 цикъл	48	1,238	0,604	0,090	0,858	0,389	0,056

По отношение на вида малигнено заболяване децата са групирани както следва: Таблица 13.

Таблица 13. Разпределение на децата по вид тумор

Диагноза	Брой пациенти
Остра лимфобластна левкемия	3
Тератом	2
Ewing сарком	8
Стволов глиом	2
Медулобластом	4
Остеосарком	7
Астоцитом	1
Невробластом	3
Нефробластом	3
Неходжкинов лимфом	5
Мекотъканен сарком	1
Болест на Ходжкин	1

При анализа на NGAL в урина са проследени 40 деца, от които 18 момичета (45.0%) и 22 момчета (55.0%). Средната възраст на изследваните лица е  $10.59 \pm 5.26$  години, като не се установи статистически значима разлика между двата пола ( $p=0.376$ )(Таблица 14).

Таблица 14. Представяне на децата по пол

Възраст	N	мин	макс	средно	медиана	U	z	p
момиче	18	2.00	21.00	10.012 2	10.45 (6.35 – 12.25)	165.5	-0.885	0.376
момче	22	2.00	18.00	11.059 5	13.45 (5.78 – 15.13)			

\* Данните са представени като медиана (25-ти и 75-ти персентил).

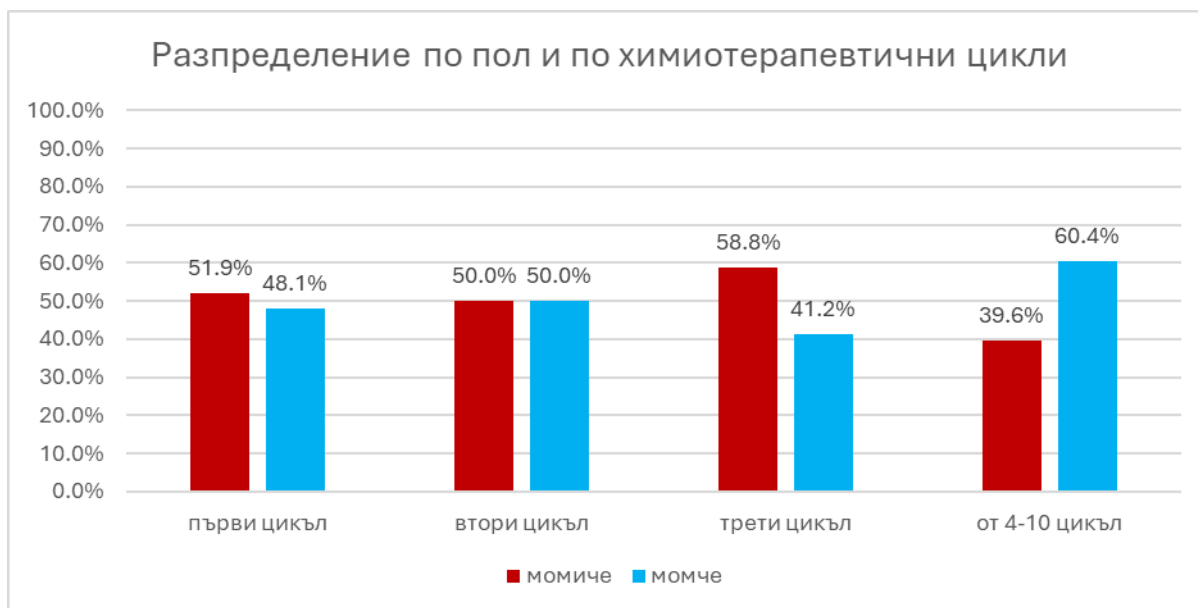
В анализа са разгледани 116 цикъла, които са групирани в четири категории според поредността на цикъла: „първи“, „втори“, „трети“ и „от 4-ти до 10-ти цикъл“ цикъл, в които съответно влизат всички първи, втори и трети цикли от анализа, а в последната категория - всички цикли от четвъртия до десетия цикъл.

Най – голям процент деца са включени в групата „4-10“ цикъл. Това е така, защото за периода на проучването освен ново диагностицирани пациенти, са включени и такива с данни за рецидив на заболяването и постъпващи за нов курс на химиотерапия, включващ нефротоксични медикаменти.

На Фигура 12 е представено процентното участие на децата по химиотерапевтични цикли.



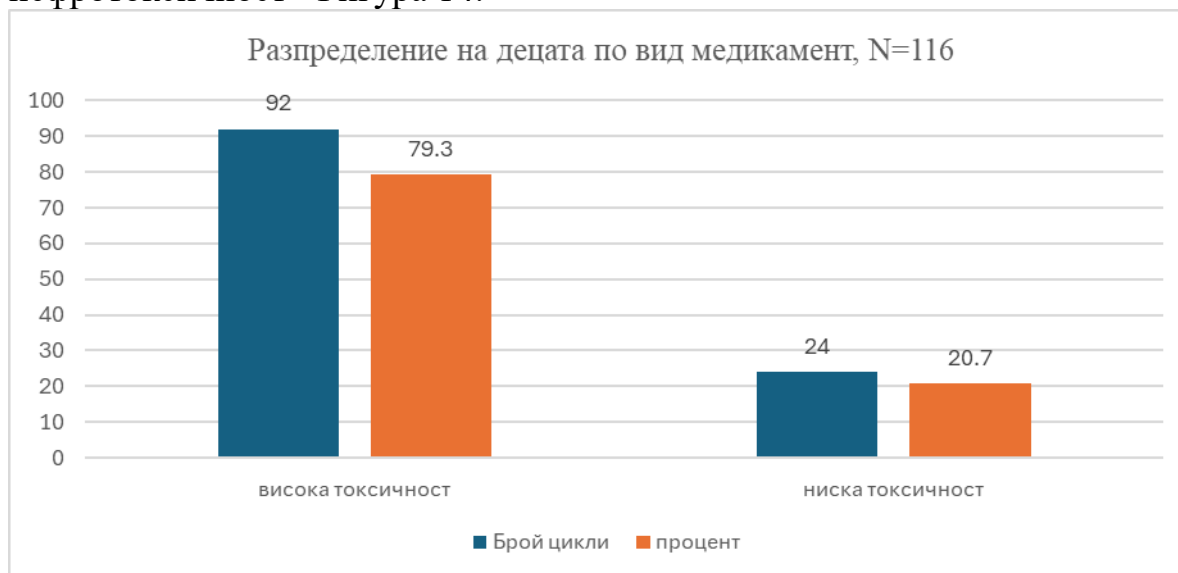
Фигура 12. Разпределение на децата по химиотерапевтични цикли



Фигура 13. Разпределение на децата по пол и по химиотерапевтични цикли

При разпределението по пол за първи и втори цикъл двата пола са поравно, в трети цикъл преобладават момичетата, докато в цикъл „4-10“ преобладават момчетата.

По отношение употребата на химиотерапевтик с висока (Ifosfamide, Cisplatin) и ниска (Carboplatine) нефротоксичност, децата се разделени в две големи групи - група на висока нефротоксичност и група с ниска нефротоксичност- Фигура 14.



Фигура 14. Разпределение на децата по вид медикамент

По-голям процент са лекувани с медикаменти с висока нефротоксичност - при 92 цикъла от 116 или това са 79,3% от всички цикли - с високотоксичен медикамент. Разпределени по поредност на цикъла, отново преобладават

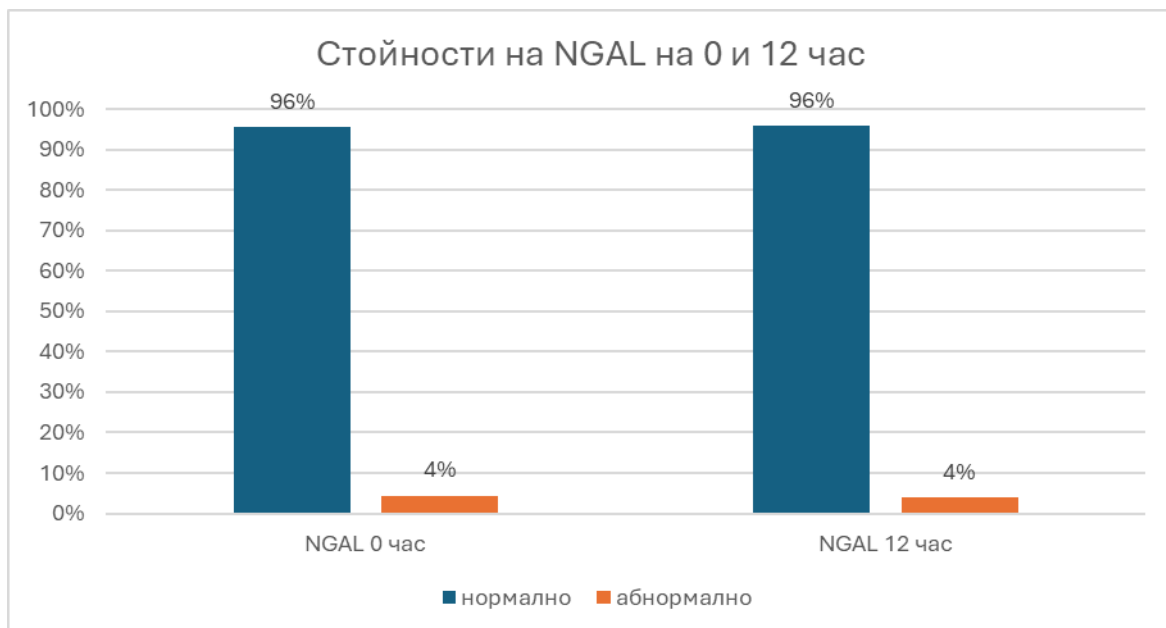
медикаментите с висока нефротоксичност във всички поредни цикли-  
 Фигура 15.



Фигура 15. Разпределение по вид токсичност на медикамента и по химиотерапевтичен цикъл

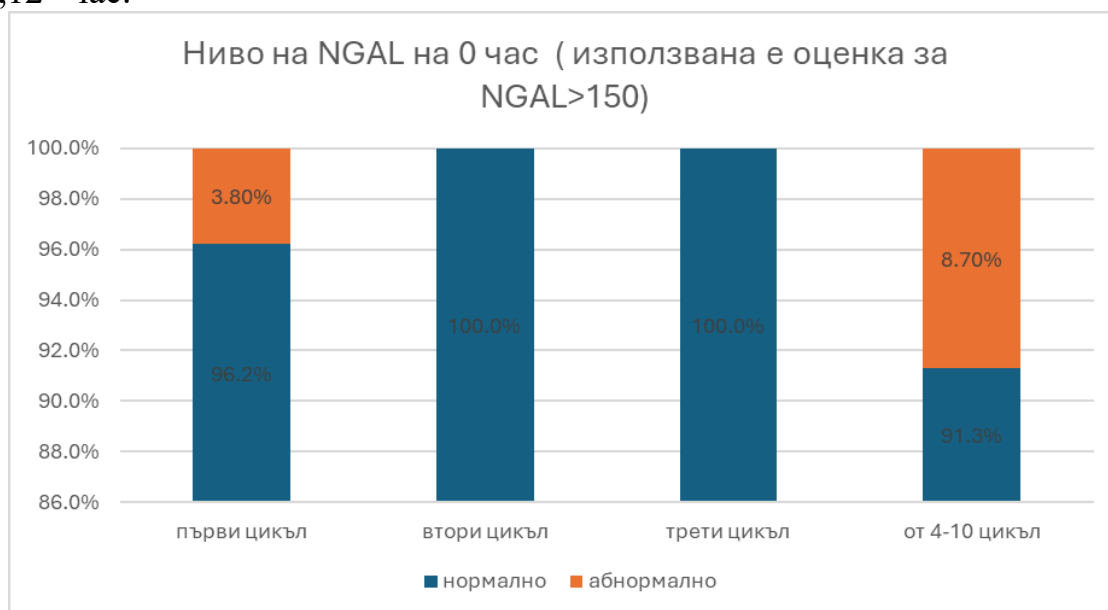
Един от маркерите за бъбречна увреда, изследван в проучването, е NGAL. За повишена стойност на NGAL се прие стойност над 150ng/ml, зададената от производителя референтна стойност.

На Фигура 16 са представени стойностите на NGAL на „0“ час и на 12 час .

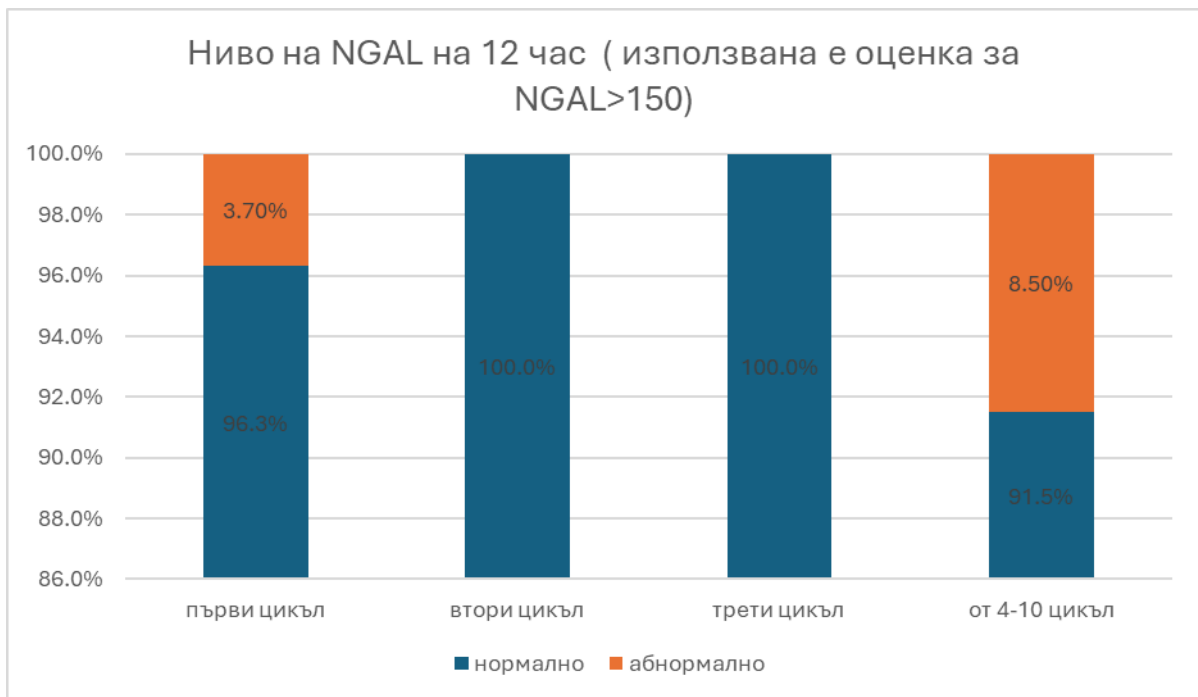


Фигура 16. Стойности на NGAL на „0“ час и „12“ час

Установи се, че само при 4% от циклите (пет цикъла) преди започване на химиотерапия и след приключване на химиотерапия се наблюдават високи стойности на NGAL, като това се наблюдава при едно и също дете преди и след цикъл при поредни цикли. Според критериите на KDIGO за настъпване на ОБУ, само 1 дете при два поредни цикъла, има повишен NGAL и eGFR под 90мл/мин/1,73м2. При едно от децата отговарящо на критериите на KDIGO за ОБУ, стойностите на NGAL са нормални както преди, така и след поредния химиотерапевтичен цикъл. Разпредели по цикли, стойностите на NGAL са представени на фигура 17 и фигура 18 съответно за „0“ час и на „12“ час.



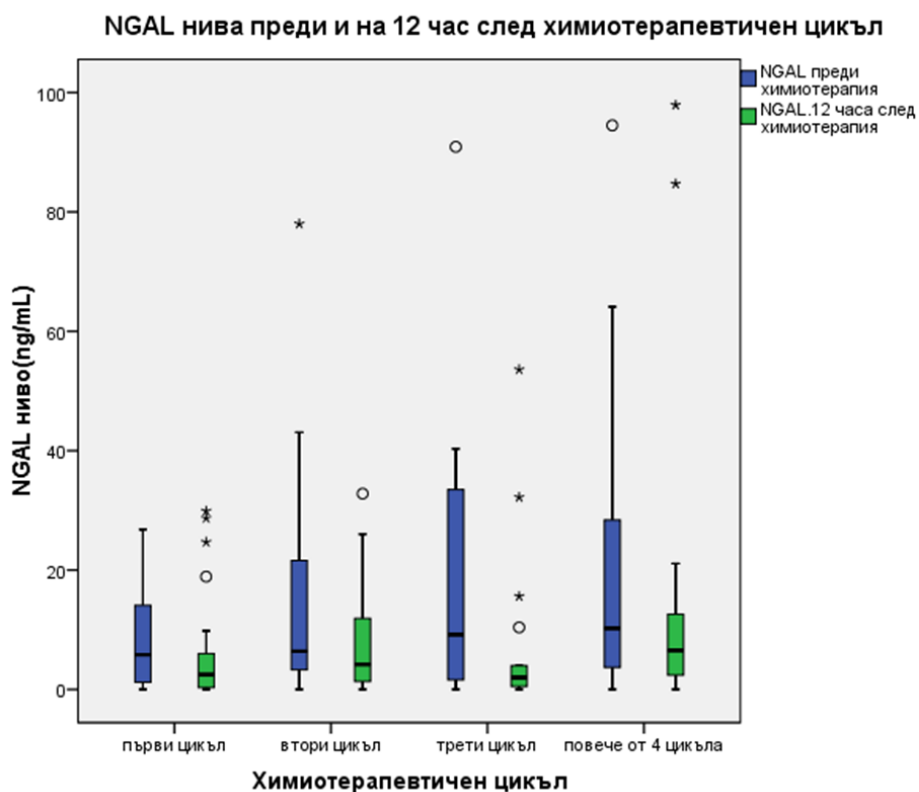
Фигура 17. Динамика в стойностите на NGAL на 0 час (използвана е оценка за NGAL > 150 ng/ml)



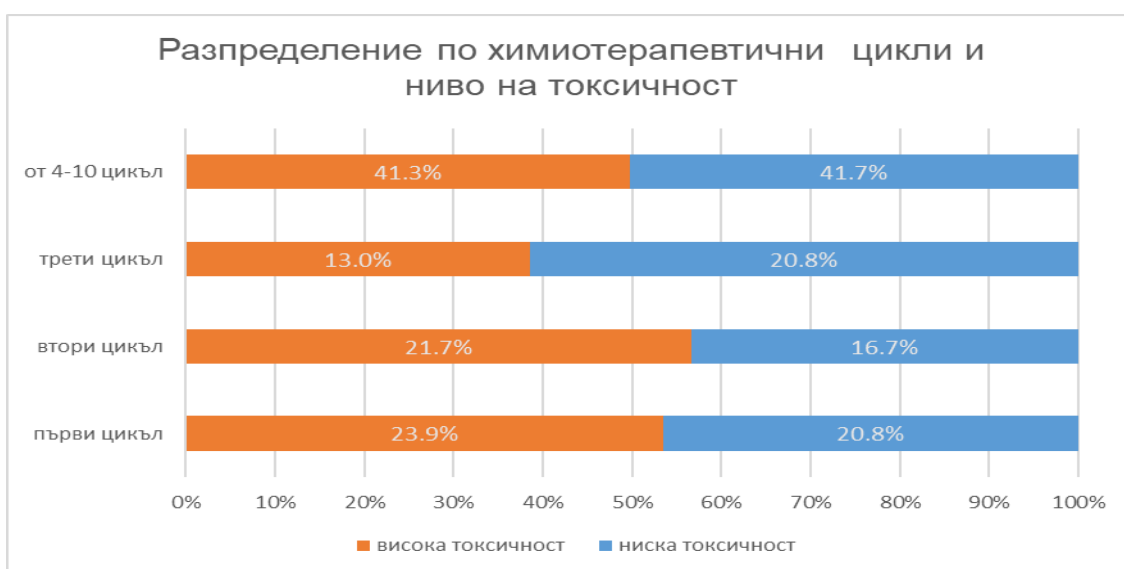
Фигура 18. Динамика в стойностите на NGAL на 12 час ( използвана е оценка за NGAL>150 ng/ml)

Завишени стойности на NGAL се отчитат в групата „4-10 цикъл“, тоест при деца получавали вече химиотерапия, някои от тях дори с рецидив и започнат нов курс с нефротоксичен медикамент.

На фигура 19 са представени схематично динамиката на NGAL преди и след химиотерапевтичен цикъл, разпределени по цикли.



Фигура 19. Стойностите на NGAL преди и след химиотерапевтичен цикъл , разпределени по цикли



Фигура 20. Стойности на NGAL на 12 час по цикли, разпределени и по токсичност на медикамента, съответно ниска и висока.

За да се установи дали съществува статистически значимо различие между нивата на NGAL във всеки от проведените цикли преди химиотерапевтичен

цикъл и на 12 ч. след него, е използван тест на Уилкоксън (Wilcoxon signed ranks test) – Таблица 15.

Таблица 15. Нива на NGAL преди и след пореден химиотерапевтичен цикъл

NGAL ng/ml	N	Медиана (25-ти – 75-ти перцентил)		z	p
		преди ХТ цикъл	12 часа след ХТ цикъл		
Първи цикъл	26	5.8 (1.175 – 14.575)	2.7 (0.3 – 8.1)	-1.472	0.141
Втори цикъл	24	6.15 (3.225 – 23.4)	4.2 (1.3- 12.8)	-3.011	<b>0.003</b>
Трети цикъл	17	9.2 (1.55-33.6)	2 (0.35 – 7.195)	-2.344	<b>0.019</b>
От 4- 10 цикъл	46	10.25(3.575-29.375)	6.5(2.3-12.6)	-2.856	<b>0.004</b>

\*Wilcoxon signed-ranks

Наблюдава се статистически значима разлика в нивата на NGAL преди и на 12 час след проведен химиотерапевтичен цикъл при пациенти, завършили техния втори ( $Z=-3.11$ ,  $p=0.003$ ) и трети цикъл ( $Z=-2.344$ ,  $p=0.019$ ), както и при пациенти с 4 и повече понесени химиотерапевтични цикли ( $Z=- 856$ ,  $p=0.004$ ). Нивата на NGAL обаче остават в техните референтни стойности. За да се избегне ефекта на разреждане, резултат от хиперхидратацията, провеждана при тези деца, са съпоставени нивата на NGAL с нивата на креатинин в порция урина, взета на 12 час след химиотерапевтичен цикъл. Резултатите са показани на Таблица 16.

Таблица 16. Нива на NGAL/креатинин в урина, разпределени по цикли.

NGAL/ креатинин	N	показатели			
		Медиана (IQR)		z	P
		преди цикъл	12 часа след цикъл		
Първи цикъл	27	1.5 (0.54 – 3.09)	1.66 (0-4.9)	-0.000	0.317
Втори цикъл	24	2.145 (1.105 – 5.842)	2.9 (0.855 – 9.562)	-0.600	0.549
Трети цикъл	17	1.39 (0.15 – 5.39)	1.21 (0.53 – 5.95)	-0.355	0.723
4-10 цикъл	48	1.735 (0.89-5.3)	3.22 (1.517- 9.684)	-2.066	<b>0.039</b>

Установи се статистически значимо нарастване на показателя само в група „4-10“ цикъл.



## 2.2 Дискусия по задача 2

Един от широко дискутираните в литературата ранни биомаркери за диагностициране на субклинична остра бъбречна увреда, както и като маркер с предиктивна стойност за настъпване на клинично изявена ОБУ е NGAL. Това е маркер с доказана висока чувствителност и специфичност за настъпване на остра бъбречна увреда след понесен епизод на хипоксия (новородени с перинатална асфиксия, деца след сърдечна операция под ЕКК контрол)<sup>56-60</sup>. По отношение ролята му като маркер за медикаментозна нефротоксичност и в частност след проведена химиотерапия има много малко и противоречиви данни в литературата<sup>208,209,210,215,217</sup>. На таблица 17 са представени най - цитираните проучвания за NGAL и ролята му на ранен маркер за ОБУ в педиатричната онкология<sup>211,219</sup>.

Таблица 17. Проучвания за NGAL в педиатричната онкология, като маркер за нефротоксичност.

година	автори	медикамент	Брой пациенти	Резултати NGAL
2022	Asma Abdel Sameea Mahmoud at all <sup>208</sup>	Cisplatin, Methotrexat	52 деца, след лечение	Добър предиктор за тубулна увреда при деца, приключили лечение
2017	Kelly R. McMahon <sup>209</sup>	Cisplatin	150 деца	Предиктивен маркер за ОБУ
2021	Eryk Latoch at all <sup>213</sup>	Ifosfamid Cisplatin	60 деца, след лечение	Маркер за ХБЗ
2022	Kelly R. McMahon at all <sup>215</sup>	Cisplatin	159 деца	Предиктивен маркер, но при последни цикли на химиотерапия
2017	Maya Sterling at all <sup>210</sup>	Ifosfamid Cisplatin	51 деца	Предиктивен за ОБУ при Ifosfamid, но не и при Cisplatin
2015	Mohamed A. Almalky <sup>208</sup>	Cisplatin Ifosfamid	60 деца	Висока предиктивна стойност за ОБУ
2014	Elisa Ylinen at all <sup>217</sup>	Високодозов MTX	20 деца	Няма предимства пред останалите маркери- Цистатин С
2015	V. Kesik <sup>218</sup>	Ifosfamid	29 деца	Маркер за диагностициране на ХБЗ
2016	Katarzyna Musiol at all <sup>219</sup>	Cisplatin Ifosfamide MTX	38 деца	Ниска чувствителност за ХБЗ

В прочуването на Mohamed Almaliky at all сред 30 деца със солидни тумори, провеждащи химиотерапия, авторите установяват статистически значима разлика между процента деца диагностицирани с ОБУ чрез нивата на уринния NGAL (10 от 30 ) и чрез нивата на серумния креатинин (0 от 30 ). Те, обаче, използват за предиктивна стойност на NGAL ниво над 25 ng/ml<sup>208</sup>, а не дискутираната в литературата над 113ng/ml. В друго голямо проспективно проучване на Kelly R. McMahon at all , обхващащо 159 деца, провеждащи химиотерапия с Cisplatin се установява ниска предиктивна стойност за ОБУ чрез нивата на уринен NGAL, като по-високи стойности на маркера се наблюдават при късни инфузии на медикамента в сравнение с първи цикли от терапията(AUC-ROC 0.54-0.75 за късна инфузия спрямо AUC-ROC 0,48-0,65 за ранна инфузия.)<sup>209</sup>. В проучване на Gordana Miloševski-Lomić at all, публикувано през 2023 година, се акцентира на по-високата предиктивна стойност на употребата на компилация от биомаркери (NGAL, KIM- 1, L-FABP ) за диагностициране на ОБУ след приложение на нефротоксични медикаменти при деца, спрямо самостоятелната им употреба.<sup>228</sup>

В проведеното от нас проучване, чрез критериите на KDIGO за ОБУ, са диагностицирани два епизода след проведен курс с нефротоксичен медикамент. И при двата епизода нивата на NGAL са останали непроменени. При две деца, които са с рецидив на заболяването, се наблюдават високи стойности на NGAL, както преди, така и след проведен химиотерапевтичен курс, като всички курсове са в група „4-10“ цикъл, тоест има понесени предходни химиотерапевтични курсове. При останалите цикли – особено за втори, трети и „4-10“ се наблюдава статистически значима разлика на нивата на NGAL, но показателите остават в референтна стойност и повечето от тях са с по-ниска стойност от преди химиотерапията. Един от въпросите, който възниква е дали това не се дължи на разреждане на урината заради хиперхидратацията, която провеждат всички деца след пореден химиотерапевтичен курс. За да се избегне този ефект на разреждане е направено съотношение NGAL/креатинин в еднократна порция урина, взета на 12 час след пореден цикъл химиотерапия. Установи се статистически значимо нарастване на показателя само в група „4-10“ цикъл, тоест нивата на NGAL се повишават в резултат на натрупване на ефекта на нефротоксичност, извод който е съпоставим и с прочуването на Kelly R. McMahon.

Това определя NGAL като маркер, който не е показателен за диагностициране на ОБУ, предизвикана от нефротоксични медикаменти, в частност химитерапевтици.

## **Изводи от дискусията на Задача 2**

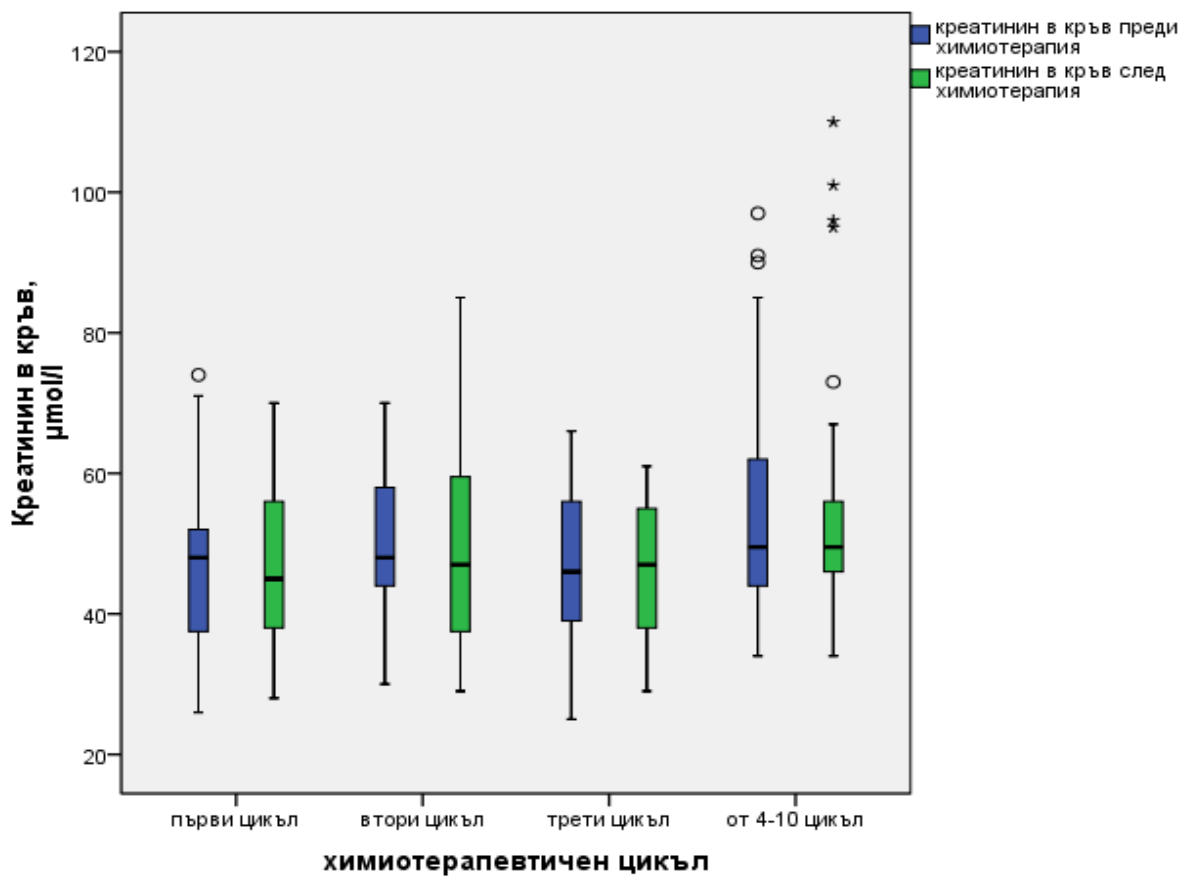
- NGAL не е показателен като ранен маркер за диагностициране на ОБУ, резултат от медикаментозна нефротоксичност, в частност нефротоксични химиотерапевтици.

### **3.1 Резултати по задача 3**

#### **Да се проучи ролята на класическите маркери за ОБУ- креатинин и GFR като маркери за ОБУ в детската онкология**

Една от задачите в проучването е да се проследи динамиката на eGFR преди и след химиотерапевтичен цикъл. По критериите на KDIGO от всички 116 химиотерапевтични цикли при 5 е отчетен висок базов креатинин, като всички деца са от група „4-10“ цикъл. При проследяване нивата му след 12 часа проведена химиотерапия, отново само при 5 цикъла – един „втори „ и 4 от група „4-10“ цикъл се наблюдават повишени стойности. На практика повишаване на серумния креатинин след проведен химиотерапевтичен курс се наблюдава само при един цикъл или диагноза ОБУ чрез използване на златния стандарт - ниво на серумен креатинин, се поставя само при един пациент след проведен химиотерапевтичен цикъл - Фигура 21.

### Ниво на креатинин в кръвта преди и 12 часа след химиотерапия



Фигура 21 Стойности на креатинин преди започване на химиотерапевтичен цикъл и 12 часа след него

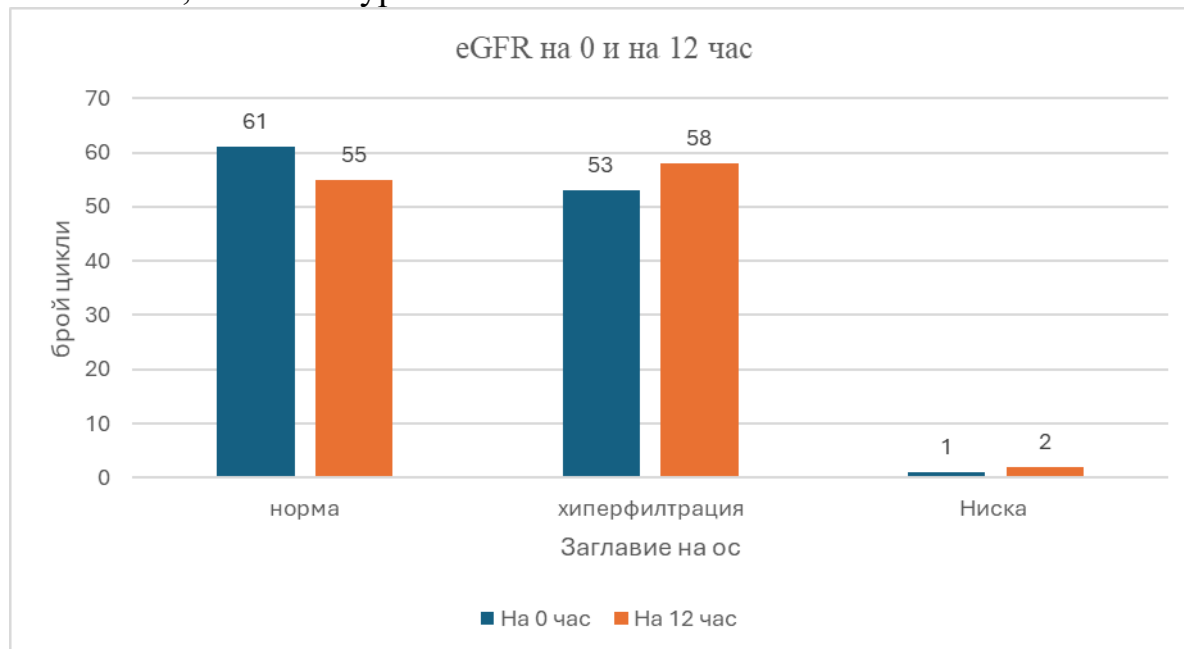
За да се установи дали съществува статистически значимо различие на креатинина във всеки от проведените цикли преди цикъл и на 12 ч. след него, е използван тест на Уилкоксън (Wilcoxon signed ranks test) – Таблица 18.

Таблица 18. Стойности на креатинин преди и след проведен химиотерапевтичен цикъл

Креатинин в кръв $\mu\text{mol/l}$	Показатели				
	N	Медиана (IQR)		z	p
		преди цикъл	12 часа след цикъл		
Първи цикъл	27	48 (37- 52)	45 (38 - 56)	-0.229	0.819
Втори цикъл	24	48.5 (43.5-59)	47 (37 -61)	-0.625	0.532
Трети цикъл	17	46 (39-56)	47 (38 - 56)	-0.228	0.820
4-10 цикъл	48	49.5 (44 - 62)	49.5(46 - 56)	-0.124	0.901

Не се установява статистически значима разлика в нивата на серумния креатинин преди и след проведен химиотерапевтичен курс.

Вторият основен критерий по KDIGO за диагностициране на ОБУ е GFR на пациента. Чрез използване на оригиналната формула на Schwartz са изчислени GFR стойностите преди и след всеки химиотерапевтичен цикъл, като за норма са приети стойности между 90 и 160мл/мин/1,73м<sup>2</sup>, за хиперфилтрация – стойности над 160мл/мин/1,73м<sup>2</sup> и за намалена – под 90мл/мин/1,73м<sup>2</sup> - Фигура22.



Фигура 22. Представяне на eGFR стойности на „0“ и на „12“ час

Не се открива съществена динамика на показателя преди и след приложението на химиотерапия. В групата на децата с ОБУ по критериите на KDIGO от 1 дете преди започване на цикъл, след приключването му са

две деца, тоест диагностицира се само 1 дете с ОБУ след проведен цикъл чрез класическите критерии – серумен креатинин и eGFR.

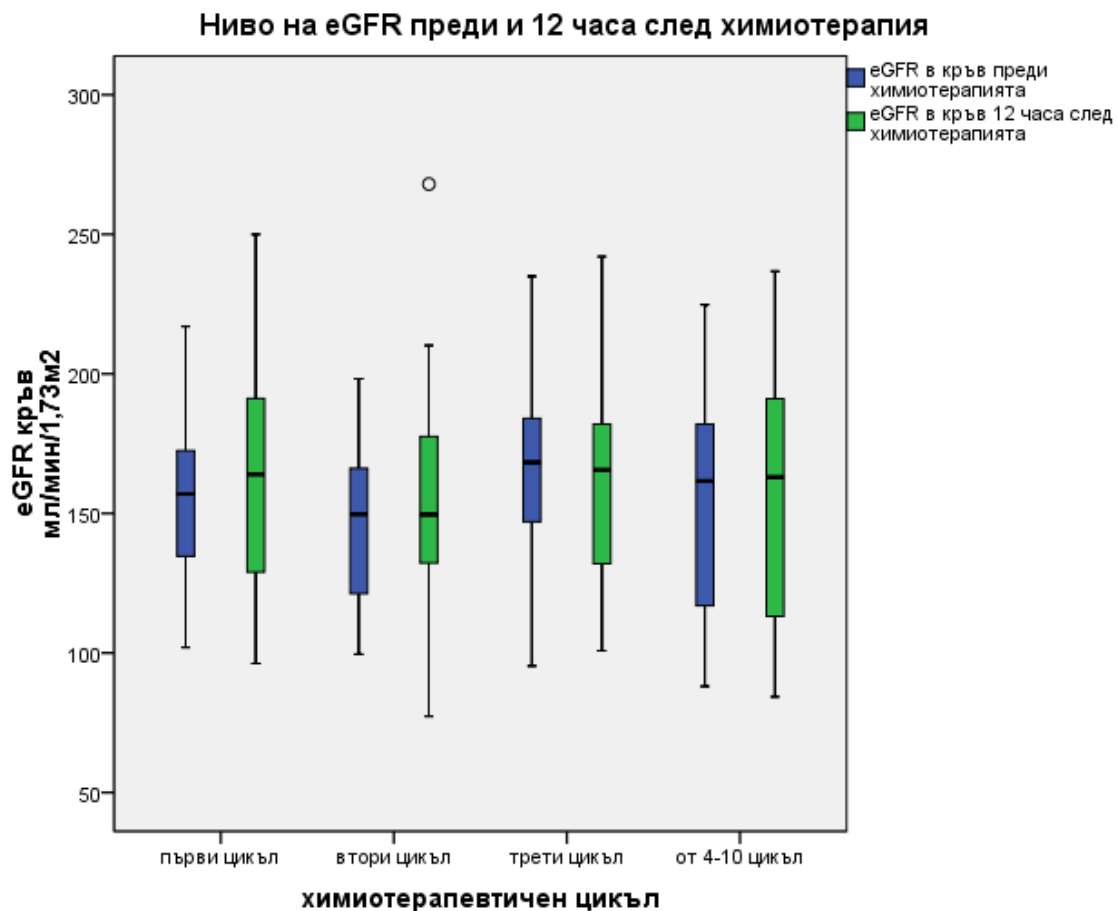
За да се установи дали съществува статистически значимо различие на eGFR във всеки от проведените цикли преди и на 12 ч. след проведена химиотерапия, е използван тест на Уилкоксън (Wilcoxon signed ranks test) – Таблица 19.

Таблица 19. Стойности на eGFR преди и след проведен химиотерапевтичен цикъл

eGFR кръв мл/мин/1,73м <sup>2</sup>	Показатели				
	N	Медиана (IQR)		z	p
		преди ХТ цикъл	12 часа след ХТ цикъл		
Първи цикъл	27	157 (133.38 - 176.57)	164 (128.94 - 198)	-0.148	0.88
Втори цикъл	23	149.69 (120 - 169)	149.57 (128.62 - 182)	-0.654	0.51
Трети цикъл	17	168.30 (141.165 - 185.215)	165.58 (131.1 - 189)	-0.157	0.88
4-10 цикъл	46	161.63 (116.68- 182.94)	162.96 (112.705 – 191.252)	-0.119	0.91

Липсва статистически значима разлика на eGFR преди и след проведен химиотерапевтичен цикъл.

Графично разпределението на eGFR по цикли е представено на фигура 23.

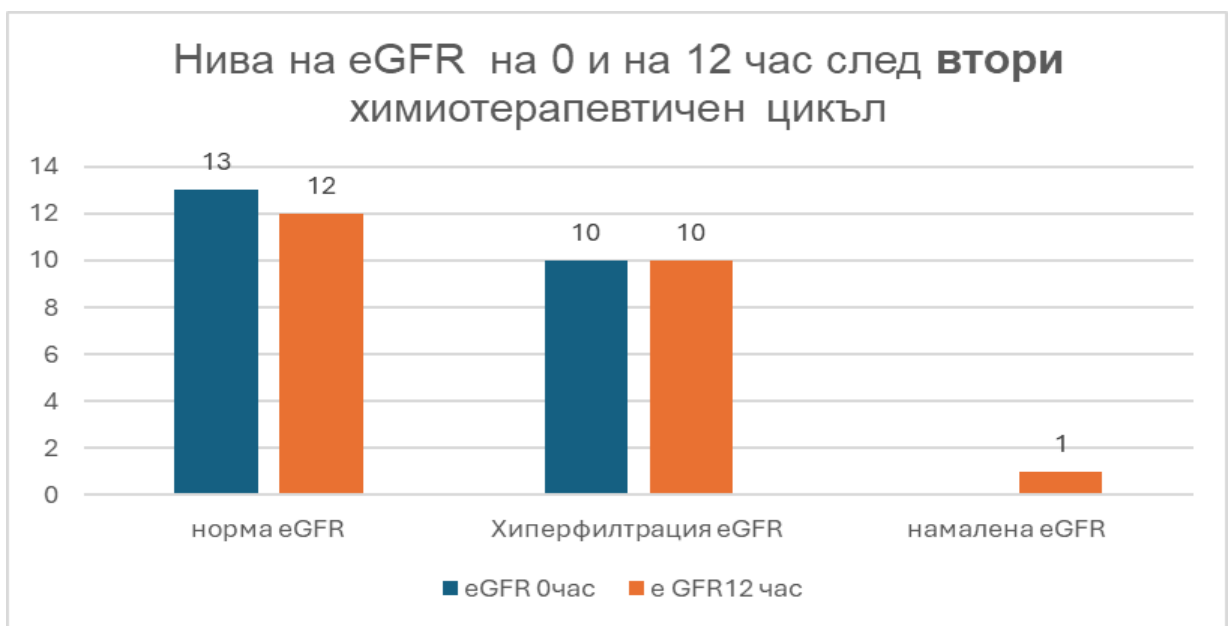


*Фигура 23. Нива на eGFR преди и след проведен химиотерапевтичен цикъл, представени по цикли*

Това, което прави впечатление е високият процент на хиперфилтрация – 48,7% от всички цикли преди започване на химиотерапия и 50,43% след приключване ѝ. Разпределението по цикли, както и динамиката в eGFR сравнено на „0“ час и на „12“ час, е представено на фигури 24,25,26 и 27.



Фигура 24 Нива на eGFR преди и след проведен първи химиотерапевтичен цикъл

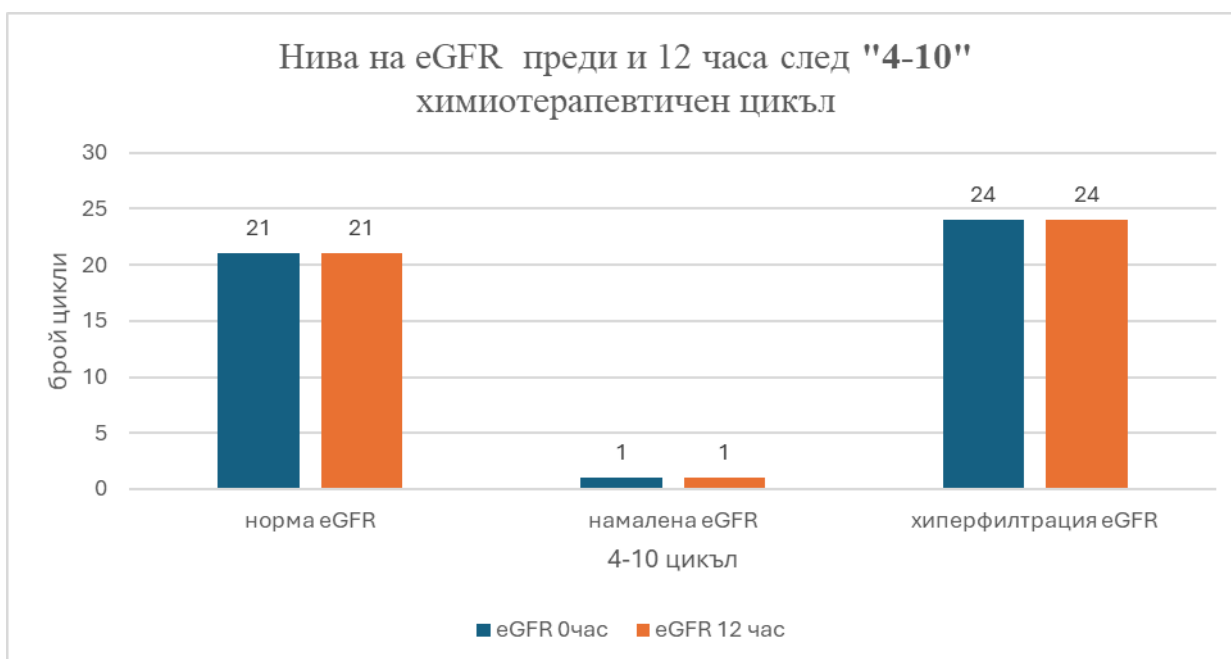


Фигура 25 Нива на eGFR преди и след проведен втори химиотерапевтичен цикъл





Фигура 26 Нива на eGFR преди и след проведен трети химиотерапевтичен цикъл

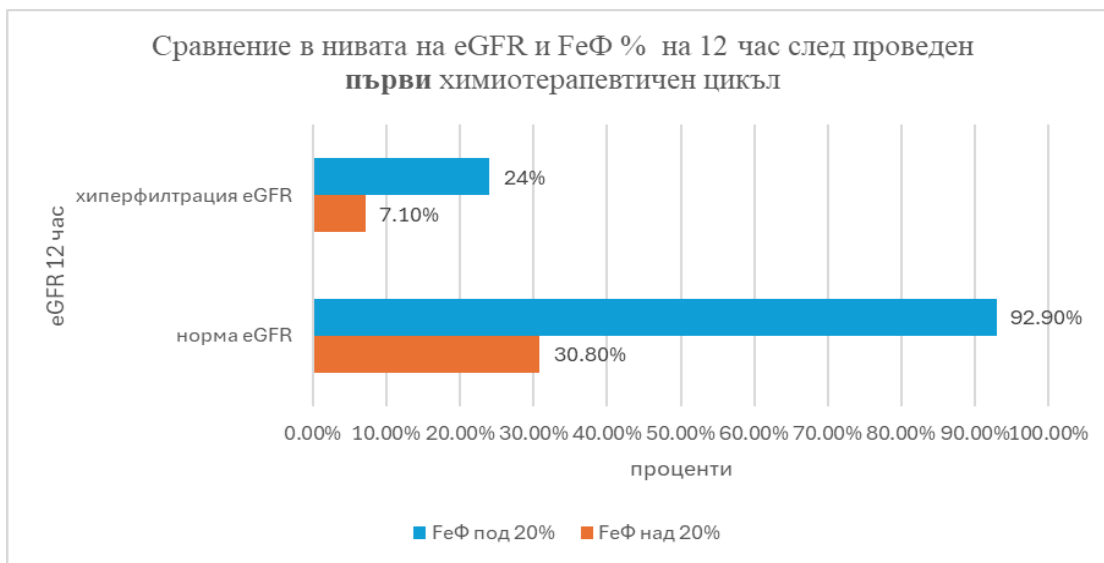


Фигура 27. Нива на eGFR преди и след проведен „4-10“ химиотерапевтичен цикъл

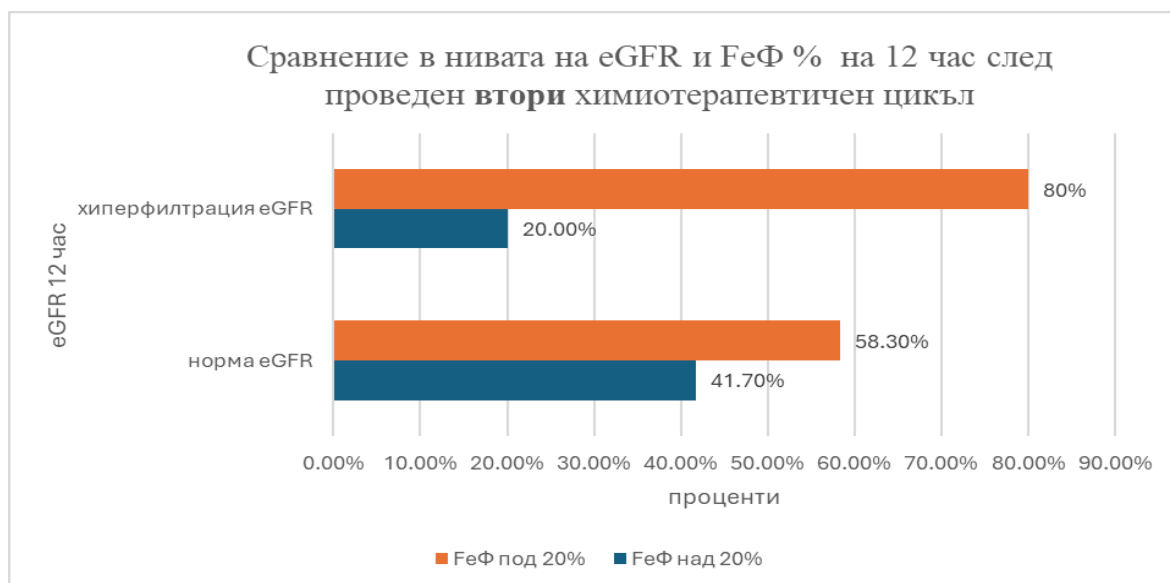
От направеното сравнение между двата показателя се установява, че за първи цикъл от 16 цикъла с нормална GFR на 0 час, на 12 час с нормална са останали 13 и 3 са преминали в хиперфилтрация. От общо 11 деца ,които са били с хиперфилтрация на 0 час, 2 са преминали в графа норма и 9 са останали с хиперфилтрация. За втори цикъл на 0 час 13 деца са били с нормален GFR , като на 12 час 11 остават с нормален, 1 дете е с намалена филтрация, а при циклите с хиперфилтрация няма промяна. За трети цикъл – при 7 са с норма на филтрацията, а на 12 час са 8 цикъла, едно от децата с хиперфилтрация преди цикъл е с нормална GFR след проведен цикъл. За „4-

10 цикъл“ при 21 цикъла на 0 час има нормален GFR, като 21 остават с норма на 12 час. С хиперфилтрация са били и остават 24 цикъла . Едно дете е с намалена скорост на гломерулната филтрация преди започване на химиотерапия и остава с такава на 12 часа след нея.

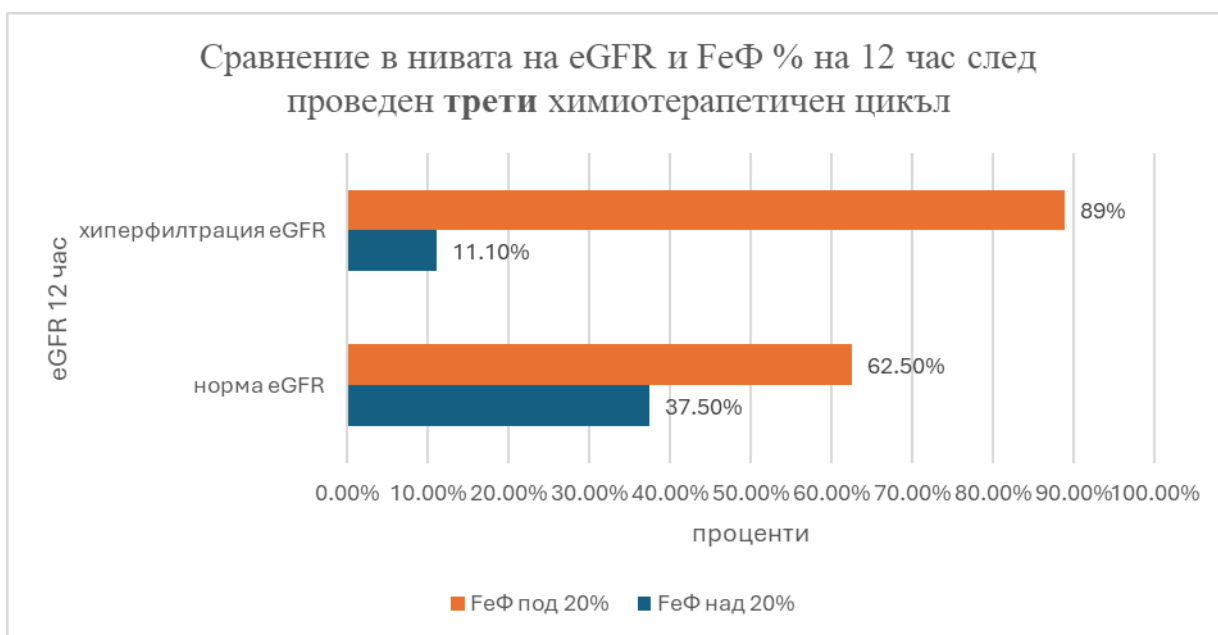
Основни маркери за тубулна увреда, основният патогенетичен механизъм за медикаментозна нефротоксичност, са фракционираната екскреция на фосфати и по- точния показател, отнесен към GFR на пациента – бъбречен праг за фосфати. С цел изясняване етиологията на хиперфилтрацията, а именно дали тя се дължи на повишена загуба през тубулите на креатинин в условия на възникнала тубулна увреда, са сравнени двата показателя - eGFR и фракционирана екскреция на фосфати/бъбречен праг за фосфати.



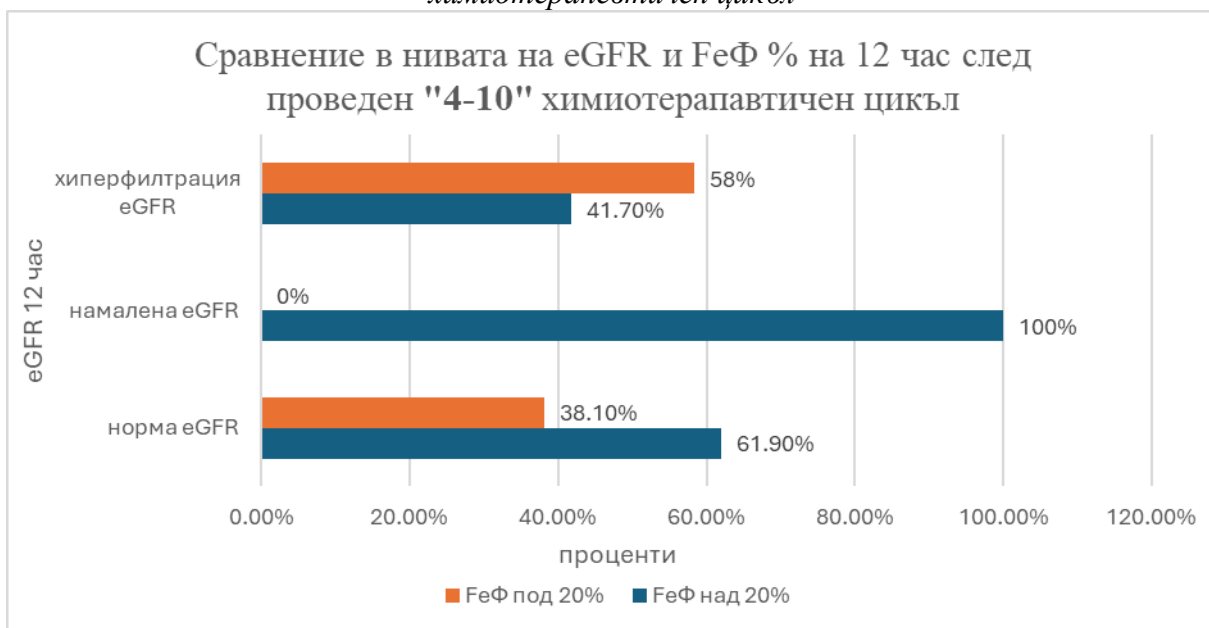
Фигура 28. Сравнение нивата на eGFR на 12 час и FeФ % на 12 час след първи химиотерапевтичен цикъл



Фигура 29. Сравнение нивата на eGFR на 12 час и FeФ % на 12 час след втори химиотерапевтичен цикъл



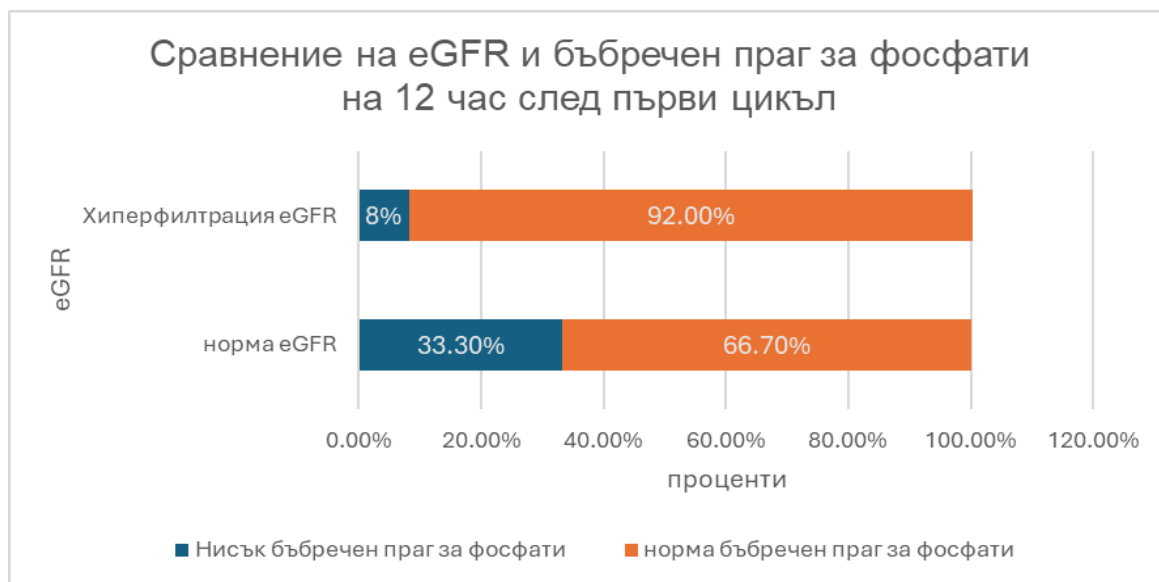
*Фигура 30. Сравнение нивата на eGFR на 12 час и FeФ % на 12 час след трети химиотерапевтичен цикъл*



*Фигура 31. Сравнение нивата на eGFR на 12 час и FeФ % на 12 час след „4-10“ химиотерапевтичен цикъл*

При направеното сравнение се установява, че липсва положителна корелационна връзка между хиперфилтрация и повишена фракционирана екскреция на фосфати, като особено добре това се вижда в първи химиотерапевтичен цикъл, а при всички деца с намален eGFR се отчита завишена FeФ%. Направи се сравнение и между eGFR хиперфилтрация и бъбречният праг за фосфати на 12 час от проведен химиотерапевтичен цикъл, разпределено по цикли - Фигура 32,33,34,35. Получените резултати

съвпадат с тези, получени при сравнението с фракционираната екскреция на фосфати.



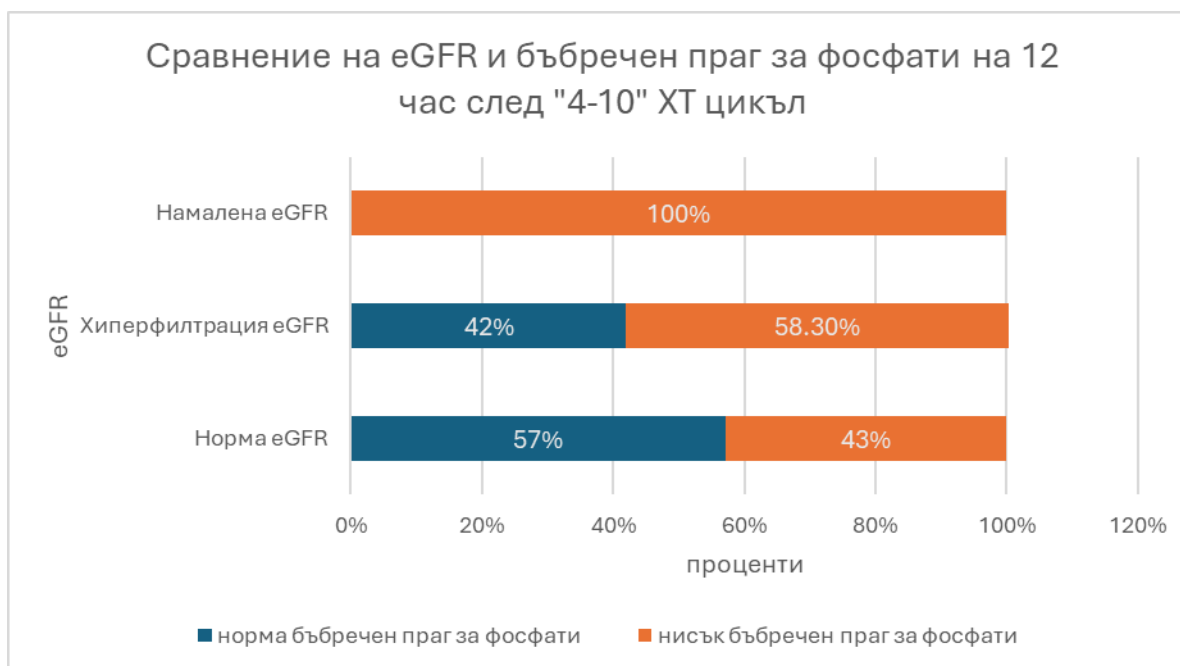
Фигура 32. Сравнение между eGFR и бъбречен праг за фосфати след първи химиотерапевтичен цикъл



Фигура 33. Сравнение между eGFR и бъбречен праг за фосфати след втори химиотерапевтичен цикъл



*Фигура 34. Сравнение между eGFR и бъбречен праг за фосфати след трети химиотерапевтичен цикъл*

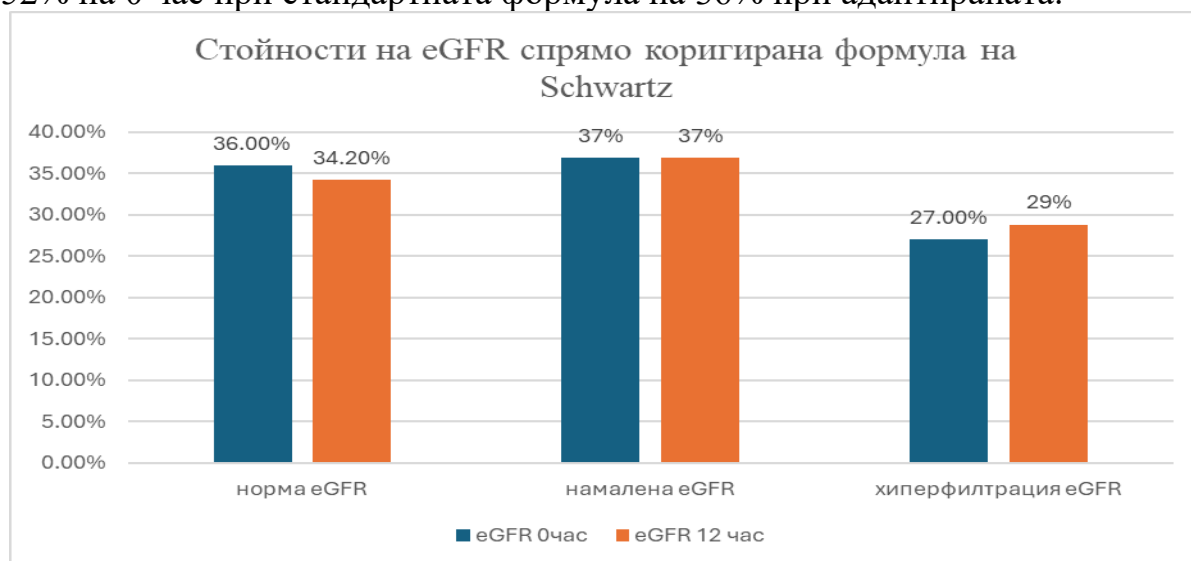


*Фигура 35. Сравнение между eGFR и бъбречен праг за фосфати след „4-10“ химиотерапевтичен цикъл*

От представените фигури без данни за положителна корелационна връзка между наличието на хиперфилтрация и бъбречен праг за фосфати, най-добре представено на първи цикъл, като само в цикъл „4-10“ при децата с хиперфилтрация се наблюдава и по висок процент на нисък бъбречен праг

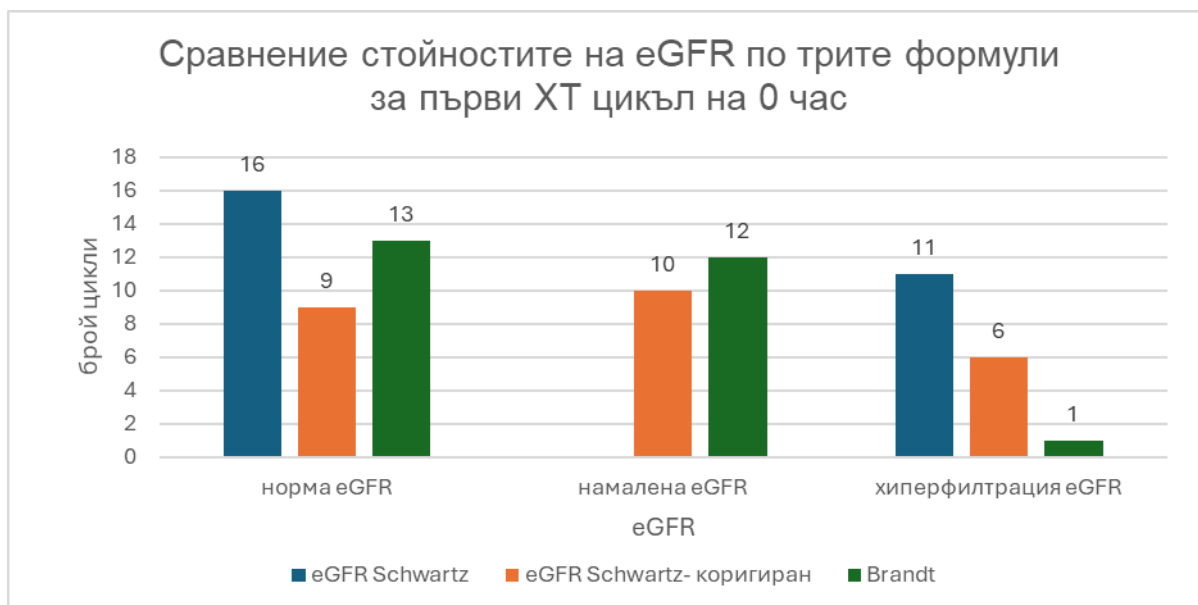
за фосфати. Единствено при два цикъла се наблюдава намалена eGFR, като при двата се отчита и намален бъбречен праг за фосфати и съответно повишена над 20 % фракционирана екскреция на фосфати.

Оценката на скоростта на гломерулната филтрация е безценна при наблюдение и лечение на деца, които получават потенциални нефротоксични медикаменти. При определяне на GFR чрез формулата на Schwartz, общоприета формула за eGFR, се използва нивото на серумния креатинин и ръста на пациента. Поради зависимостта на показателя креатинин от телесната маса на пациентите, тази формула надценява истинската GFR при онкоболни деца, което обеснява и високия процент на хиперфилтрация. В литературата се дискутира употребата на други формули, адаптирани за онкоболни деца<sup>230</sup>, две от които са формулата на Schwartz, коригирана спрямо телесната повърхност на детето, както и предложената от Brandt и колектив формула, включваща теглото и възрастта на детето, като получените стойности са сравнени с тези получени чрез методология на стационарното състояние чрез използване на нерадиоактивен Iothalamate (с бъбречен клирънс подобен на инулина), по метода на високоефективна течна хроматография<sup>230</sup> - представени с Формула 4 и формула5 . Данните за стойностите на GFR, получени чрез адаптираната спрямо телесната повърхност формула са дадени на фигура 36. Отчита се значителна разлика спрямо измерената по стандартната формула GFR хиперфилтрация на 0 час- 48%, а по коригираната формула 27% и съответно на 12 час хиперфилтрация -50,43 %, а по коригираната 28,8%. Значителна разлика се наблюдава и по намалена eGFR, като при класическата формула се наблюдава само при 1 дете преди цикъл и при две деца на 12 час след цикъл, докато при коригираната формула- за 0 и 12 час тя е 36,9% и съответно намалява процента на децата с нормална GFR – от 52% на 0 час при стандартната формула на 36% при адаптираната.

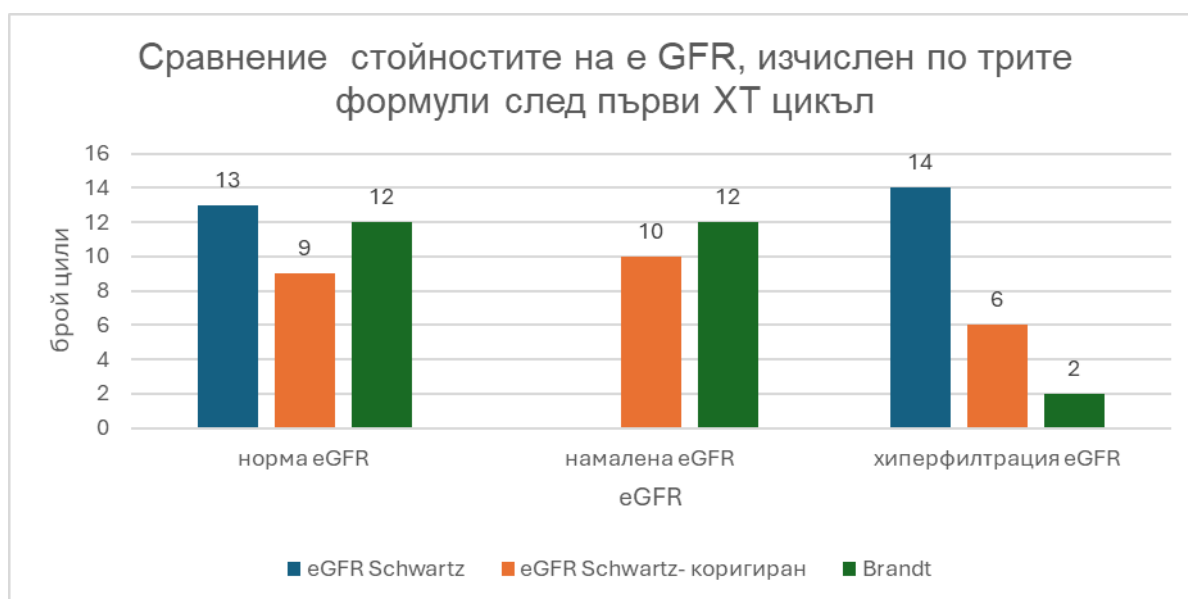


Фигура 36. Стойности на eGFR, изчислен по формулата на Schwartz , коригирана спрямо телесната повърхност

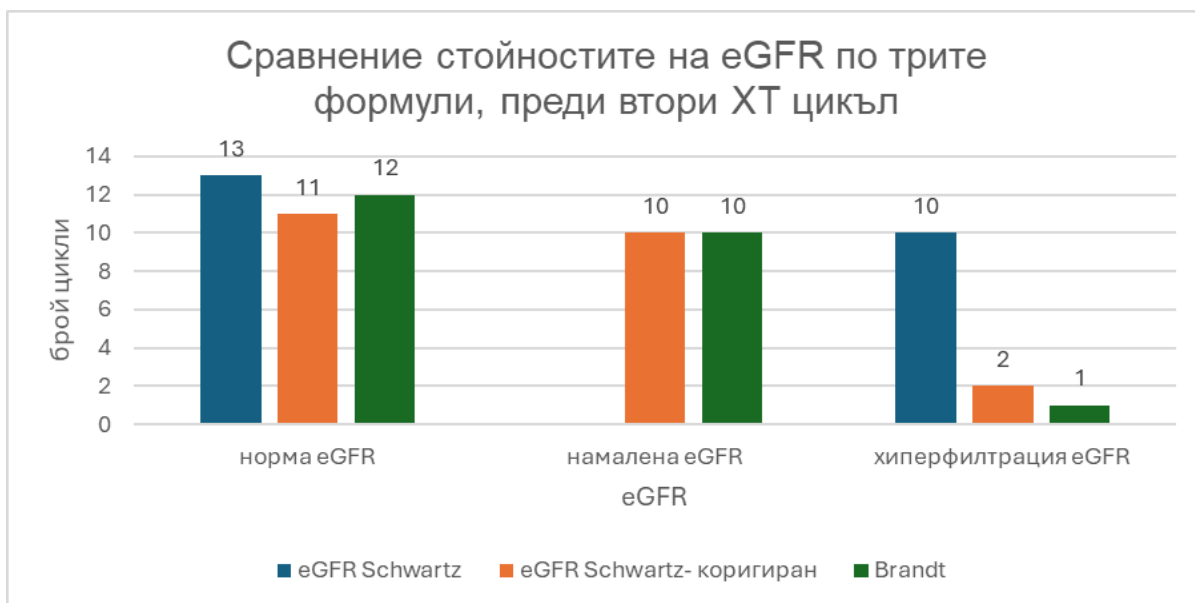
Разпределени по цикли стойностите на eGFR изчислени по трите формули за сравнение са представени на фигура 37,38,39,40,41,42,43,44.



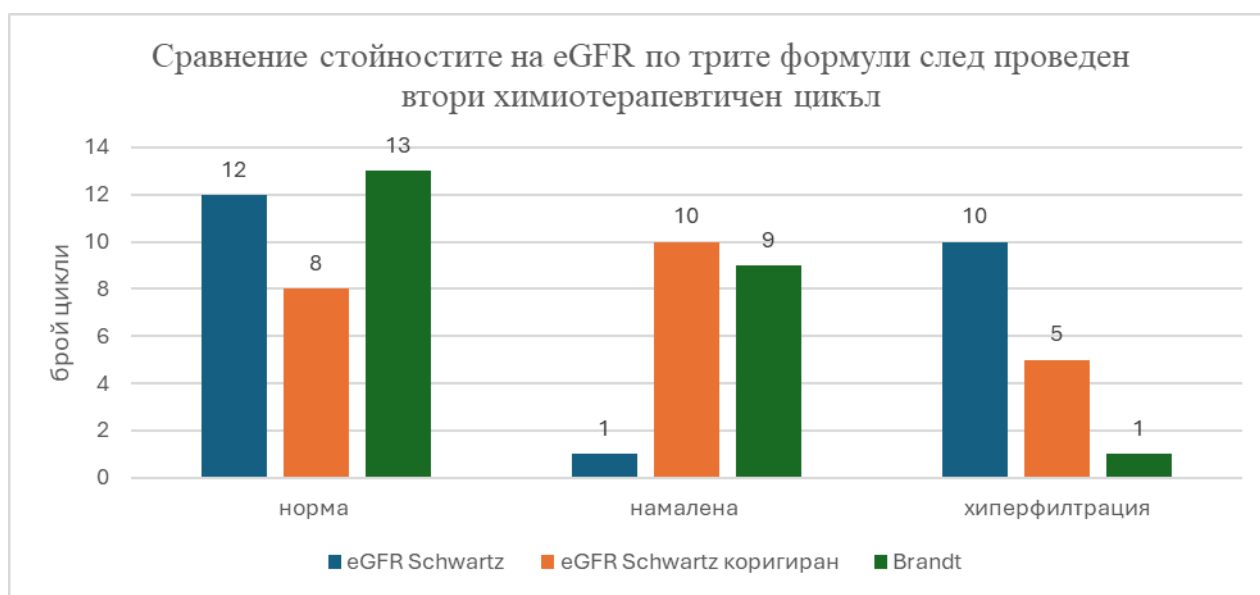
Фигура 37. Сравнение стойностите на eGFR изчислени по трите формули преди първи химиотерапевтичен цикъл



Фигура 38. Сравнение стойностите на eGFR изчислени по трите формули след първи химиотерапевтичен цикъл

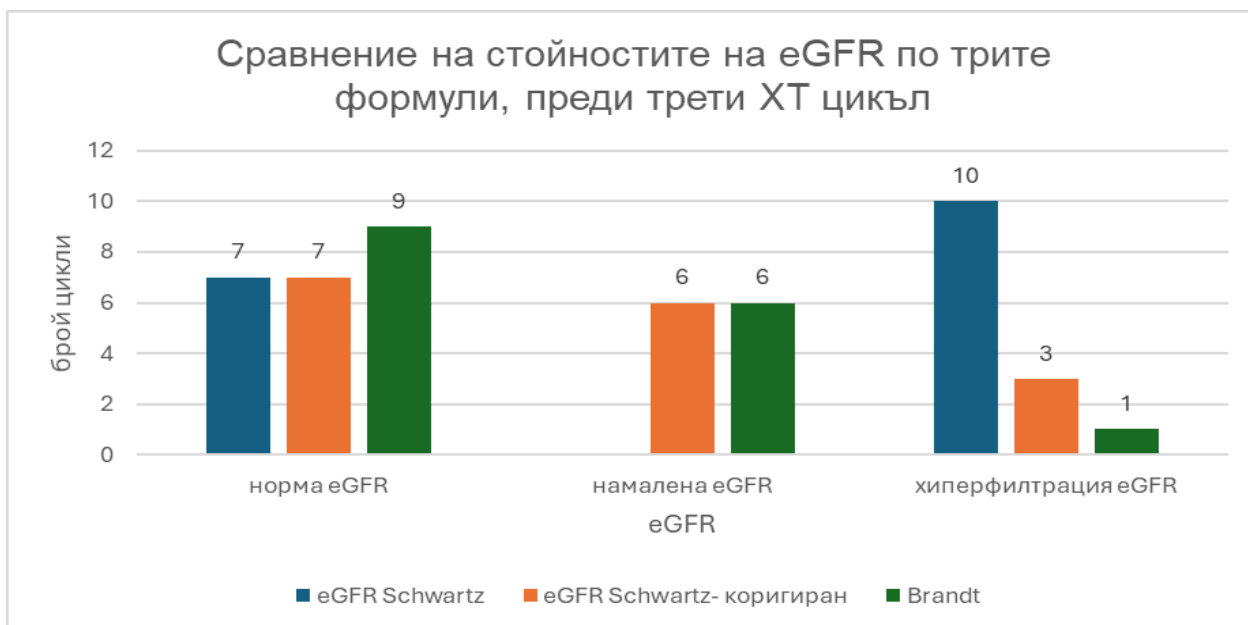


Фигура 39. Сравнение стойностите на eGFR изчислени по трите формули преди втори химиотерапевтичен цикъл

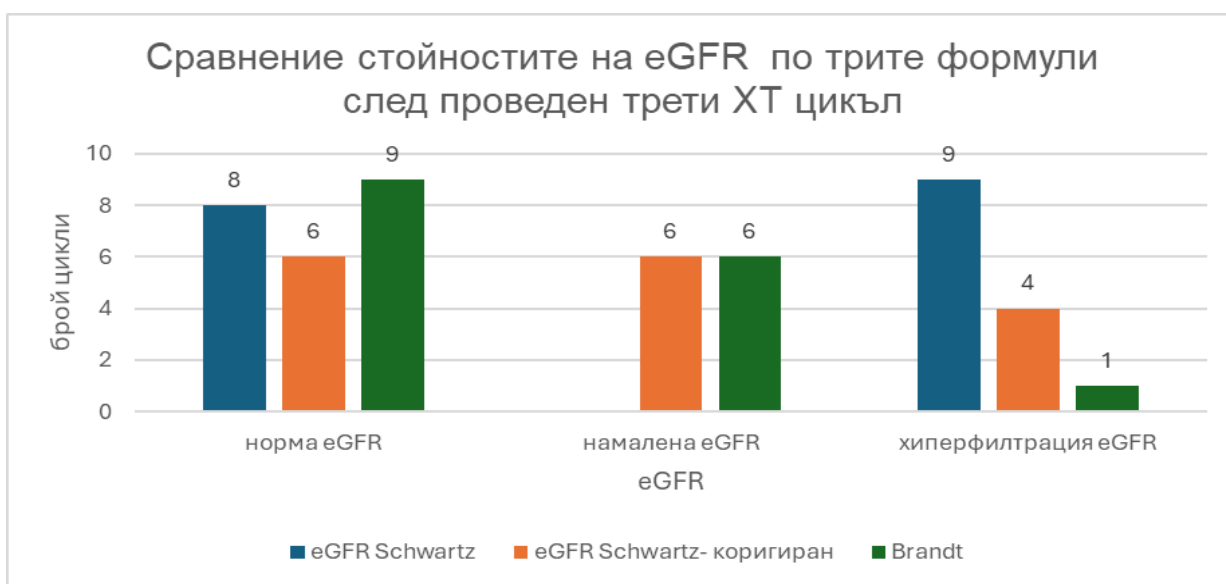


Фигура 40. Сравнение стойностите на eGFR изчислени по трите формули след втори химиотерапевтичен цикъл

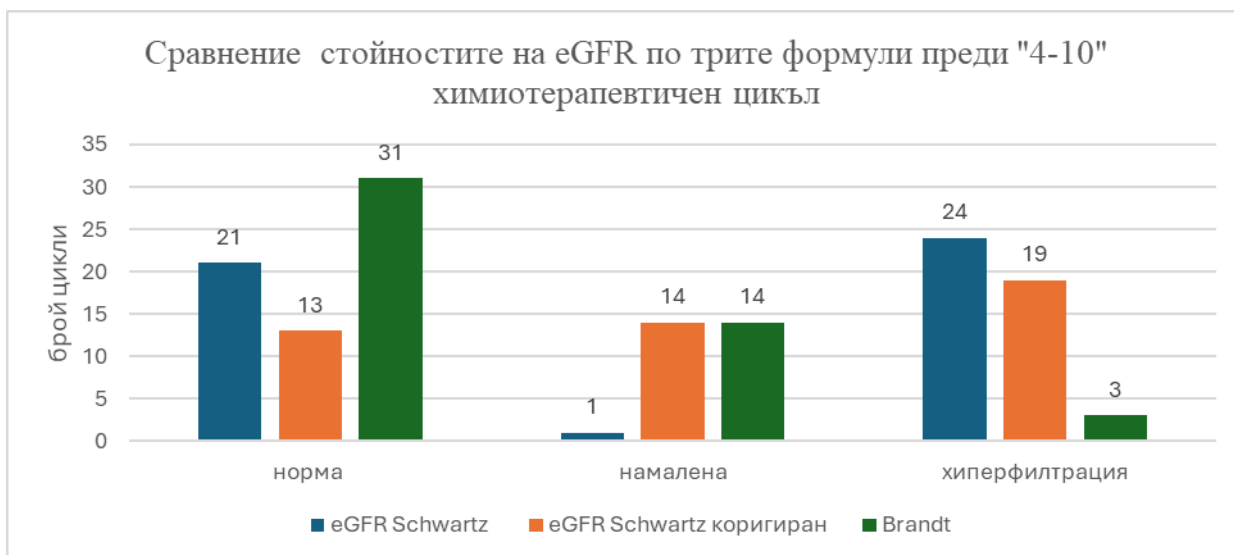




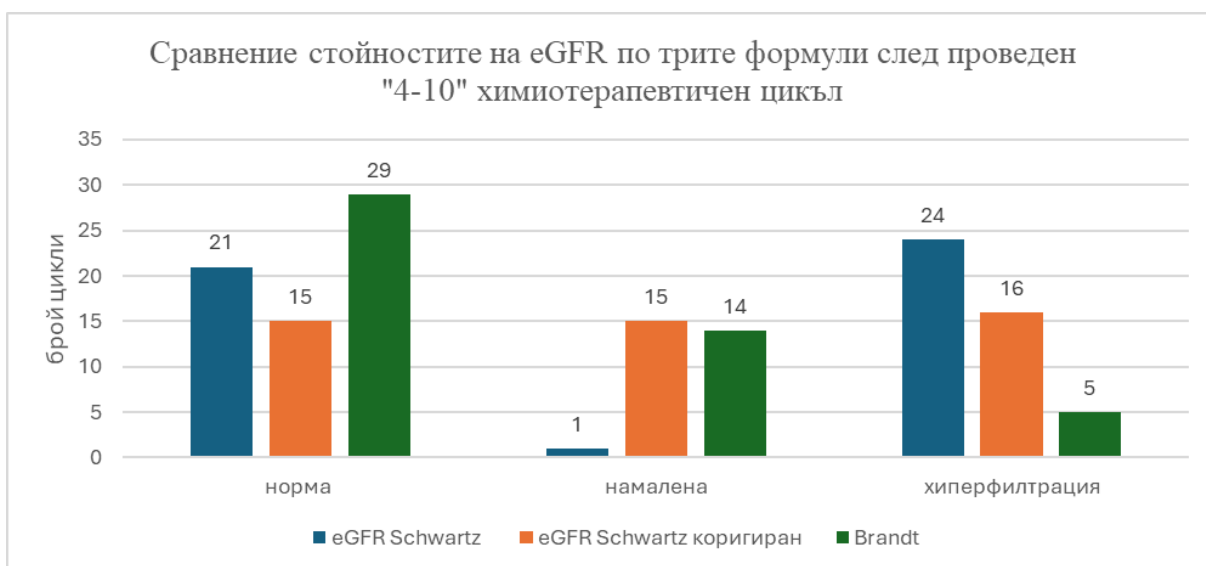
Фигура 41. Сравнение стойностите на eGFR изчислени по трите формули преди трети химиотерапевтичен цикъл



Фигура 42. Сравнение стойностите на eGFR изчислени по трите формули след трети химиотерапевтичен цикъл



Фигура 43. Сравнение стойностите на eGFR изчислени по трите формули преди „4-10“ химиотерапевтичен цикъл



Фигура 44 . Сравнение стойностите на eGFR изчислени по трите формули след проведен „4-10“ химиотерапевтичен цикъл

При използване на коригираната формула на Schwartz и формулата на Brandt повече деца са с намалена GFR преди и след химиотерапевтичен цикъл, като броят им е почти еднакъв за двете формули, докато циклите с хиперфилтрация спрямо оригиналната формула са значително по-малко. Броят на децата с намалена GFR остава непроменен преди и след цикъл по формулата на Brandt, докато при използване на адаптираната спрямо телесната повърхност формула се диагностицира едно дете след проведен химиотерапевтичен цикъл, но за цикъл „4-10“.

Направи се сравнение между предлаганите формули с цел определяне на формулата, която открива най-много отклонения (намалена eGFR, както и

хиперфилтрация), като Schwartz коригиран се открие като формулата откриваща най-много патология (Таблица 20).

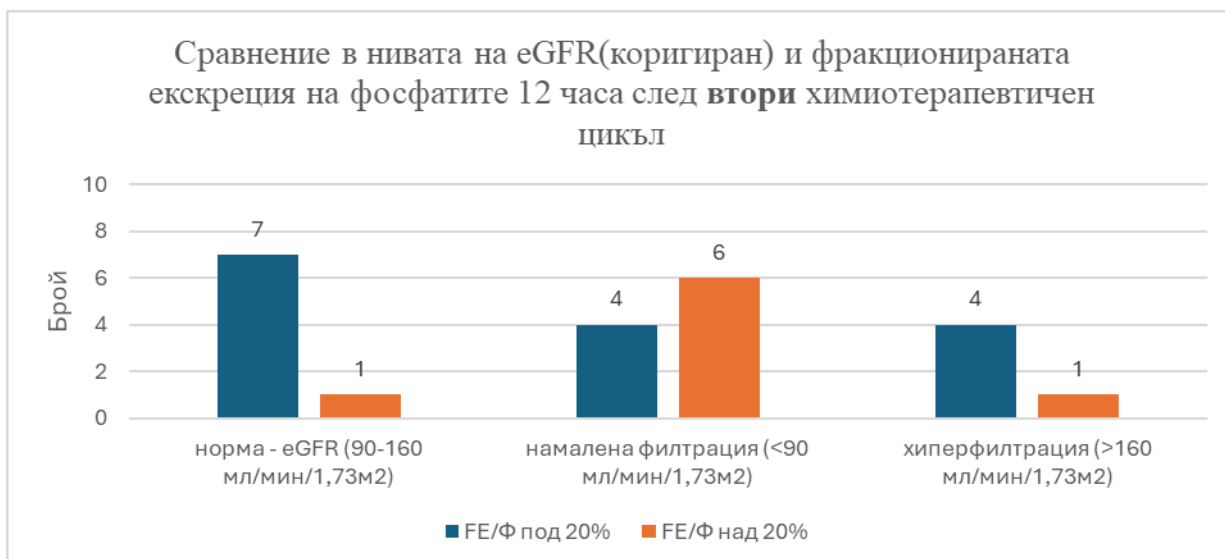
Таблица 20. Сравнение между трите формули за определяне на eGFR.

Формула за изчисление на ГФ	Норма (n; %)	Намалена ГФ или хиперфилтрация (n; %)	Разлика в относителните дялове ( $\Delta$ )	z статистика	95% CI (L)	95% CI (U)	p стойност
Schwartz	54 (47.79%)	59 (52.21%)	-4.42%	-0.67	-0.17	0.09	0.51
Brandt	63 (55.75%)	50 (44.25%)	11.50%	1.74	-0.01	0.24	0.16
<b>Schwartz (Коригиран)</b>	<b>38 (34.23%)</b>	<b>73 (65.77%)</b>	<b>-31.53%</b>	<b>-4.95</b>	<b>-0.44</b>	<b>-0.19</b>	<b>&lt;0.01</b>

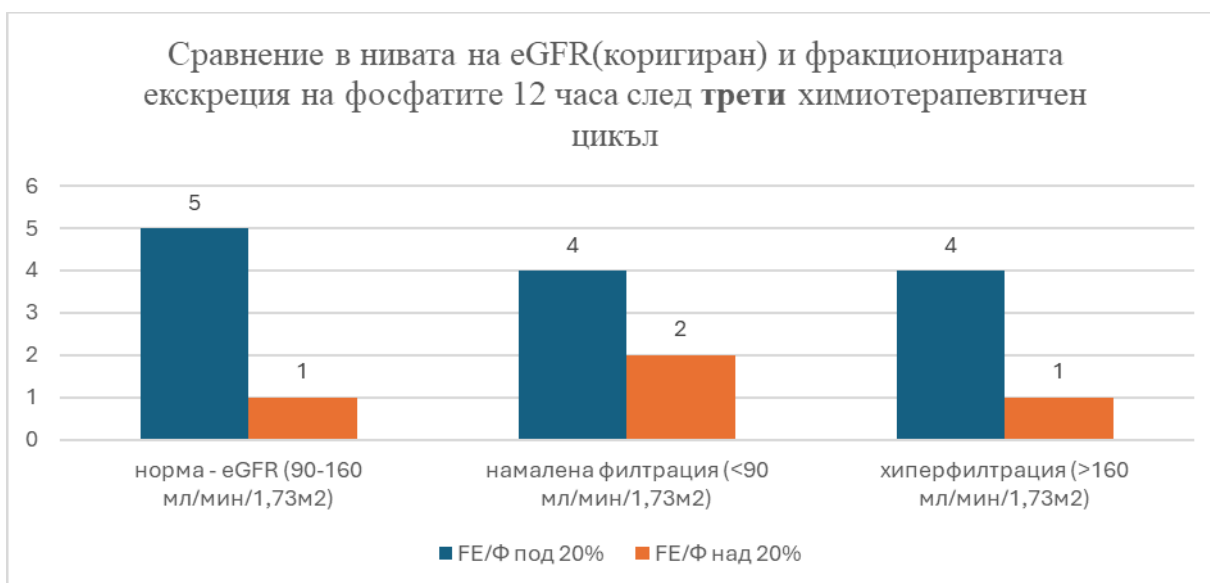
Отново се направи съпоставяне между eGFR12 час по адаптираната за телесна повърхност формула на Schwartz и FeФ% - Фигура 45,46,47,48.



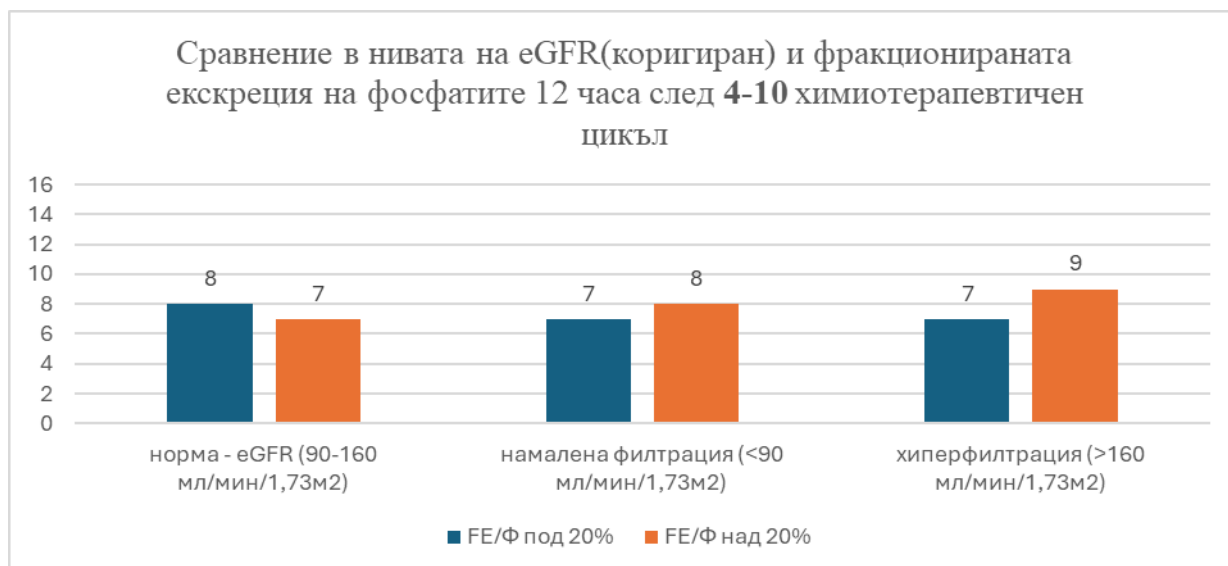
Фигура 45. Сравнение в нивата на eGFR(коригирана) и FeФ % на 12 час за първи химиотерапевтичен цикъл



Фигура 46. Сравнение в нивата на eGFR(коригирана) и FeФ % на 12 час за втори химиотерапевтичен цикъл



Фигура 47. Сравнение в нивата на eGFR(коригирана) и FeФ % на 12 час за трети химиотерапевтичен цикъл



Фигура 48. Сравнение в нивата на eGFR(коригирана) и FeФ % на 12 час за „4-10“ химиотерапевтичен цикъл

При използване на коригираната формула се установи, че повишена Fe Ф% се наблюдава основно при децата от цикли с намалена eGFR, като единствено за цикъл „4-10“ тя е еднакво представена при всички групи eGFR, за разлика от класическата формула на Schwartz, при която повишена екскреция на фосфати се наблюдава основно при деца с нормална eGFR.

### 3.2 Дискусия по задача 3

За първи път думата „ креатинин“ е използвана през 1847 година от Justus von Liebig. Днес това е един от най- използваните анализи в клиничната химия. Той е единственият бъбречен плазмен биомаркер, използван в ежедневната клинична практика за оценка на GFR. Въпреки това не е идеалният маркер, тъй като зависи от редица фактори, като пол и мускулна маса.

При пациенти с ниска мускулна маса, като анорексия, мускулна атрофия или такива с онкологични заболявания, неговото ниво е ниско или не се повишава дори и когато GFR намалява. В проведеното проучване се установи ниско серумно ниво на креатинина при дебюта на заболяването, като след проведен химиотерапевтичен цикъл при голям процент от пациентите то е още по- ниско или непроменено, дори и при пациенти с данни за настъпила тубулна увреда. Това още веднъж подкрепя факта, че в онкологията креатининът е с ниска чувствителност за диагностициране на настъпила ОБУ<sup>229</sup>.

По – точният показател по отношение бърбечната функция е измерването на GFR. Определянето ѝ е изключително важно в онкологията, особено когато ще се прилагат нефротоксични химиотерапевтични режими, с цел оптимално дозиране на медикаментите спрямо бърбечната функция. В литературата има много малко проучвания по отношение на GFR при онкоболни деца. Широко дискутиран е и използваният метод за определяне на GFR. Най- точни по отношение на абсолютната GFR са радиоизотопните методи ( $^{51}\text{Cr}$  [ $^{51}\text{Cr}$ ]-EDTA). За съжаление, необходимостта от вземане на кръвни проби неколкратно или липсата на достъп до съответния радиоизотоп правят тези методи малко използвани и непередпочитани в практиката. Предлаганите методи за определяне на GFR са класическата формула на Schwartz, като с оглед ниската телесна маса при онкоболните деца, се препоръчва да се адаптира към телесната им повърхност.<sup>230</sup> Интересен факт е, че при всички тези проучвания се установява висок процент на хиперфилтрация, независимо от избрания метод на измерване на GFR, както преди започване на лечение, така и след проведени първи химиотерапевтични курсове. Такова е проучването на Neha S. Kwatra и колектив, при което се намира 43,5% хиперфилтрация при 177 деца, измерена чрез DTPA (diethylenetriaminopentaacetic acid) при поне един от проведените химиотерапевтични цикъла. При проучване на Lars Hjorth и колектив, отново чрез използване на радиоизотопен метод (iohexol клирънс ) се съобщава за честота на хиперфилтрация от 31%.<sup>230,231,232</sup>

При проследяване нивата на eGFR също се установи висок процент на хиперфилтрация, съпоставим с цитираните проучвания, както при дебюта на заболяването - при 55 цикъла (47,8 %), така и след проведен химиотерапевтичен курс – при 58 (50,43%) от циклите на 12 час, като за хиперфилтрация се приеха стойности на  $\text{eGFR} > 160 \text{ мл/мин/1,73 м}^2$ . Патофизиологията на хиперфилтрацията е доста дискутирана, като най-приемана е теорията за хиперметаболичното състояние, в което се намират децата с онкологични заболявания, особено по време на химиотерапия.<sup>230,231,232</sup> Хипотезата за повишена екскреция на креатинин при настъпване на тубулна увреда в хода на провеждан цикъл, като етиология за хиперфилтрацията, не се доказва, тъй като при сравняване децата с хиперфилтрация и фракционирана екскреция на фосфати, респективно бърбечния праг за фосфати, не се намери статистически значима връзка между параметрите.

Оценката на скоростта на гломерулната филтрация е безценна при наблюдение и лечение на деца, които получават потенциални нефротоксични медикаменти. Използването на класическата формула на Schwartz е лесен и широкодостъпен метод, но надценява гломерулната филтрация. В литературата има малко проучвания по отношение типа формула, който да се използва при онкоболни деца, но всички те залагат на формули с телесната маса. Такива са коригираната спрямо телесната

повърхност формула на Schwartz, формулата на Brandt или Cockcroft–Gault<sup>230-235</sup>. В проучването се използвани две от тях- коригираната формула на Schwartz и формулата на Brandt. И при двете формули процента на хиперфилтрация, получен при класическата формула, намалява значително, но остава висок – до 28%, резултат съпоставим с получените при прочувания на GFR при онкоболни деца с радиоизотопен метод, но се наблюдава нарастване на случаите с намалена GFR<sup>234</sup>. За разлика от класическата формула, при която децата с повишена фракционирана екскреция на фосфати и съответно нисък бъбречен праг за фосфати, са с предимно нормална GFR, то при формулите базирани на телесна маса, те са предимно сред деца с намалена GFR.

В заключение при ситуации, при които е необходимо точно дозиране на нефротоксични медикаменти при онкоболни деца, се препоръчва силно да се използват изотопните методи като <sup>51</sup>Cr( [<sup>51</sup>Cr]-EDTA), но при нужда от неинвазивно измерване на GFR се предлага да се използват формулите, базирани на телесната маса<sup>234</sup>, като се препоръчва използването на Schwartz-коригирана спрямо телесната повърхност.

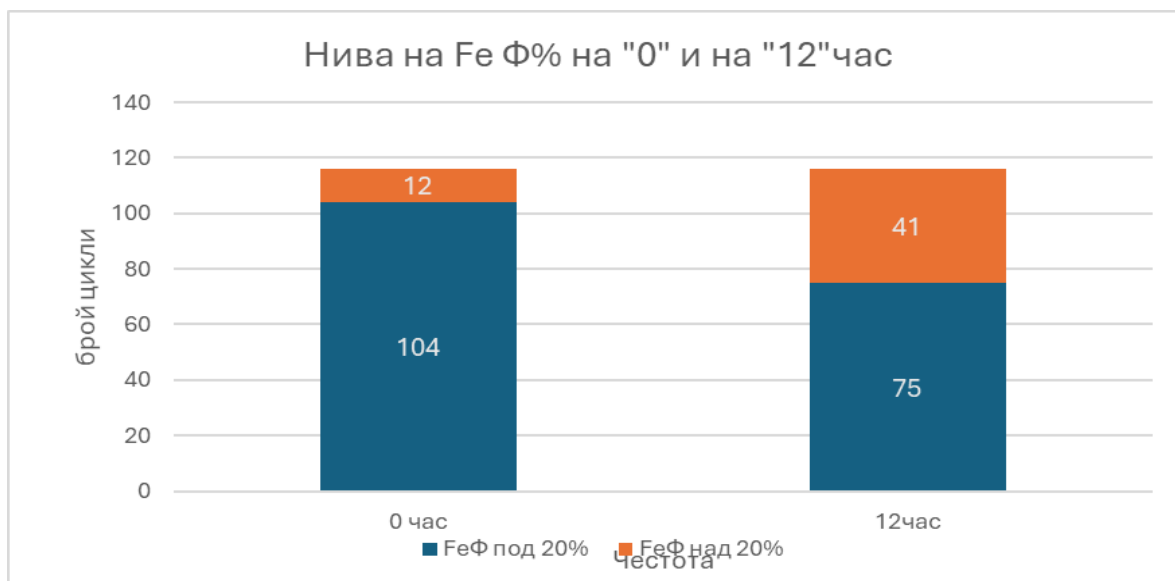
### **Изводи от дискусията към Задача 3**

- Установява се висок процент хиперфилтрация
- eGFR е ненадежден маркер за диагностициране на ОБУ в резултат на нефротоксичност
- При проследяване на бъбречната функция в детската онкология се препоръчва употребата на Schwartz - коригиран спрямо телесната повърхност за изчисляване на eGFR.

### **4.1 Резултати по задача 4**

**Да се установи значимостта на маркерите за проксимална тубулна увреда – фракционирана екскреция на фосфати и бъбречен праг за фосфати като ранни маркери за нефротоксичност**

Маркери за настъпване на тубулна увреда са тубулните протеини –  $\beta$ 2 микроглобулин, фракционирана екскреция на фосфати и бъбречен праг на фосфати. В проучването са заложили маркерите, свързани с фосфатната екскреция, тъй като при тубулна увреда най – рано се нарушава фосфатната реабсорбция и е клинично - най значимата настъпила увреда. На фигура 49 са представени стойностите на FeФ% преди начало и след края на всеки химиотерапевтичен цикъл.



Фигура 49 . Стойности на FE Ф% на „0“ час и на „12“ час

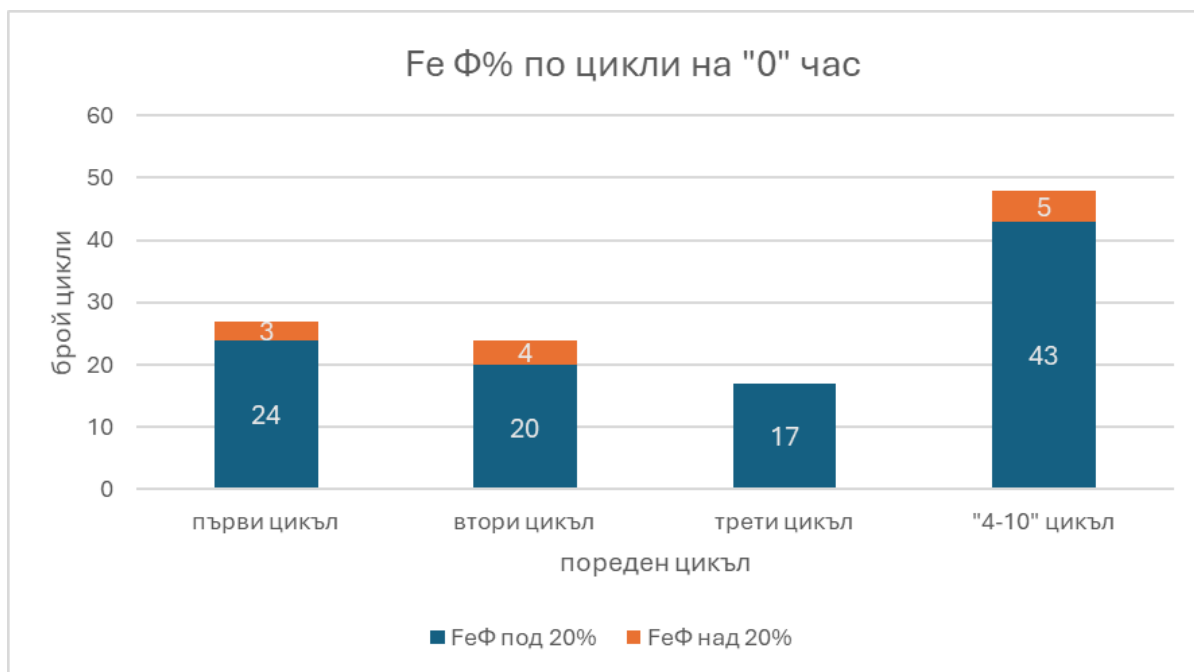
Таблица 21. Динамика в стойностите на FeФ%

Показател	Преди химиотерапевтичен цикъл	На 12 час след химиотерапевтичен цикъл	Промяна (% и 95% CI)	p
Fe Ф%	10.3%	35.3%	25.00% (15.78, 34.22)	<0.0001

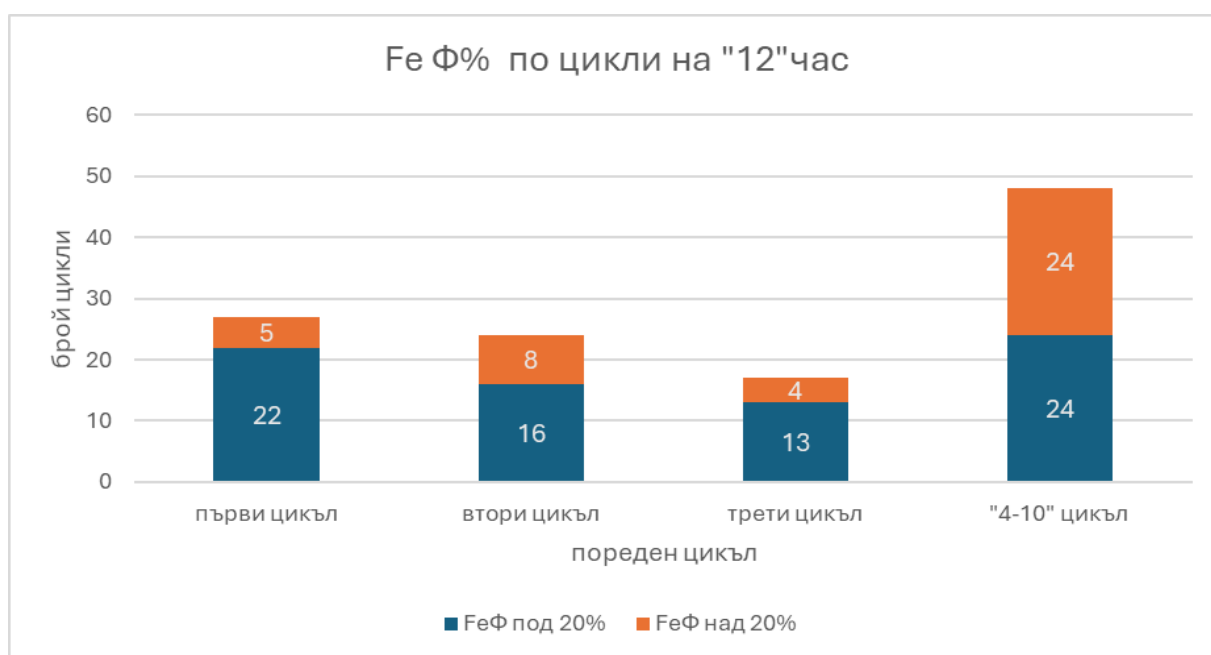
Установи се статистически значима промяна по отношение на броя на пациентите с FeФ над 20% , като преди химиотерапевтичен цикъл 10.3% от изследваните лица са били с FeФ над 20%, а на 12 час след цикъл те са 35,3% т.е. статистически значимо се е увеличил броя на изследваните лица, при които фракционираната екскреция на фосфати е над 20% на 12 час след химиотерапевтичен цикъл(Таблица 21).

Разпределени по цикли, резултатите за фракционираната екскреция на фосфатите на „0“ час са представени на Фигура 50.



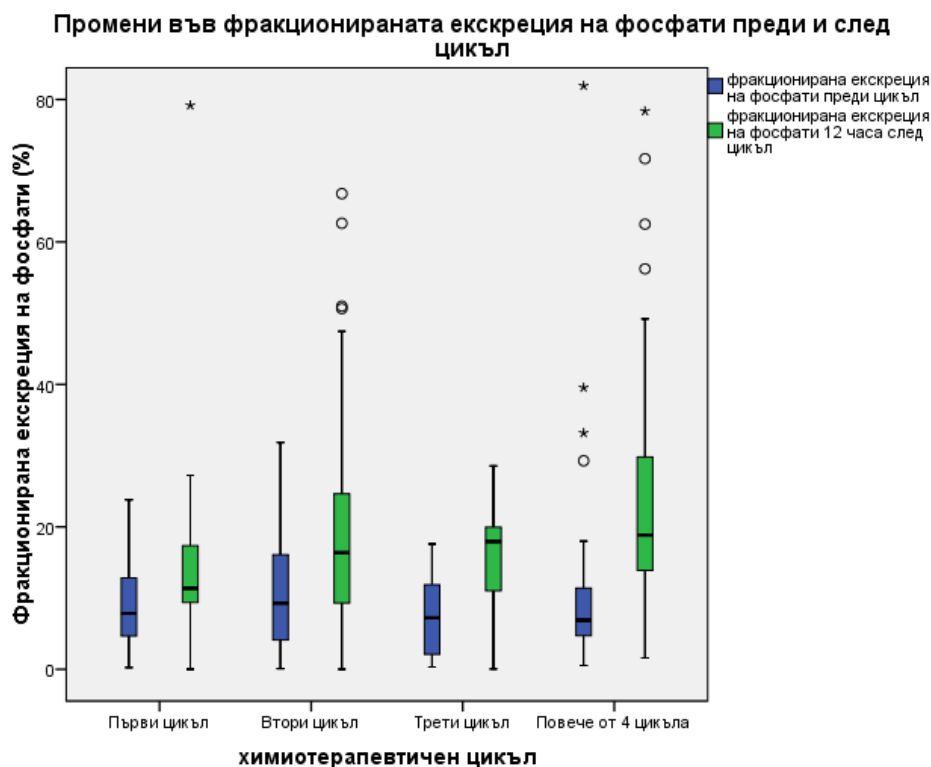


Фигура 50. Разпределение на Fe Ф % по цикли на „0“ час



Фигура 51. Разпределение на Fe Ф % по цикли на „12“ час

Представени по цикли, се установи, че FeФ % нараства значително в цикъл „4-10“ на 12 час след проведен химиотерапевтичен цикъл, тоест с нарастване броя на проведените химиотерапевтични цикли нараства и тубулната увреда. Графично промените настъпващи с FeФ% преди и след химиотерапевтичен цикъл, разпределени по цикли са представени на Фигура 52.



Фигура 52. Графично представяне на промените настъпващи с FeФ % преди и след химиотерапевтичен цикъл по цикли

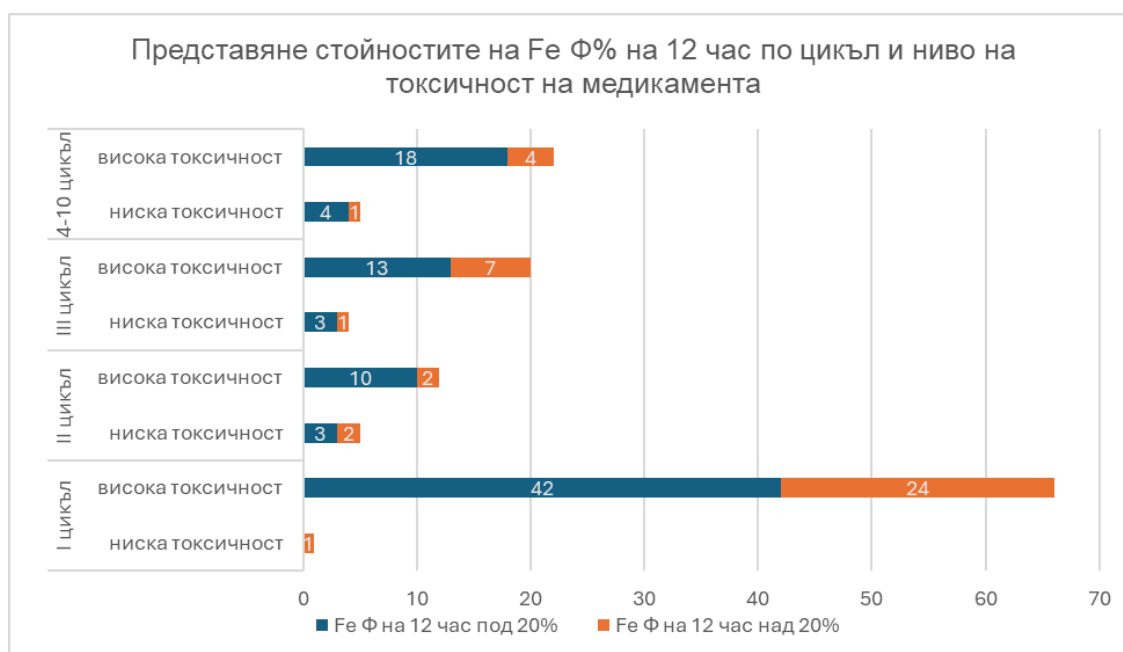
В първи цикъл от 24 цикъла, които са с нормална Fe Ф % преди терапия след нея 20 са с нормална и 4 са с данни за тубулна увреда. При втори цикъл от 20 цикъла с нормална фракционирана екскреция на фосфати преди терапия след нея остават с нормална само 14 , при 6 от тях има данни за тубулна увреда. При трети цикъл- от 17 цикъла с нормална фракция на 12 час с такава остават 13 цикъла и 4 са с данни за тубулна увреда. При цикъл „4-10“ от 43 цикъла с нормална екскреция на фосфати на 0 час – на 12 час с нормална остават 24, а при 19 цикъла се наблюдава наличие на тубулна увреда. По отношение на повишена екскреция на фосфати на „0“ час- при първи цикъл от 3 цикъла с повишена екскреция– на 12 час с такава е останал само 1 цикъл , при втори цикъл от 4 с повишена – след терапия с повишена са останали само два , при трети цикъл не се наблюдават деца с повишена екскреция на фосфати преди терапия и при цикъл „4-10“ - пет цикъла са били с повишена екскреция преди терапия и са останали с такава след нея. Отново може да се направи извода, че с напредване на броя химиотерапевтични цикли нараства и риска за поява на тубулна увреда.

За да се установи дали съществува статистически значимо различие между показателите във всеки от проведените цикли преди химиотерапевтичен цикъл и на 12 ч. след него, е използван тест на Уилкоксън (Wilcoxon signed ranks test) (Таблица 22).

Таблица 22. Стойности на FeФ% урина преди и след пореден химиотерапевтичен цикъл

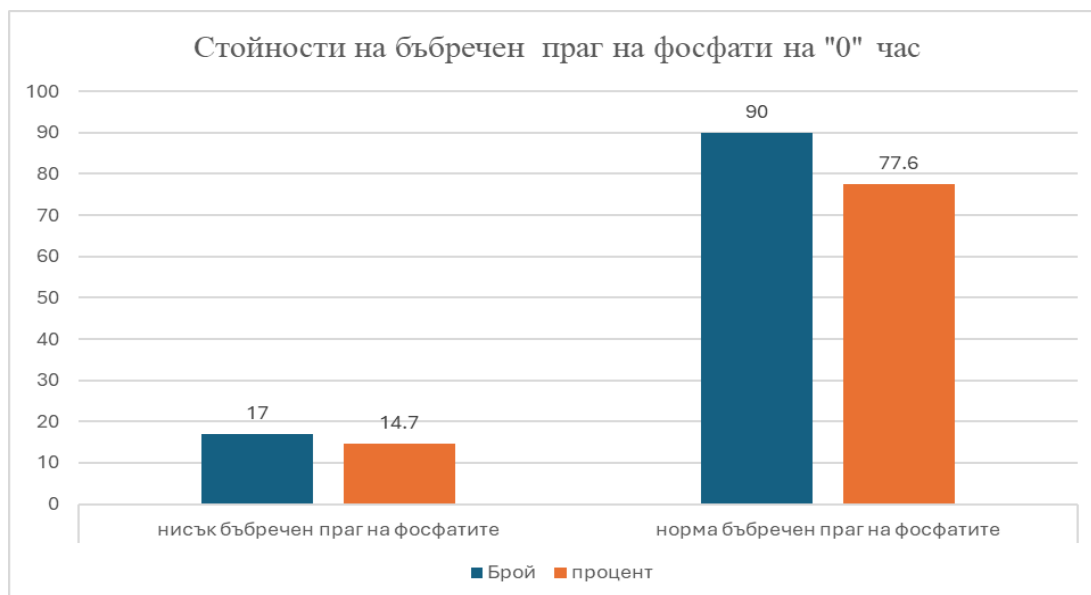
FeФ % в урина	Показатели				
	N	Медиана (IQR)		z	p
		преди химиотерапия	12 часа след химиотерапия		
Първи цикъл	26	7.47 (3.597 - 13.192)	11.36 (9.067 - 17.597)	-2.381	<b>0.017</b>
Втори цикъл	23	9.28 (3.75 - 16.31)	16.38 (9.23 - 27.41)	-2.281	<b>0.023</b>
Трети цикъл	16	7.24 (2.107 - 12.087)	17.88 (8.595 - 19.96)	-2.896	<b>0.004</b>
4-10 цикъл	47	6.91 (4.69 - 11.44)	19.72 (13.85 - 30.157)	-2.856	<b>&lt;0.001</b>

Установи се статистически значима разлика в нивата на FeФ% в урина преди и след проведен химиотерапевтичен цикъл. Химиотерапевтичните цикли са разпределени и по токсичност на медикамента, висока или ниска, както и по пореден цикъл, но статистически значим извод не може да се направи поради различния брой цикли във всяка група, а именно преобладаване на циклите в групата с висока токсичност.

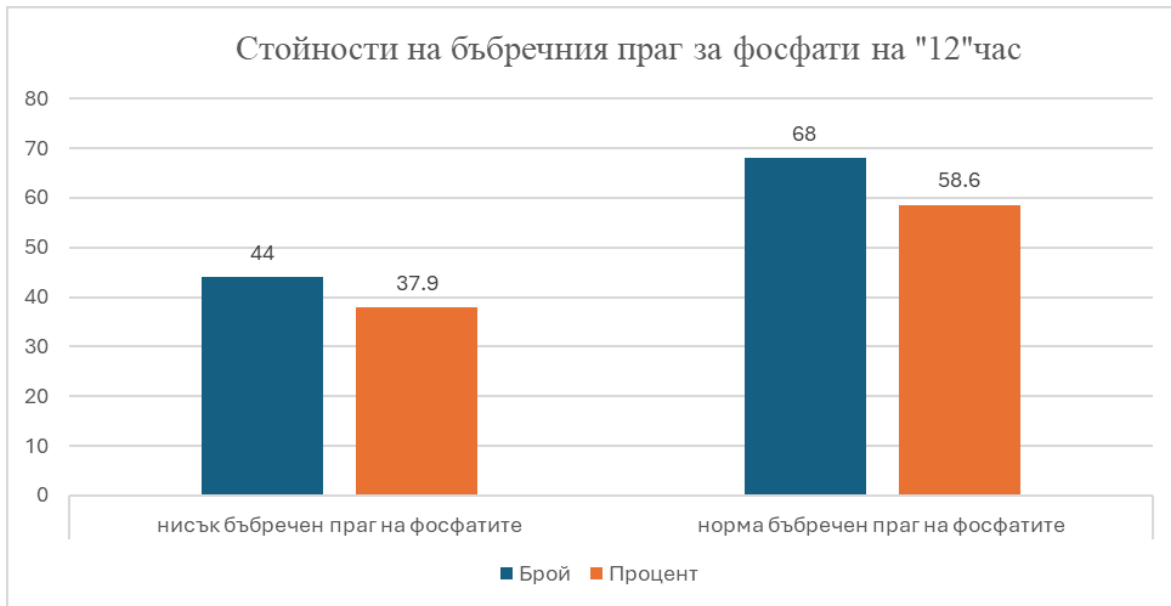


Фигура 53. Сравнително представяне на промените настъпващи с FEФ% на „0“ и „12“ час сравнени по степен на нефротоксичност на използвания медикамент

**Бъбречен праг за фосфати.** Бъбречният праг за фосфати (Tmp/GFR) е точен маркер, тъй като е съпоставен със скоростта на гломерулната филтрация. Установи се статистически значима промяна по отношение на бъбречния праг на фосфатите за всички цикли, като преди химиотерапевтичен цикъл 77.6 % (90) от всички цикли са били с нормален бъбречен праг на фосфати, а на 12 час след терапия те са 58,6%(68 цикъла) т.е. статистически значимо е намалял броя на циклите, при които бъбречния праг на фосфатите е бил в норма на 12 час след химиотерапия.

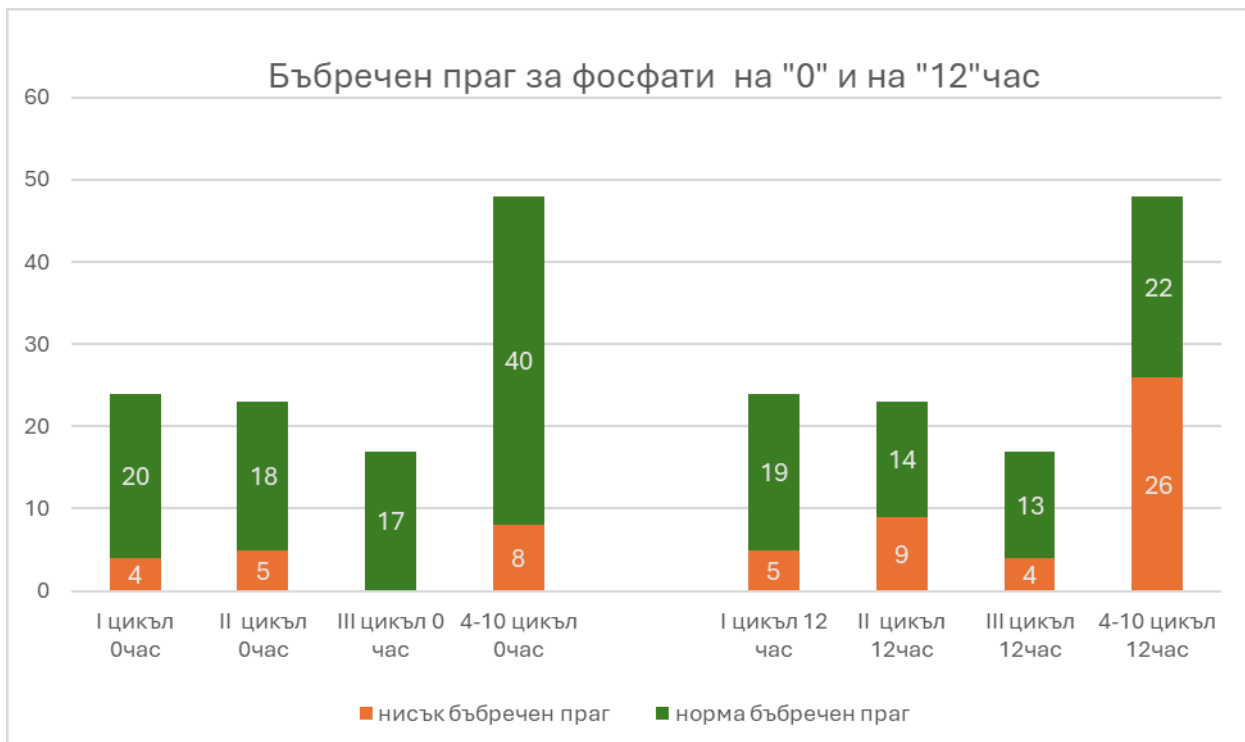


Фигура54 . Стойности на бъбречният праг за фосфати на „0“час



Фигура 55. Стойности на бъбречния праг за фосфати на „12“ час

Разгледани по цикли, резултатите за бъбречният праг за фосфати отново показват нарастване процента нисък бъбречен праг, сочещ наличие на тубулна увреда, при нарастване поредността на цикъла (Фигура 56).



Фигура 56. Стойности на бъбречният праг за фосфати по цикли на „0“ час и на „12“ час

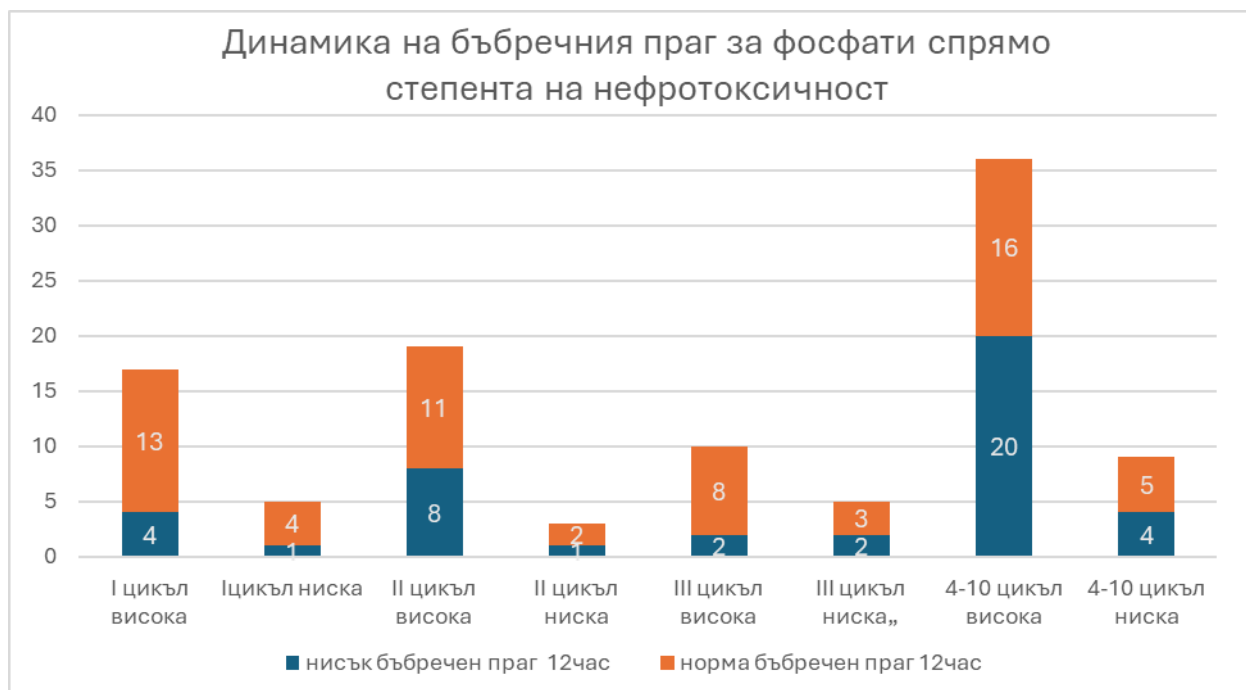
За да се установи дали съществува статистически значимо различие между показателите във всеки от проведените цикли преди химиотерапевтичен

цикъл и на 12 ч. след него, е използван тест на Уилкоксън (Wilcoxon signed ranks test) (Таблица 23).

Таблица 23. Стойности на бъбречен праг на фосфати Tmp/GFR преди и след пореден химиотерапевтичен цикъл

Tmp/GFR	Показатели				
	N	Медиана (IQR)		z	p
		преди химиотерапия	12 часа след химиотерапия		
Първи цикъл	24	1.335 (1.063 - 1.527)	1.103 (0.922 - 1.34)	-2.419	<b>0.016</b>
Втори цикъл	23	1.259 (1.053 - 1.486)	0.986 (0.616 - 1.202)	-2.224	<b>0.026</b>
Трети цикъл	15	1.384 (1.24 - 1.519)	1.02 (0.975 - 1.236)	-2.897	<b>0.004</b>
4-10 цикъл	45	1.301 (1.108 - 1.525)	0.866 (0.649 - 1.108)	-4.713	<b>&lt;0.001</b>

Установи се статистически значима разлика за бъбречния праг за фосфати на нулев час и на 12 час за всички проведени химиотерапевтични цикли. Поради по-малкия брой цикли с нискотоксичен медикамент, не може да се направи категорично заключение по отношение изява и степен на нефротоксичност между двете групи медикаменти (Фигура 57).



Фигура 57. Сравнително представяне на промените в бъбречния праг на фосфати на „0“ и на „12“ час спрямо степента на нефротоксичност на използваният медикамент

## 4.2 Дискусия по задача 4

Част от използваните в детската онкология медикаменти, особено при деца със солидни тумори, са нефротоксични, като те водят предимно до тубулна увреда. Проксималният тубул, като метаболитно най-активна част на тубуларния апарат, е най-засегнат. Това води до изява на частична или генерализирана проксимална тубулна дисфункция- ренален Fanconi синдром. Клиничната изява се характеризира с аминокацидурия, хипофосфатемия, нискомолекулна протеинурия ( $\beta_2$ -микроглобулин, ретинол-свързващ протеин), нормогликемична глюкозурия, метаболитна ацидоза, хипокалиемия, хипоурикемия. Докато изявата на тубулна протеинурия и глюкозурия не оказват съществено влияние върху организма, то повишената фосфатна екскреция, водеща до хипофосфатемия, е едно от основните от клинична гледна точка нарушения на тубулната функция, тъй като води до скелетна деминерализация и остеомалация, проксимална мускулна слабост, кости болки, спонтанни фрактури или изява на хипофосфатемичен рахит. Поради запазената дистална тубулна функция полиурията е рядка клинична изява, както и метаболитната ацидоза не е толкова тежка ( $\text{HCO}_3^- > 15$ )<sup>235-238</sup>.

Чрез използването само на стандартните методи за определяне на бъбречната функция- ниво на серумен креатинин и олигурия, този тип увреда остава неразпозната, тъй като в повечето случаи гломерулната функция е незасегната, освен в случаите когато е засегнат и дисталния тубул и е нарушена секрецията на креатинин. Получените резултати в задача 3 също подкрепят това твърдение. Една от поставените задачи е да се установи какъв процент от децата, провеждащи химиотерапия, са с изява на клинична или субклинична (не налагаща субституция) тубулна увреда.

От проведеното изследване преди химиотерапевтичен цикъл се наблюдава повишена екскреция на фосфати само при 10% от всички 116 цикли, докато на 12 час след проведен курс процентът нараства значително на 35,5%, като с нарастване на поредността на цикъла нараства и броя на децата, които са с тубулна увреда, което говори за наличие на ефекта на натрупване на нефротоксичността. Подобен е резултата и при използване на по – точния маркер- бъбречен праг на фосфати – нисък бъбречен праг преди начало на терапия само при 17 цикъла (14.7%), а 12 часа след проведен цикъл- при 44 цикъла (37.0%), като тук също се наблюдава нарастване на процента нисък бъбречен праг с нарастване броя на проведените химиотерапевтични цикли. По отношение нивата на серумния фосфор – при 5 цикъла, като това са деца с данни за пореден цикъл от тяхното лечение, се наблюдават ниски нива на серумен фосфор – което е 4% от всички цикли, а на 12 час след проведена химиотерапия – хипофосфатемия има при 14 цикъла- което е 12 % от всички цикли. За да се оцени дали промените на електролитите, а именно фосфор и

магнезий по цикли, са статистически значими, отново е използван теста на Уилкоксън за статистическа значимост и резултатите са показани на таблица 24 и таблица 25.

Таблица 24. Нива на серумен фосфор преди и след пореден химиотерапевтичен цикъл

		Показатели			
Фосфор mmol/l	N	Медиана (IQR)		z	p
		преди химиотерапевтичен цикъл	12 часа след химиотерапевтичен цикъл		
Първи цикъл	24	1.435 (1.332 - 1.617)	1.34 (1.112 - 1.495)	-1.544	0.123
Втори цикъл	23	1.43 (1.2 - 1.56)	1.25 (1.09 - 1.43)	-1.703	0.089
Трети цикъл	16	1.48 (1.392 - 1.655)	1.24 (1.19 - 1.415)	-2.793	<b>0.005</b>
4-10 цикъл	45	1.4 (1.25 - 1.585)	1.17 (0.892 - 1.392)	-1.088	<b>&lt;0.001</b>

Таблица 25. Нива на серумен магнезий преди и след пореден химиотерапевтичен цикъл

		Показатели			
Магнезий mmol/l	N	Медиана (IQR)		z	p
		преди химиотерапевтичен цикъл	12 часа след химиотерапевтичен цикъл		
Първи цикъл	25	0.87 (0.815 - 0.92)	0.87 (0.77 - 1.44)	-1.543	0.123
Втори цикъл	24	0.82 (0.75 - 0.907)	1.17 (0.79 - 1.38)	-2.695	<b>0.007</b>
Трети цикъл	16	0.865 (0.822 - 0.902)	1.27 (0.815 - 1.57)	-2.529	<b>0.011</b>
4-10 цикъл	45	0.83 (0.76 - 0.9)	0.885 (0.79 - 1.387)	-2.761	<b>0.006</b>

Установи се, че по отношение нивата на серумния фосфор е налице статистически значима разлика при трети и при „4-10“ цикли. По отношение на магнезия – това се наблюдава за втори, трети и „4-10“ цикли. Като заключение, с натрупване на ефекта на нефротоксичността се стига и до клинично изявена хипофосфатемия и хипомагнезиемия.

Цитираната в литературата честота на хипофосфатемия варира от 0-36,8 % , и от 0-62% нарушения в тубулната фосфатна реабсорбция<sup>139</sup>. Нашите данни се доближават до цитираните в литературата. По правило при изява на тубулна токсичност медикаментът трябва да се спре или ако е ултимативно да продължи (няма друга алтернатива), дозата му трябва да се намали спрямо степента на острата бъбречна увреда. В повечето случаи



тубулопатията е обратима и преходна за няколко месеца, но при част от децата тя остава хронична, като цитираната в литературата честота достига до 20-25% за тубулна увреда<sup>141</sup>. Това налага създаването на алгоритъм за проследяване на деца, провеждали химиотерапия, включително за късни странични ефекти по отношение бъбречната функция.

#### **Изводи от дискусията към задача 4**

- Маркерите за тубулна увреда- FeФ % и Tmp/GFR (бъбречен праг за фосфати) са с висока чувствителност като маркер за ранно диагностициране на медикаментозна нефротоксичност
- Основен патогенетичен механизъм за ОБУ, резултат от медикаментозна нефротоксичност, е възникването на тубулопатия

#### **5.1 Резултати по задача 5**

**Да се направи анализ на честотата на ХБЗ сред децата, провеждали преди повече от една година химиотерапия, както и ролята на NGAL като маркер за хронично бъбречно заболяване**

В отделението по онкохематология на Клиниката по Педиатрия на УМБАЛ „Св. Георги“ се изследвани 28 деца, които са приключили своето лечение преди повече от една година. Целта на тази задача е да се анализира честотата на ХБЗ сред децата, лекувани с нефротоксични химиотерапевтици както и да се установи дали NGAL може да бъде използван като маркер за предикция за изява на хронично бъбречно заболяване (ХБЗ). Децата, които са включени са лекувани с поне един нефротоксичен медикамент – Ifosfamide, Cisplatine, Methotrxate, Carboplatine.

Анализирани са следните променливи – години, пол, лабораторни показатели- нива на серумен креатинин, електролити, изчислен GFR, урина - данни за нива на NGAL, микроалбуминурия , ехография на отделителната система. За намалена скорост на гломерулната филтрация е приета стойност под 90мл/мин/1,73м<sup>2</sup>, за хиперфилтрация стойност над 160мл/мин/1,73м<sup>2</sup>. За микроалбуминурия – стойност на съотношение албумин/креатинин – над 3,0: за протеинурия – протеин /креатинин над 0,02г/ммол. Стадиите на ХБЗ са определени по критериите на KDIGO.

От 28 деца, 16 (57,14%) са момичета, а 12 (42,85%) са момчета. Най – малкият пациент е на 2,9 години, а най- големият на 19 години, средна възраст на включените пациенти е 11,19 години. Разпределението по диагнози е показано на таблица 26.

Таблица 26 . Разпределение по диагнози на децата приключили лечение преди повече от 1 година.

Диагноза	Брой пациенти
Лимфом	6
Ewing сарком	3
Остра левкемия	1
Невробластом	7
Герминативно – клетъчен тумор	5
Остеосарком	1
Рабдомиосарком	1
Хепатобластом	1
Медулобластом	1
Нефробластом	1
Папиларен глионеврален тумор	1

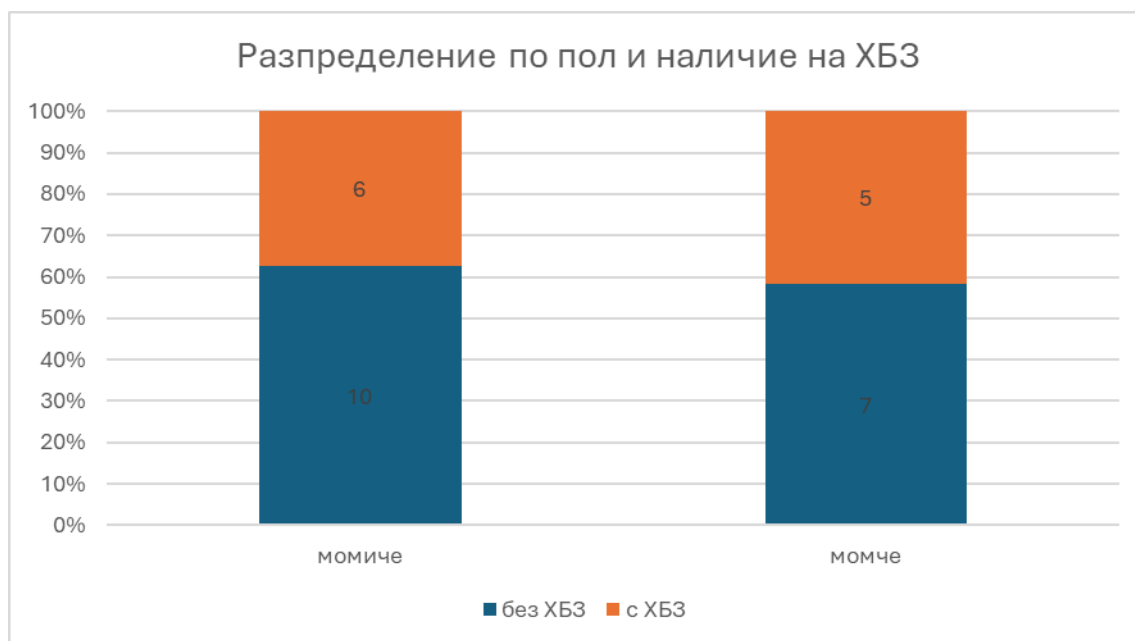
На таблица 27 са показани основните показатели на пациентите, провели лечение преди повече от една година.

Таблица 27. Основни параклинични показатели на децата, приключили лечение преди повече от една година

номер	eGFR мл/мин	Микроалбум инурия Алб/креатини н > 3	протеину рия	NGAL ng/ml	АХ	Електролит ни нарушения	УЗ образ
1	165.37	6,4	не	19,1	не	не	Хиперехогенни
2	76.13	0,13	да	308	не	не	Малки, хиперехогенни конкременти
3	137.89		Да	12.5	не	не	норма
4	184.19	0.5		0.4	не	не	норма
5	122.61	19.3		177.7	не	не	По-малки, изтънен паренхим
6	115.44	0.2		1.3	не	не	хиперехогенни
7	154.68	0.5		1.9	не	Да, нисък Mg	нефректомиран
8	111.80	0.6		63.6	не	не	хиперехогенни
9	100.41	0.6		9.5	не	не	хиперехогенни
10	154.58	0.7		2	не	не	норма
11	139.39	7.2		0.5	не	не	хиперехогенни
12	124.95	0.5		2.5	не	не	норма
13	120.7	3		16.8	не	не	хиперехогенни
14	122.90	0.3		35	не	не	норма
15	113.71	0.7		21.5	не	не	норма
16	114.43	11.7		46	не	не	норма
17	104.73	0.5		4.8	не	не	норма
18	135.4	27.7		11	не	не	По-малки, изтънен паренхим

19	180.19	3.5		1.3	не	не	норма
20	109.52	1.2		5	не	не	норма
21	144.11	15.3		2.5	не	не	норма
22	137.72	6.1		1.2	не	не	норма
23	165.10	2.8		48.8	не	Да, нисък Mg	норма
24	140.7	0.4		0.2	не	не	норма
25	161.7	0.9		35	не	не	норма
26	114.33	0.1		0	не	не	нефректомирана
27	134.96	33.1		59	не	не	норма
28	122.5	2.3		3.6	не	не	норма

От всички 28 деца, само едно е с намалена скорост на гломерулната филтрация  $73\text{мл/мин}/1,32\text{м}^2$ , което е 3,57%. Хиперфилтрация се наблюдава при 4 деца – 14,28%. Микроалбуминурия се установява при 10 деца - 35,71%, протеинурия при 2 деца - 7,14%. По отношение на електролитите – само две деца (7,14%) са с хипомагниеземия, и нито едно с хипофосфатемия. Артериална хипертония не се установи при нито едно от децата. Спрямо критериите на KDIGO с наличие на стадий ХБЗ са 11 деца, което е 39,28% от всички, като 6 са момичета и 5 са момчета (Фигура 58,59).

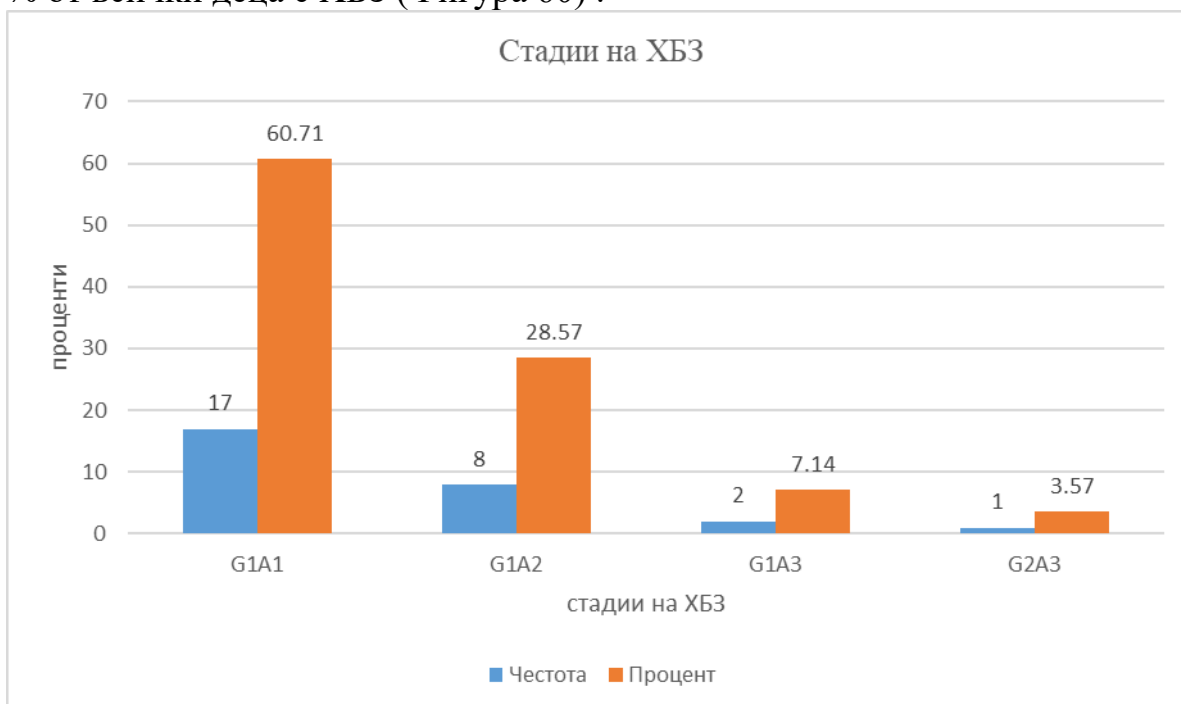


Фигура 58. Разпределение на децата по пол и наличие на ХБЗ



Фигура 59. Разпределение на децата по показатели

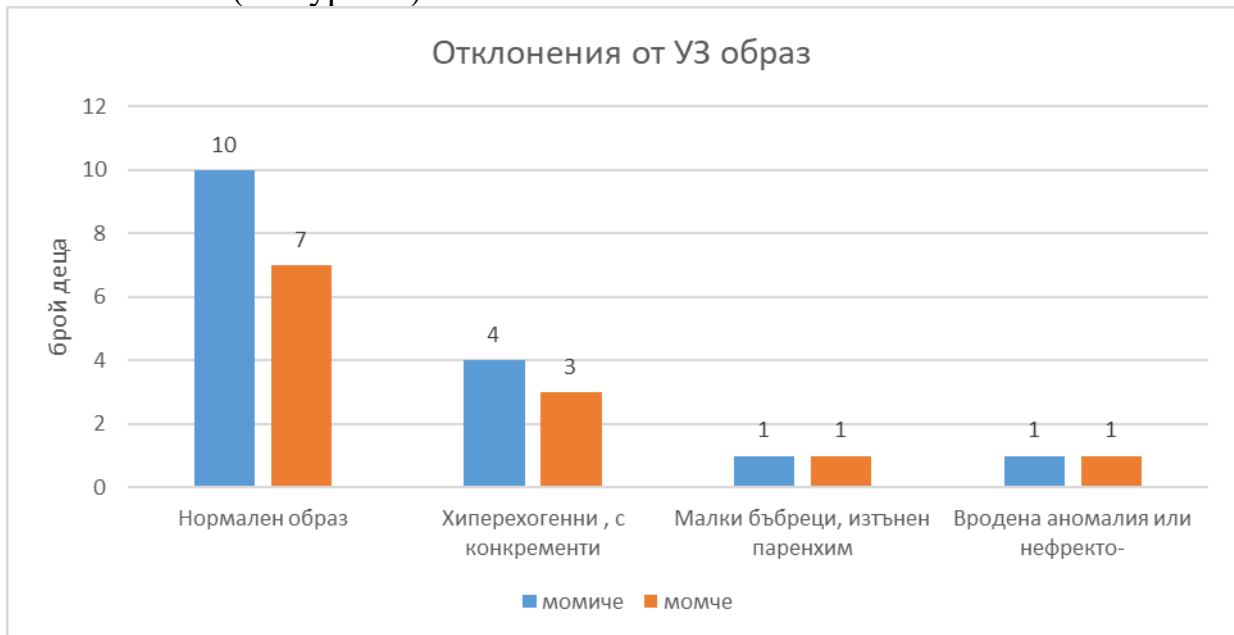
С най- висок процент са децата стадий G1A1- 17 от всички деца, което е 60,7 % от всички деца с ХБЗ (Фигура 60) .



Фигура 60 . Разпределение по стадий на ХБЗ

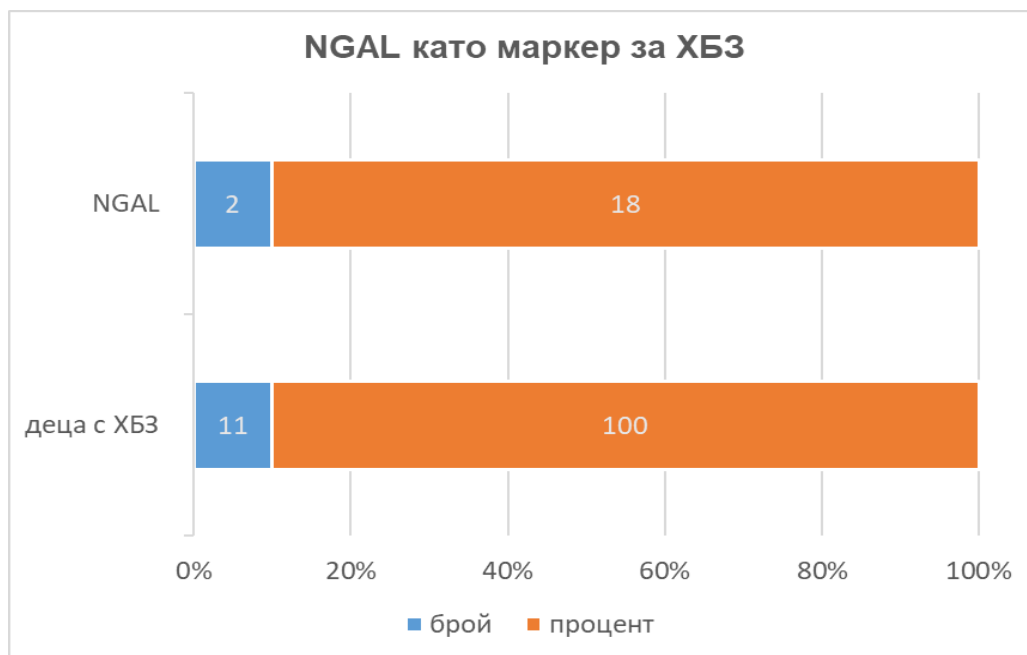
При провеждане на ултразвуково изследване на отделителната система при 11 деца (39,28%) са установени отклонения, като преобладават хиперехогенните бъбреци, с данни за конкременти, резултат от

хиперкалциурията, която са имали в хода на тубулната увреда по време на лечението им (Фигура 61).



Фигура 61. Отклонения при ултразвуковото изследване на деца приключили своето лечение преди повече от една година

По отношение стойностите на NGAL в урина, само при 2 от 11 деца с данни за ХБЗ (18%) се наблюдава повишена стойност над 150 ng/ml, едното дете е с клинично изявена ХБЗ – eGFR -73мл/мин/17,3м<sup>2</sup>, а другото е дете с Остеосарком, което по време на лечението си с Ifosfamide е имало епизоди на ОБУ, но към момента е с нормален GFR, единствено с данни за микроалбуминурия (Фигура 62).



Фигура 62. NGAL като маркер за ХБЗ

## 5.2 Дискусия по задача 5

В проведеното от нас проучване при деца, провеждали химиотерапия преди повече от една година с нефротоксични химиотерапевтици, се установи 37,9% честота на ХБЗ. Съобщаваната в литературата честота варира от 1,7 до 32% в зависимост от това дали честотата е изчислена само на база намалена скорост на гломерулната филтрация или е включена и наличната тубулопатия<sup>139,224</sup>. В нашето проучване като критерий за ХБЗ е използвана класификацията на KDIGO, в която са включени както клинично изявиени ХБЗ с намалена eGFR така и субклинични такива – с наличие само на микроалбуминурия или протеинурия.

На таблица 28 са представени проучвания по отношение честотата на хронична нефротоксичност при деца, провеждали химиотерапия<sup>163,240-247</sup>.

Таблица 28. Проучвания по отношение честота на ХБЗ сред деца, провеждали химиотерапия

Проучване	Брой деца	% ХБЗ	Електролитни нарушения
Roderick Skinner at all <sup>163</sup>	63 деца	11%	7%
Jessica Schofield at all <sup>240</sup>	Мета анализ	29%	37%
Asmaa Abdel Sameea Mahmoud at all <sup>242</sup>	52	23,1%	36,5%
Kelly R. McMahon at all <sup>241</sup>	23	32%	48%
Daniel M Green <sup>242</sup>	2753 възрастни, лекувани като деца	2,1% 3-5 ст ХБЗ	
Bryan V. Dieffenbach at all. <sup>243</sup>	25530 възрастни, лекувани като деца	1,7% ХБЗ	
Loebstein R <sup>244</sup>	174 деца – 5 години след ifosfamide		34% хронична тубулна увреда
Odile Oberlin at all <sup>245</sup>	183 след>5г. след ifosfamide терапия	21,5% намалена GFR	1,2% хипо Mg 37% глюкозурия 12% протеинурия
Stohr W at all <sup>246</sup>	651	Нормална GFR	12,1% хипоMg
Marika H. Gronroos at all <sup>247</sup>	28 Високодозиран Methotrexate	11% iGFR<90мл/мин 36% данни за АХ	29% протеинурия 14%-тубулна протеинурия

Установената от нас честота се доближава до тази, цитирана в литературата. Проследяваните показатели при цитираните проучвания са били eGFR, протеинурия, хифофосфатемия, хипомагнезиемия, артериална хипертония. Често се дискутират и рисковите фактори по отношение изявата на ХБЗ: възраст на провеждане на терапията (под 3 години), кумулативна доза на

медикамента (Ifosfamide над  $80\text{g/m}^2$ ), съпътстваща терапия с друг нефротоксичен медикамент (комбинация Ifosfamide с Cisplatin, нефротоксични антибиотици), предхождаща нефректомия или бъбречно заболяване. По отношение на тубулната увреда съобщаваната честота варира в широки граници - от 1,2 до 37%. Установената от нас честота на електролитни нарушения е 7% и то за сметка на хипомагнезиемията. По отношение на протеинурията, резултатите съвпадат с тези от литературата. Предиктивната стойност на новите биомаркери – като NGAL, за настъпване на ХБЗ при деца, лекувани с нефротоксични медикаменти, е също широко дискутирана в литературата и данните са доста противоречиви. В проучване на Eryk Latoch и колектив<sup>213</sup> при изследване на 60 деца, приключили своето лечение преди минимум 6 месеца, се установява 23% намалена eGFR, като при всички тях се установяват високи стойности на NGAL спрямо здрави контроли ( $p < 0,0001$ ) и се наблюдава положителна корелационна връзка между нивата на маркера и кумулативната доза на Ifosfamide и Cisplatin. В друго проучване на Katarzyna Musiol и колектив сред 38 деца, приключили своето лечение за тумори на централната нервна система, не се установява статистически значима връзка между нивата на NGAL и наличието на хронично бъбречно заболяване<sup>219</sup>. В нашето проучване само при две деца от 11 с данни за ХБЗ се установяват завишени стойности на NGAL, което го определя като маркер с ниска чувствителност за диагностициране на ХБЗ при деца, провеждали химиотерапия с нефротоксични медикаменти. Получените резултати дават основание децата провеждали терапия с нефротоксични медикаменти да бъдат проследявани във времето за изява на ХБЗ.

### **Изводи от дискусията към задача 5**

- Настъпилата тубулопатия е обратима в голям процент от случаите, но при немалка част от децата тя остава хронична.
- Необходимо е проследяване в насока тубулопатия както по време на терапия, така и след приключването ѝ.
- NGAL не е показателен като маркер за диагностициране на ХБЗ.

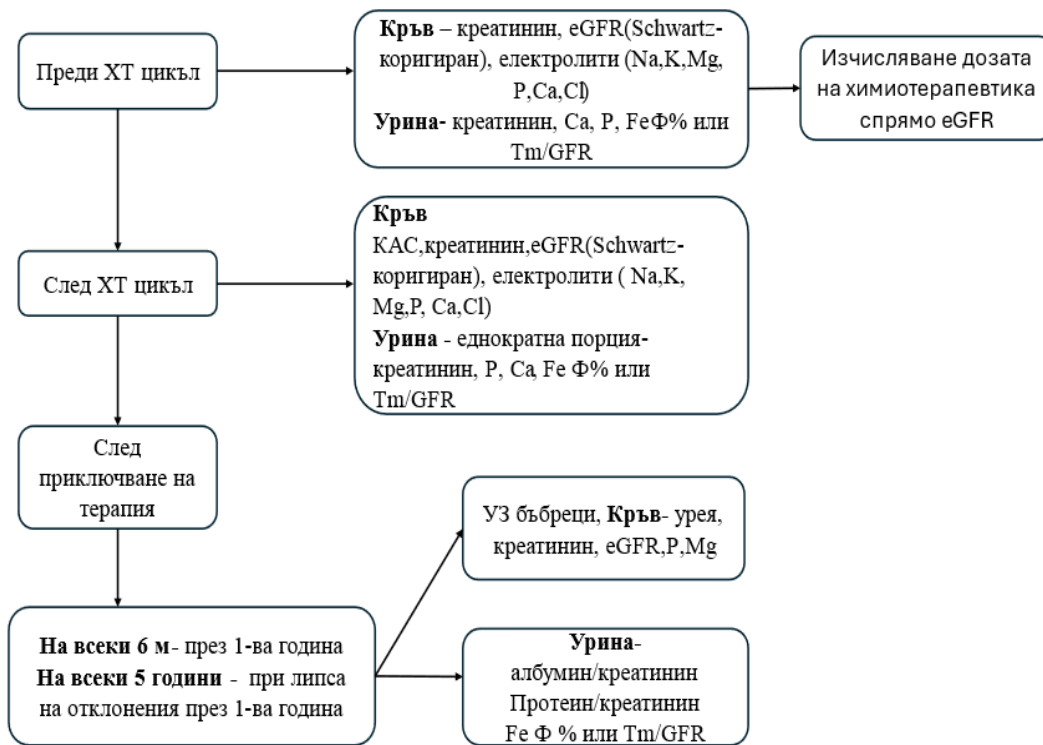
### **6.1 Резултати по задача 6**

Целта на задача 6 е да се създаде алгоритъм за проследяване бъбречната функция на онкоболни деца, лекувани с нефротоксични химиотерапевтици. В създаването на алгоритъма са взети предвид всички описани резултати в настоящия дисертационен труд и данните от литературния обзор.

#### **6.1 Дискусия по задача 6**

Въз основа на проведеното проучване и данните от медицинската литература предлагаме следния алгоритъм за проследяване на деца,

провеждащи и провеждали терапия с нефротоксични химиотерапевтици( Фигура 63).



Фигура 63. Алгоритъм за проследяване бъбречната функция при деца, лекувани с нефротоксични химиотерапевтици.



## V. Изводи

1. Честотата на Острата бъбречна увреда сред деца, лекувани за онкологични заболявания е висока – 44,1%.
2. Водеща причина за ОБУ сред тези деца е химиотерапия индуцираната медикаментозна нефротоксичност.
3. Основен патогенетичен механизъм за химиотерапия индуцираната ОБУ е възникването на тубулопатия.
4. Класическите маркери за ОБУ – серумен креатинин и eGFR са с ниска чувствителност в детската онкологията като маркери за ОБУ
5. При голям процент от децата се наблюдава хиперфилтрация свързана с хиперметаболичното състояние по време на химиотерапевтичен цикъл.
6. NGAL не е показателен за диагностициране на ОБУ, резултат от нефротоксични химиотерапевтици.
7. Маркерите за тубулна увреда- FeФ % и Tmp/GFR са с висока чувствителност за диагностициране на медикаментозна нефротоксичност, резултат от нефротоксични химиотерапевтици.
8. Настъпилата тубулопатия е обратима в над 50% от случаите, но при около една трета от децата тя остава хронична.
9. Необходимо е проследяване в насока тубулопатия както по време на терапия , така и след приключването ѝ.
10. При оценка на бъбречната функция в детската онкология се препоръчва употребата на формули за GFR, базирани на телесното тегло.

## **VI. Приноси**

### **Приноси с оригинален характер по отношение детското население в България**

1. За първи път в България е извършено проучване за честотата на ОБУ сред деца, лекувани за онкологични заболявания и е проучена медикаментозната нефротоксичност на химиотерапевтиците.
2. За първи път в България е осъществено дългосрочно проследяване за хронична бъбречна увреда на деца, провеждали химиотерапия.

### **Приноси с общ и оригинален характер**

1. Изработен е алгоритъм за проследяване бъбречната функция на деца, провеждащи химиотерапия с нефротоксични медикаменти с включени маркери за тубулна увреда и възможност за индивидуално изчисление на правилната доза.

### **Приноси с общ и потвърдителен характер**

1. Установена е хиперфилтрация при онкоболни деца, лекувани с нефротоксични цитостатици.
2. Потвърждава се високата чувствителност на маркерите за тубулна увреда, като маркери за медикаментозна нефротоксичност в онкологията.

## **VII. Списък с публикациите, научните съобщения и проектите по темата на дисертационния труд**

### **1. Публикации в пълен текст**

Маркова П., Спасова М., Митева-Шумналиева П., „Нефротоксичност в педиатричната онкология, роля на новите биомаркери за диагностицирането ѝ“, списание Педиатрия, бр 2, ст 27-31, 2023г.

Маркова П., Спасова М., Спасов Н., Янева А., Митева- Шумналиева П., „Остра бъбречна увреда при деца с онкологични заболявания - едноцентрово ретроспективно проучване“, списание Педиатрия, брой 3, ст 16-19, 2024г.

Маркова П., Митева П.; „Остро бъбречно увреждане в неонаталния период – диагностичен и терапевтичен подход“ ; Списание Педиатрия бр. 3 (14-18) 2019г.

### **2. Съобщения на национални форуми**

Маркова П., Спасова М., Роля на новите уринни биомаркери за диагностика на ОБУ при онкоболни деца – 10.2021г Несебър, Конференция по Спешна педиатрия

Маркова П., Спасова М., Митева-Шумналиева П., Нефротоксичност в педиатричната онкология - роля на новите биомаркери за диагностицирането ѝ, Конгрес по Нефрология- 21-23.10.22г., Банско

Маркова П., Спасова М., Митева- Шумналиева П. , Остра бъбречна увреда в детската онкохематология, Национален конгрес по Педиатрия – 19-22.09.24г., Боровец.

### **3. Съобщения на международни форуми**

Petya Markova, Mariya Spassova, Antonya Yaneva, Polina Miteva- Shumnalieva, Tanya Deneva, Zeyra Halil, Neophit Spassov, Role of urinary NGAL as a marker of nephrotoxicity in children undergoing chemotherapy, 56 Annual Meeting of European Society for pediatric nephrology, Valencia 24-27 sep 2024

### **4. Участие в научни проекти**

Научен проект номер НО-07/2021 – тема „Изследване на NGAL в урина като маркер за бъбречна увреда при онкоболни деца, провеждащи химиотерапия“

