lek. Agnieszka Zakrzewska

Wpływ farmakologicznej blokady układu renina-angiotensyna aldosteron na rokowanie sercowo-naczyniowe i funkcję graftu u chorych po transplantacji nerki.

Praca na stopień doktora nauk medycznych

Klinika Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

Promotor: Prof. dr hab. n. med. Leszek Tylicki

Gdańsk 2019

Składam serdeczne podziękowania Panu Profesorowi Leszkowi Tylickiemu za opiekę merytoryczną, wyrozumiałość i twórczą dyskusję podczas powstawania i redagowania niniejszej rozprawy doktorskiej.

Rozprawę doktorską dedykuję moim Rodzicom

Spis treści

Wykaz publikacji będących przedmiotem rozprawy doktorskiej str.4

Lista skrótów str.5

Streszczenie w języku polskim

I. Wprowadzenie str. 6

II. Cele rozprawy str. 9

III. Metodyka str.10

IV. Główne wyniki rozprawy doktorskiej str.13

V. Omówienie prac składających się na rozprawę doktorską str.16

VI. Wnioski str.19

Streszczenie w języku angielskim

VII. Introduction str.20

VIII. The objectives str.23

IX. Methods str.24

X. Main results str.27

XI. Discussion of the works making up the doctoral dissertation str.30

XII. Conclusions str.32

Piśmiennictwo str.33

Wykaz publikacji będących przedmiotem rozprawy doktorskiej

1. **Zakrzewska A,** Tylicki L, Dębska-Ślizień A: Farmakoterapia nadciśnienia tętniczego u pacjentów po przeszczepieniu nerki, Nefrol Dial Pol 2019, 23, 35-41

2. **Zakrzewska A,** Tylicki L, Dębska-Ślizień A: Cardiovascular and renal outcomes of renin-angiotensin system blockade in renal transplant recipients. Transplant Proc 2018;50:1834-1837.
   https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0041134518303051

3. **Zakrzewska A,** Tylicki L, Dębska-Ślizień A: Influence of renin-angiotensin system blockers on graft function in retrospective analysis of pairs of renal transplant recipients from the same donor. Transplant Proc 2018;50:1838-1841.
   https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0041134518303002

Lista skrótów

ACE I	ang. angiotensin converting enzyme inhibitors - inhibitory angiotensyny II
AR	ang. acute rejection -ostre odrzucanie
ARB	ang. angiotensin II type 1 receptor blockers - blokery receptora angiotensynowego AT1
CAN	ang. chronic allograft nephropathy - przewlekła nefropatia nerki przeszczepionej
CKD	ang. chronic kidney disease - przewlekła choroba nerek
CNI	ang. calcineurin inhibitors - inhibitory kalcyneuryny
CV	ang. cardiovascular - sercowo-naczyniowy
DGF	ang. delayed graft function - opóźniona funkcja graftu
eGFR	ang. estimated glomerular filtration rate - wyliczona filtracja kłębuszkowa
ESRD	ang. end-stage renal disease - schyłkowa niewydolność nerek
KTRs	ang. kidney transplant recipients – biorcy przeszczepu nerki
PTDM	ang. post-transplant diabetes mellitus - cukrzyca potransplantacyjna
RAA	układ renina-angiotensyna-aldosteron

Streszczenie w języku polskim

I. Wprowadzenie

Spowolnienie tempa procesu postępującego uszkodzenia nerki przeszczepionej jest jednym z podstawowych celów leczenia w okresie potransplantacyjnym. Skuteczność i bezpieczeństwo blokady układu renina-angiotensyna-aldosteron (RAA) w hamowaniu postępu nefropatii oraz zmniejszeniu niekorzystnych zmian w układzie sercowo-naczyniowym (CV, cardiovascular) jest licznie udokumentowana wśród populacji chorych z przewlekłą chorobą nerek [1-5] (CKD, chronic kidney disease), natomiast brakuje badań na temat nefro- i kardioprotekcyjnego wpływu blokady RAA u chorych po transplantacji nerki (KTRs, kidney transplant recipients).

W ostatnich latach długość życia biorców nerki i czas funkcjonowania nerki przeszczepionej znacznie się wydłużyły. Mimo to choroby CV stanowią poważny problem kliniczny i przeszło połowa zgonów wśród KTRs spowodowana jest powikłaniami kardiologicznymi [6,7]. Poprawa krótkoterminowych wyników przeżywalności nerki przeszczepionej wynika z wprowadzenia do terapii immunosupresyjnej inhibitorów kalcyneuryny (CNI, calcineurin inhibitors), natomiast długoterminowe efekty przeszczepiania nerek są wciąż niezadowalające. Do głównych przyczyn utraty przeszczepu zalicza się zgon z funkcjonującym graftem (głównie z przyczyn CV) oraz przewlekłą nefropatię nerki przeszczepionej (CAN, chronic allograft nephropathy) [8]. Wraz z utratą funkcji nerki przeszczepionej rośnie ryzyko zgonu z przyczyn CV, które koreluje ze stężeniem kreatyniny [9]. Wczesna identyfikacja pacjentów z czynnikami ryzyka CV i wdrożenie optymalnego postępowania nefroprotekcyjnego mającego na celu spowolnienie progresji CAN znacznie wydłuża okres funkcjonowania nerki przeszczepionej i jednocześnie zmniejsza ryzyko śmierci wskutek powikłań CV.

Czynnikami ryzyka wystąpienia choroby niedokrwiennej serca po przeszczepie nerki są: cukrzyca istniejąca przed transplantacją, cukrzyca potransplantacyjna (PTDM, post-transplant diabetes mellitus), przebyte incydenty CV, wiek powyżej 60 rż., płeć męska, dłuższy czas trwania

schyłkowej niewydolności nerek (ESRD, end-stage renal disease) [10]. Istotniejsze są jednak czynniki związane z transplantacją: zabieg operacyjny, opóźniona funkcja graftu (DGF, delayed graft function), epizody ostrego odrzucania (AR, acute rejection), toksyczność immunosupresji. Tradycyjne czynniki ryzyka, takie jak otyłość, dyslipidemia, palenie tytoniu odgrywają mniejszą wartość predykcyjną, niemniej jednak są również ważne [11].

Układ RAA bierze udział w fizjologicznej regulacji ciśnienia tętniczego, utrzymaniu równowagi wodno-elektrolitowej oraz w procesach związanych ze wzrostem i proliferacją komórek [12]. Jego nadmierna aktywacja prowadzi do niekorzystnych następstw hemodynamicznych zarówno w nerkach jak i w układzie CV. Obkurczenie przez angiotensynę II, będącą głównym efektorem tego układu, tętnic obwodowych prowadzi do wzrostu ciśnienia systemowego a w efekcie do przeciążenia ciśnieniowego serca, jego przerostu i dysfunkcji skurczowej lewej komory. Obkurczenie tętniczek odprowadzających kłębuszka prowadzi do wzrostu ciśnienia wewnątrzkłębuszkowego i hiperfiltracji, co z kolei nasila białkomocz. Istotny jest ponadto udział angiotensyny II jak i aldosteronu w nasileniu stresu oksydacyjnego oraz lokalnego stanu zapalnego, a w konsekwencji indukcji fibrynogenezy, która doprowadza do nieodwracalnego zwłóknienia kłębuszków i śródmiąższu nerek [13, 14], co znacznie przyspiesza progresję CAN.

Farmakologiczna blokada układu RAA (za pomocą inhibitorów konwertazy angiotensyny II [ACE I, angiotensin converting enzyme inhibitors] lub blokerów receptora angiotensynowego AT1 [ARB, angiotensin II type 1 receptor blockers]) jest obecnie złotym standardem leczenia nefro- i kardioprotekcyjnego wśród chorych z CKD i/lub z wysokim ryzykiem CV. Zastosowanie blokady RAA po przeszczepieniu nerki wydaje się więc logicznym wyborem w dążeniu do spowolnienia postępu CAN i zmniejszenia śmiertelności z przyczyn CV w tej grupie chorych. Przeprowadzone dotychczas badania u KTRs analizujące korzyści ze stosowania blokady układu RAA nie dostarczyły jednoznacznych wniosków. Randomizowane podwójnie ślepe badanie SECRET z 2009 roku z zastosowaniem ARB, kandesartanu vs placebo wykazało co prawda lepszą kontrolę ciśnienia tętniczego i obniżenie białkomoczu o 28,6% w grupie badanej, odnotowano jednak wzrost stężenia

kreatyniny i potasu w surowicy w grupie badanej w porównaniu do placebo. Przeżycie przeszczepu po 23 miesiącach było porównywalne w obu grupach [15]. Badanie przeprowadzone przez Ibrahima w 2013 roku nie potwierdziło nefro- i kardioprotekcyjnego działania ARB, losartanu w grupie KTRs [16]. Podobne wnioski dostarczyło przeprowadzone w latach 2006-2012 wieloośrodkowe, prospektywne randomizowane badanie kliniczne z użyciem ACE I, ramiprilu u KTRs z obecnością białkomoczu [17]. Badania obserwacyjne również nie dostarczyły jednoznacznych wniosków odnośnie wpływu blokady układu RAA na przeżycie KTRs i przeszczepionych nerek [18]. Grupa badaczy austriackich wykazała lepsze przeżycie zarówno pacjentów, jak i przeszczepionych nerek po zastosowaniu ACE I [19]. Z kolei Opeltz i wsp. dowiedli, że zastosowanie ACE I lub ARB w pierwszym roku po transplantacji nerki nie wiązało się z obniżeniem wskaźnika śmiertelności z przyczyn CV w porównaniu do innych grup leków hipotensyjnych [21].

Niniejsza rozprawa stanowi podstawę 3 publikacji analizujących wpływ farmakologicznej blokady układu RAA na rokowanie sercowo-naczyniowe, przeżycie i funkcję graftu oraz profil bezpieczeństwa takiej terapii w populacji KTRs w Gdańskim Ośrodku Transplantologicznym.

II. Cele rozprawy

1. Ocena wpływu stosowania blokady układu RAA (ACE I lub ARB) u KTRs na:

   -rokowanie sercowo-naczyniowe i/lub przeżywalność nerki przeszczepionej

   -funkcję wydalniczą nerki przeszczepionej

2. Ocena bezpieczeństwa stosowania blokady układu RAA u KTRs, w szczególności ocena wczesnego wpływu terapii ACE I lub ARB na poziom hemoglobiny, kreatyniny i potasu w surowicy oraz wielkość wyliczonego przesączania kłębuszkowego (eGFR, estimated GFR).

3. Charakterystyka stosowania farmakologicznej blokady układu RAA u KTRs, a w szczególności:

   -przyczyny włączenia i odstawienia blokady układu RAA

   -momentu włączenia blokady układu RAA i rodzaju stosowanych leków

   -wielkości stosowanych dawek ACE I i ARB

Cele rozprawy doktorskiej zrealizowane zostały w cyklu trzech artykułów opublikowanych w latach 2018-2019 (wykaz publikacji na stronie 4) na łamach polskich i zagranicznych czasopism naukowych. Składają się na nią dwie spójne tematycznie prace oryginalne (publikacje nr 2 i 3) oraz jeden artykuł poglądowy (publikacja nr 1).

III. Metodyka

1. Materiał kliniczny stanowili pacjenci po przeszczepieniu nerki od dawcy zmarłego w latach 2000-2012 w gdańskim ośrodku transplantologicznym, którzy zostali objęci opieką ambulatoryjną w przyklinicznej poradni nefrologicznej. Dokonano retrospektywnej analizy danych zgromadzonych w historii chorób z wizyt ambulatoryjnych oraz w bazie danych wyników laboratoryjnych systemu komputerowego CliniNet.

2. Kryteria włączenia do badania:

   a) oboje biorcy nerki od tego samego dawcy, w sytuacji, gdy jeden biorca stosował blokadę RAA (RAA+), a drugi jej nie stosował (RAA-)

   b) stosowanie blokady RAA przez jednego pacjenta z pary biorców tj. przyjmowanie ACE I lub ARB przez minimalny okres 36 miesięcy (akceptowalna była zmiana leku tj. ACE I na ARB lub ARB na ACE I, lub czasowe odstawienie leku na okres nie dłuższy niż 4 tygodnie).

3. Na potrzeby badania, do przeprowadzania analiz, przyjęto umowne punkty czasowe obserwacji:

- $T_{(0)}$- punkt włączenia blokady RAA do terapii
- $T_{(k)}$- punkt końcowy obserwacji (po minimum 36 miesiącach, maksimum 118 miesiącach)
- $T_{(5)}$- 60 miesięcy obserwacji po transplantacji
- $T_{(w)}$- wyniki badań laboratoryjnych uzyskane na pierwszej wizycie lekarskiej po włączeniu blokady RAA do terapii
- $T_{(-1)}$- średnie z wyników badań laboratoryjnych uzyskane z 3 ostatnich wizyt lekarskich poprzedzających włączenie blokady RAA do terapii
- $T_{(+1)}$- średnie z wyników badań laboratoryjnych uzyskane z 3 pierwszych wizyt lekarskich

następujących po włączeniu blokady RAA do terapii

4. W celu oceny wpływu terapii blokady RAA na rokowanie CV i/lub przeżywalność nerki przeszczepionej ustalono 3 umowne punkty końcowe obserwacji:

-**kardiologiczny**- oznaczał przebycie przez chorego ostrego zespołu wieńcowego lub udaru niedokrwiennego mózgu lub zaostrzenie niewydolności krążenia (minimum o 1 klasę NYHA wyżej), zdiagnozowanie de novo choroby wieńcowej lub zgon z przyczyn sercowo-naczyniowych.

-**nefrologiczny**- oznaczał stwierdzenie u chorego eGFR poniżej 15ml/min/1,73m^2 lub podwojenie wartości stężenia kreatyniny w surowicy w porównaniu do poziomu z $T_{(0)}$ lub rozpoczęcie przez chorego dializoterapii.

-**złożony punkt kardiologiczno-nefrologiczny**- oznaczał osiągnięcie przez chorego punktu kardiologicznego i/lub nefrologicznego.

Analizy częstości występowania w/w punktów końcowych dokonywano w okresie $T_{(0)} – T_{(k)}$.

5. W celu oceny funkcji wydalniczej nerki przeszczepionej oceniano stężenie kreatyniny w surowicy i wielkość eGFR analizując różnicę wyników dla tych parametrów pomiędzy punktami czasowymi $T_{(0)}$ i $T_{(5)}$ oraz $T_{(0)}$ i $T_{(k)}$.

6. W celu oceny bezpieczeństwa stosowania blokady układu RAA u KTRs oceniano poziom hemoglobiny, kreatyniny i potasu w surowicy analizując różnicę wyników pomiędzy punktami czasowymi $T_{(0)}$ i $T_{(w)}$ dla kreatyniny i potasu oraz różnicę $T_{(-1)}$ i $T_{(+1)}$ dla hemoglobiny.

7. Analizę statystyczną uzyskanych wyników przeprowadzono z wykorzystaniem oprogramowania komputerowego Statistica 8.0 firmy StatSoft. Oznaczono podstawowe parametry statystyki opisowej: średnią arytmetyczną i odchylenie standardowe, medianę, minimum, maksimum. Istotność statystyczną różnic zmiennych ilościowych niezależnych oceniano za pomocą testu t-studenta oraz testu Manna-Whitney'a w zależności od rozkładu. Normalność rozkładu badana była testem Shapiro-Wilka. Porównując zmienne jakościowe zastosowano test chi-kwadrat. Do oceny znamienności różnic zmiennych ilościowych zależnych stosowano test t-studenta oraz test kolejności par Wilcoxona w zależności od rozkładu, a dla zmiennych jakościowych test chi-kwadrat. We wszystkich obliczeniach jako poziom istotności statystycznej przyjęto $p<0,05$.

IV. Główne wyniki rozprawy doktorskiej

1. Charakterystyka par biorców nerki od tego samego dawcy oraz charakterystyka okresu transplantacji.

- W okresie $T_{(0)} – T_{(k)}$

Do badania zakwalifikowano 106 chorych (53 pary KTRs) spełniających łącznie kryteria włączenia do badania a i b. Czas obserwacji różnił się pomiędzy poszczególnymi parami pacjentów i wynosił minimum 36 miesięcy, a maksimum 118 miesięcy. Obie grupy par pacjentów nie różniły się między sobą znamiennie wiekiem, płcią, BMI, poziomem kreatyniny, hemoglobiny, potasu w surowicy oraz wielkością eGFR w momencie włączenia blokady RAA (punkt czasowy $T_{(0)}$), przyczyną ESRD, rodzajem i czasem dializoterapii, rodzajem i czasem stosowanej immunosupresji, czasem całkowitego niedokrwienia nerki, liczbą niezgodnych antygenów HLA, liczbą epizodów ostrego odrzucania.

- W okresie $T_{(0)} – T_{(5)}$

Do odrębnej analizy zakwalifikowano podgrupę 66 pacjentów (33 pary KTRs) spełniających łącznie kryteria do badania a i b, których czas obserwacji dla wszystkich chorych był jednolity i wynosił 60 miesięcy. Ocenę wyników dokonywano w punkcie czasowym $T_{(5)}$. Obie grupy par pacjentów nie różniły się między sobą znamiennie wiekiem, płcią, BMI, poziomem kreatyniny, hemoglobiny, potasu w surowicy oraz wielkością eGFR w momencie włączenia blokady RAA, przyczyną ESRD, rodzajem i czasem dializoterapii, rodzajem i czasem stosowanej immunosupresji, czasem całkowitego niedokrwienia nerki, liczbą niezgodnych antygenów HLA, liczbą epizodów ostrego odrzucania.

2. **Ocena wpływu blokady układu RAA na rokowanie sercowo-naczyniowe i/lub przeżywalność nerki przeszczepionej.**

W analizie 53 par biorców nerki od tego samego dawcy w okresie $T_{(0)} – T_{(k)}$ (minimum 36 miesięcy, maksimum 118 miesięcy) końcowy punkt kardiologiczny osiągnęło 3 chorych w grupie RAA + i żaden z pacjentów w grupie RAA-. Końcowy punkt nefrologiczny osiągnęło odpowiednio w grupie RAA+ i RAA- 5 i 7 chorych. Końcowy punkt kardiologiczno–nefrologiczny osiągnęło 6 pacjentów z grupy RAA+ i 7 z grupy RAA-. Różnice nie były znamienne statystycznie.
(Wyniki przedstawiono w publikacji nr 2).

3. **Ocena wpływu blokady RAA na funkcję wydalniczą nerki przeszczepionej.**

Na podstawie analizy par biorców nerki od tego samego dawcy objętych różnym czasem obserwacji, minimum 36 miesięcy, maksimum 118 miesięcy (tj. pomiędzy punktami czasowymi $T_{(k)} – T_{(0)}$) nie stwierdzono znamiennie statystycznej różnicy w zmianie wartości poziomu kreatyniny w surowicy (średni wzrost o 0,32 mg/dl w grupie RAA+ vs 0,33 mg/dl w grupie RAA-) oraz zmianie wielkości eGFR (średni spadek o 3,61 ml/min/1.73m^2 w grupie RAA + vs 0,48 ml/min/1.73m^2 w grupie RAA-).

Na podstawie analizy par biorców nerki od tego samego dawcy, ale objętych jednolitym czasem obserwacji 60 miesięcy (tj. pomiędzy punktami czasowymi $T_{(5)} – T_{(0)}$) nie stwierdzono znamiennie statystycznej różnicy w zmianie wartości poziomu kreatyniny w surowicy (średni wzrost o 0,05 mg/dl w grupie RAA+ vs 0,14 mg/dl w grupie RAA-) oraz zmianie wielkości eGFR (średni spadek o 0,37 ml/min/1.73m^2 w grupie RAA + vs średni wzrost o 2,54 ml/min/1.73m^2 w grupie RAA-).
(Wyniki przedstawiono w publikacji nr 2 i 3).

4. **Charakterystyka stosowania farmakologicznej blokady układu RAA.**

W grupie 53 biorców nerki otrzymujących farmakologiczną blokadę układu RAA u 88,68 %

stosowano ACE I, u 11,32 % stosowano ARB. Chorzy przyjmowali ACE I lub ARB w dawkach stanowiących odpowiednio 23,1 % i 27,08 % dawki maksymalnej leku określonej według indywidualnej charakterystyki produktu leczniczego. Głównymi przyczynami stosowania blokady układu RAA w tej populacji było nadciśnienie tętnicze (39,62%), białkomocz (39,62%) i poliglobulia (28,3%). U 7 pacjentów w trakcie obserwacji odstawiono farmakologiczną blokadę układu RAA, z powodu hipotonii (2 chorych), niedokrwistości (2 chorych), wzrostu kreatyniny (1 chory), planowanej ciąży (1 chory) bądź zaprzestania stosowania leku przez chorego (1 chory). (Wyniki przedstawiono w publikacji nr 2 i 3).

5. Ocena bezpieczeństwa stosowania farmakologicznej blokady układu RAA u KTRs.

Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w zmianie wartości poziomu kreatyniny i potasu w surowicy oraz w eGFR pomiędzy pacjentami RAA+ i RAA- w okresie pomiędzy włączeniem blokady układu RAA a pierwszą wizytą po włączeniu. Stwierdzono istotne statystycznie obniżenie (p=0,042) poziomu hemoglobiny w surowicy pomiędzy pacjentami RAA + i RAA- w okresie $T_{(-1)}$ – $T_{(+1)}$ (średni spadek o 0,29 ± 1.32mg/dl w grupie RAA + vs średni wzrost o 0.19 ± 1.08mg/dl w grupie RAA-). (Wyniki przedstawiono w publikacji nr 2).

V. Omówienie prac składających się na rozprawę doktorską.

Publikacja nr 1.

Zakrzewska A, Tylicki L, Dębska-Ślizień A: Farmakoterapia nadciśnienia tętniczego u pacjentów po przeszczepieniu nerki, Nefrol Dial Pol 2019, 23, 35-41

Praca poglądowa stanowi podsumowanie aktualnej wiedzy na temat patogenezy, celów i sposobów leczenia nadciśnienia tętniczego po transplantacji nerki. W artykule w szczegółowy sposób omówiono czynniki odpowiedzialne rozwój nadciśnienia tętniczego po przeszczepie nerki. Przeprowadzono przegląd bieżącego piśmiennictwa dotyczącego metod leczenia nadciśnienia po przeszczepie nerki. Przeanalizowano poszczególne grupy leków hipotensyjnych uwzględniając ich wpływ na funkcję graftu i możliwe korzyści płynące z ich zastosowania, w tym rokowanie sercowo-naczyniowe, ze szczególnym uwzględnieniem roli farmakologicznej blokady układu RAA.

Publikacja nr 2.

Zakrzewska A, Tylicki L, Dębska-Ślizień A: Cardiovascular and renal outcomes of renin-angiotensin system blockade in renal transplant recipients. Transplant Proc 2018;50:1834-1837.

W pracy przedstawiono i przedyskutowano wyniki retrospektywnej analizy przeprowadzonej w grupie 53 par biorców nerki od tego samego dawcy poddanych różnoczasowej obserwacji, która trwała minimum 36 miesięcy. Oceniono wpływ farmakologicznej blokady układu RAA na rokowanie sercowo-naczyniowe i/lub przeżycie graftu ujęte w pracy jako osiągnięcie złożonego punktu końcowego kardiologicznego i/lub nefrologicznego na koniec obserwacji oraz oceniono wczesny profil bezpieczeństwa stosowania ACE I lub ARB ujęte w pracy jako zmiana średniego poziomu kreatyniny, hemoglobiny i potasu w surowicy oraz wielkości eGFR w okresie pomiędzy włączeniem blokady do terapii a momentem pierwszej wizyty ambulatoryjnej po włączeniu.

Publikacja nr 3.

Zakrzewska A, Tylicki L, Debska-Slizien A: Influence of renin-angiotensin system blockers on graft function in retrospective analysis of pairs of renal transplant recipients from the same donor. Transplant Proc 2018;50:1838-1841.

W artykule przedstawiono i przedyskutowano wyniki retrospektywnej analizy przeprowadzonej w grupie 33 par biorców nerki od tego samego dawcy poddanych 60 miesięcznej obserwacji. Dokonano analizy stosowanego leczenia ACE I lub ARB, przyczyn włączenia, wielkości dawkowania. Oceniono wpływ farmakologicznej blokady układu RAA na funkcję nerki przeszczepionej rozumianą jako zmianę poziomu kreatyniny w surowicy i wartości eGFR w okresie pomiędzy początkiem i końcem obserwacji.

Opisane trzy prace w sposób komplementarny omawiają i analizują wyniki stosowania blokady układu RAA, korzyści i potencjalne niebezpieczeństwa płynące z jej zastosowania wśród KTRs. Pomimo coraz częstszego użycia ACE I i ARB u biorców nerki, stosowanie tych leków wciąż nie jest tak powszechne jak u pacjentów z CKD przebiegającą z białkomoczem, gdzie istnieją silne dowody na to, że farmakologiczna blokada układu RAA spowalnia postęp choroby i zmniejsza śmiertelność zarówno wśród chorych na cukrzycę, jak i bez cukrzycy [1-5]. W przypadku biorców nerki, większa część chorych znajduje się w stadium 3b CKD [22] i jest to grupa szczególnie podatna na pogorszenie czynności nerki przeszczepionej, hiperkaliemię czy rozwój niedokrwistości po leczeniu ACEI lub ARB. U części transplantologów wymienione niebezpieczeństwa wywołują niechęć do stosowania tych leków. Przeprowadzone dotychczas badania dotyczące nefro- i kardioprotekcyjnych właściwości blokady układu RAA u KTRs nie dostarczyły silnych dowodów na korzyści płynące z ich zastosowania [15-18, 19-21]. Analiza zebranego materiału klinicznego przeprowadzona na łamach niniejszej rozprawy doktorskiej również nie pozwoliła jednoznacznie

potwierdzić korzystnego wpływu blokady układu RAA na wydłużenie przeżywalności pacjentów i/lub przeszczepionych nerek. Wnosi jednak istotny wkład w pogłębienie aktualnej wiedzy na temat możliwego zastosowania blokady układu RAA u KTRs, zwłaszcza u pacjentów z nadciśnieniem, białkomoczem lub poliglobulią i dowodzi, że ACE I i ARB są bezpieczne w tej grupie chorych.

VI. Wnioski

1. Stosowanie ACE I lub ARB nie wpłynęło znamiennie na rokowanie sercowo-naczyniowe w analizie par biorców nerki od tego samego dawcy.

2. Stosowanie ACE I lub ARB nie wpłynęło znamiennie na funkcję wydalniczą nerki przeszczepionej w analizie par biorców nerki od tego samego dawcy.

3. Stosowanie ACE I lub ARB okazało się bezpieczne w aspekcie wczesnych zmian poziomu potasu i kreatyniny w surowicy w analizie par biorców nerki od tego samego dawcy.

4. Farmakologiczna blokada układu RAA spowodowała istotne statystycznie obniżenie poziomu hemoglobiny w grupie stosującej ACE I lub ARB.

5. Nadciśnienie tętnicze i nefroprotekcja były głównymi powodami włączenia farmakologicznej blokady układu RAA u KTRs. Częściej stosowano ACE I niż ARB. Były one stosowane w niedużych dawkach, nieprzekraczających ⅓ dawek maksymalnych.

Streszczenie w języku angielskim

I. Introduction

Slowing down the pace of progressive damage to the transplanted kidney is one of the main objectives of post-transplant treatment. The efficacy and safety of renin-angiotensin-aldosteron (RAA) blockade in inhibiting nephropathic progression and reducing adverse changes in the cardiovascular (CV) system is well documented in the population of patients with chronic kidney disease (CKD) [1-5], but there is no research on the nephro- and cardioprotective effects of RAA blockade in kidney transplant recipients (KTRs).

In recent years, the life expectancy of KTRs, and the functioning of the transplanted kidneys have significantly increased. Nevertheless, CV diseases are a serious clinical problem and more than half of all patients' deaths after kidney transplantation are caused by cardiological complications [6,7]. Improvement of the short-term survival results of transplanted kidneys results from the introduction of calcineurin inhibitors (CNI) into immunosuppressive therapy, whereas the long-term effects of kidney transplantation are still unsatisfactory. The main causes of transplant loss include death from functional graft (mainly CV) and chronic allograft nephropathy (CAN) [8]. With the loss of transplanted kidney function, the risk of death from CV causes, which correlates with creatinine levels, increases [9]. Early identification of patients with CV risk factors and implementation of optimal nephroprotective management to slow down CAN progression significantly extends transplanted kidney function, and at the same time reduces the risk of death from CV complications. Risk factors for ischemic heart disease after kidney transplantation include: pre-transplant diabetes mellitus, post-transplant diabetes mellitus (PTDM), CV incidents, age over 60, male gender, longer end-stage renal disease (ESRD) [10]. However, the factors associated with transplantation are more important: surgery, delayed graft function (DGF), acute rejection (AR) episodes, toxicity of immunosuppression. Traditional risk factors such as obesity, dyslipidemia, and smoking have a lower predictive value, but are also important [11].

The RAA system takes part in the physiological regulation of arterial blood pressure, maintenance of the water-electrolyte balance and processes related to cell growth and proliferation [12]. Its over-activation leads to adverse hemodynamic consequences both in the kidneys and in the CV system. The contraction of peripheral arteries by angiotensin II—the main effect of this system—leads to an increase in systemic blood pressure and, consequently, to pressure overload of the heart, its hypertrophy, and systolic dysfunction of the left ventricle. Shrinkage of the glomerulonephritic arterioles leads to increased intraglomerular pressure and hyperfiltration, which in turn increases proteinuria. Moreover, angiotensin II and aldosterone play an important role in the intensification of oxidative stress and local inflammation, resulting in fibrinogenesis, which leads to irreversible fibrosis of the glomerulus and kidney parenchyma [13, 14], which significantly accelerates CAN progression.

The pharmacological blockade of the RAA system (using angiotensin converting enzyme inhibitors [ACE I] or angiotensin II type 1 receptor blockers [ARB]) is currently the gold standard for nephro- and cardioprotective treatment in patients with CKD and/or high risk CV. The use of RAA blockade after kidney transplantation seems to be the logical choice to slow down CAN progress and reduce CV mortality in this group of patients. The studies conducted so far in KTRs analyzing the benefits of an RAA blockade have not been conclusive. The randomized SECRET 2009 double-blind ARB, candesartan vs. placebo study showed better blood pressure control and decreased proteinuria by 28.6% in the study group, but increased serum creatinine and potassium concentrations in the study group compared to the placebo were also observed. The transplantation experience after 23 months was comparable in both groups [15]. A study conducted by Ibrahim in 2013 did not confirm the nephro- and cardioprotective effects of ARB, losartan in the group of KTRs [16]. A prospective, randomized, multi-center clinical trial with ACE I, ramipril in patients after kidney transplantation with proteinuria, carried out in 2006-2012, provided similar conclusions [17]. Observation studies also did not provide clear conclusions regarding the influence of RAA blockade on the survival of KTRs and grafts [18]. A group of Austrian researchers showed a better

survival of both KTRs and grafts after ACE I usage [19]. Opeltz et al. proved that the use of ACE I or ARB in the first year after kidney transplantation was not associated with a decrease in the CV-related mortality rate compared to other hypotensive drug groups [21].

This paper is the basis for 3 publications analyzing the impact of pharmacological blockade of the RAA system on CV prognosis, kidney transplant function and survival, and the safety profile of this therapy in patients transplanted in the Gdańsk transplantation centre.

II. The objectives

1. Evaluation of the influence of RAA blockade (ACE I or ARB) in kidney transplant recipients on:

- CV prognosis and/or the survival of the transplanted kidney
- the excretion function of the transplanted kidney

2) Evaluation of the safety of RAA blockade in KTRs, in particular the evaluation of early effects of ACE I or ARB therapy on the hemoglobin, creatinine and potassium levels in the serum, and the estimated glomerular filtration rate (eGFR).

3) Characteristics of pharmacological blockade of the RAA system in patients with kidney transplantation, in particular:

-reasons for switching on and off the RAA blockade for therapy

-the moment of inclusion of the RAA blockade and the type of drugs used

-the ACE I and ARB doses used

The objectives of the doctoral dissertation were achieved in a series of three articles published in 2018-2019 (list of publications on page 4) in Polish and foreign scientific journals. It consists of two thematically consistent original papers (publications 2 and 3) and one review article (publication 1).

III. Methods.

1.The clinical material consisted of patients who underwent a kidney transplantation from a deceased donor in the years 2000-2012 in the Gdańsk transplant centre, who were provided with outpatient care in the clinical nephrological clinic. A retrospective analysis of data collected in the history of diseases from outpatient visits and in the database of laboratory results of the CliniNet computer system was made.

2. The criteria for inclusion in the study:

a) both recipients of kidneys from the same donor where one recipient used a RAA blockade (RAA+) and the other did not (RAA-)

b) the use of RAA blockade by one patient from a pair of recipients, i.e. taking ACE I or ARB for a minimum period of 36 months (a change from ACE I to ARB or ARB to ACE I or temporary withdrawal for a maximum period of 4 weeks was acceptable).

3. For the purposes of the study, to carry out analyses, the conventional time points of observation were adopted:

- T(0)- point of activation of RAA blockade for therapy
- T(k)- end point of observation (after a minimum of 36 months, a maximum of 118 months)
- T(5)-60 months of post-transplant observation
- T(w)- results of laboratory tests obtained at the first medical visit after inclusion of the RAA blockade in the therapy
- T(-1)- averages of laboratory results obtained from the 3 most recent medical appointments preceding the inclusion of RAA blockade in therapy
- T(+1)- averages of laboratory test results obtained from the first 3 medical visits following the inclusion of RAA blockade in the therapy

4. In order to evaluate the influence of RAA blockade on CV prognosis and/or survival of the transplanted kidney, 3 conventional observation endpoints were established:

- **cardiovascular**- means that the patient experienced acute coronary syndrome or ischaemic stroke, hart failure exacerbation by 1 NYHA grade higher, de novo diagnosed coronary artery disease or died of cardiovascular causes.
- **nephrological**- means that a patient had an eGFR below 15ml/min/1.73m2 or a doubling of serum creatinine levels compared to T(0), or started dialysis.
- **a cardiological-nephrological point**- means that the patient reached a cardiological and/or nephrological point.

The analysis of the frequency of the above mentioned endpoints was performed in the period T(0) - T(k).

5. The serum creatinine concentration and eGFR were evaluated to assess the excretion function of the transplanted kidney by analyzing the difference between the T(0) and T(5), T(0) and T(k) time points for these parameters.

6. To evaluate the safety of RAA blockade in KTRs, hemoglobin, creatinine and potassium serum levels were evaluated by analyzing the difference between the T(0) and T(w) time points for creatinine and potassium and the T(-1) and T(+1) time points for hemoglobin.

7. The statistical analysis of the obtained results was carried out with the use of StatSoft's Statistica 8.0 computer software. The basic parameters of descriptive statistics were determined: the arithmetic mean and standard deviation, median, minimum, maximum. The statistical significance of independent quantitative variables was assessed by t-student and Mann-Whitney tests depending

on the distribution. The normal distribution was tested by the Shapiro-Wilk test. The chi-squared test was used to compare quality variables. To assess the significance of differences in quantitative dependent variables, the t-student test and the Wilcoxon signed-rank test were used, depending on the distribution, and for qualitative variables, the chi-squared test. In all calculations, $p<0.05$ was assumed as the level of statistical significance.

IV. Main results

1. The characteristics of the pairs of KTRs from the same donor and the characteristics of the transplantation period.

- In the period T(0) - T(k)

The study qualified 106 patients (53 KTRs pairs) meeting the criteria for inclusion in the study a and b. The observation time differed between pairs of patients and was at least 36 months and at most 118 months. Both groups of patients did not differ significantly in age, gender, BMI, creatinine, hemoglobin and potassium levels in the serum and eGFR level at the time of RAA blockade activation [time point T(0)], reason of ESRD, dialysis type and time, immunosuppressive treatment, duration of total ischemia, mismatches in the number and episodes of acute rejection.

- In the period T(0) - T(5)

A subgroup of 66 patients (33 KTRs pairs) meeting the criteria for study a and b, whose observation time was uniform and amounted to 60 months, were qualified for a separate analysis. The results were evaluated at time point T(5). Both groups of patients did not differ significantly in age, gender, BMI, creatinine, hemoglobin and potassium levels in the serum and eGFR level at the time of RAA blockade activation, reason of ESRD, dialysis type and time, immunosuppressive treatment, duration of total ischemia, mismatches in the number and episodes of acute rejection.

2. Assessment of the influence of RAA blockade on cardiovascular prognosis and/or graft survival.

In the analysis of 53 pairs of KTRs from the same donor in the period T(0) - T(k) (minimum 36 months, maximum 118 months), 3 patients in the RAA+ group and none of the patients in the RAA-

group reached the cardiological endpoint. The nephrological endpoint was reached in RAA+ and RAA- groups by 5 and 7 patients, respectively. The cardiological-nephrological endpoint was reached by 6 patients from the RAA+ group and 7 from the RAA- group. The differences were not statistically significant.

(The results are set out in Publication 2).

3 Assessment of the influence of RAA blockade on the excretion function of the transplanted kidney.

Based on the analysis of KTR pairs from the same donor with different observation times—a minimum 36 months, a maximum 118 months (i.e., between T(k) and T(0) time points)—there was no significant statistical difference in serum creatinine level (a mean increase by 0.32 mg/dl in the RAA+ group vs. 0.33 mg/dl in the RAA- group) and eGFR (a mean decrease by 3.61 ml/min/1.73m2 in the RAA+ group vs. 0.48 ml/min/1.73m2 in the RAA- group).

Based on the analysis of the KTR pairs from the same donor but subject to a uniform observation period of 60 months [i.e. between time points T(5) - T(0)], there was no significant statistical difference in serum creatinine levels (a mean increase of 0.05 mg/dl in the RAA+ group vs. 0.14 mg/dl in the RAA- group) or in eGFR (a mean decrease of 0.37 ml/min/1.73m2 in the RAA+ group vs. mean increase of 2.54 ml/min/1.73m2 in the RAA- group).

(The results are set out in Publications No 2 and 3).

4. Characteristics of use of pharmacological blockade of the RAA system.

In the group of 53 KTRs receiving pharmacological blockade of the RAA system, ACE I was used in 88.68% of cases and ARB in 11.32%. The patients were taking ACE I or ARB at 23.1 % and 27.08 % respectively of the maximum dose specified according to the individual summary of product characteristics. The main causes of RAA blockade in this population were arterial

hypertension (39.62%), proteinuria (39.62%) and polyglobulia (28.3%). In 7 of the observed patients, pharmacological blockade of the RAA system was discontinued due to hypotonia (2 patients), anemia (2 patients), creatinine increase (1 patient), planned pregnancy (1 patient) and discontinuation of drug use by the patient (1 patient).

(The results are set out in Publications No 2 and 3).

5. Safety evaluation of pharmacological blockade of the RAA system in KTRs

There were no statistically significant differences in serum creatinine and potassium levels and in eGFR between the RAA+ and RAA- patients in the period between the activation of RAA blockade and the first visit after activation. A statistically significant decrease (p=0.042) in serum hemoglobin level was observed between RAA + and RAA- patients over the T (-1) - T(+1) period (a mean decrease by 0.29 ± 1.32mg/dl in the RAA + group vs. a mean increase by 0.19 ± 1.08mg/dl in the RAA- group).

(The results are set out in Publication 2).

V. Discussion of the works making up the doctoral dissertation

1.Zakrzewska A, Tylicki L, Dębska-Ślizień A: Farmakoterapia nadciśnienia tętniczego u pacjentów po przeszczepieniu nerki, Nefrol Dial Pol 2019, 23, 35-41

This review is a summary of the current knowledge on the pathogenesis, aims and methods of treatment of hypertension after kidney transplantation. The article discusses in detail the factors responsible for the development of hypertension after kidney transplantation. The current literature on the treatment of hypertension after kidney transplantation has been reviewed. Each group of hypotensive drugs was analyzed taking into account their influence on graft function and possible benefits of their use, including cardiovascular prognosis, with particular emphasis on the pharmacological role of RAA blockade.

2.Zakrzewska A, Tylicki L, Dębska-Ślizień A: Cardiovascular and renal outcomes of renin-angiotensin system blockade in kidney transplant recipients. Transplant Proc 2018; 50: 1834-1837.

The paper presents and discusses the results of a retrospective analysis of 53 pairs of KTRs from the same donor subjected to a disorderly observation, which lasted at least 36 months. The influence of pharmacological blockade of the RAA system on cardiovascular prognosis and/or graft survival was evaluated as reaching a complex cardiological and/or nephrological endpoint at the end of observation. An early safety profile of ACE I or ARB was evaluated as a change in mean serum creatinine, hemoglobin, potassium and eGFR levels between the inclusion of the blockade in therapy and the time of the first ambulatory visit after inclusion.

3.Zakrzewska A, Tylicki L, Dębska-Ślizień A: Influence of renin-angiotensin system blockers on graft function in a retrospective analysis of pairs of kidney transplant recipients from the same donor. Transplant Proc 2018; 50: 1838-1841.

The paper presents and discusses the results of a retrospective analysis of 33 pairs of KTRs from the same donor undergoing 60-month observations. The analysis of the applied ACE I or ARB treatment, the reasons for inclusion, and the size of doses was performed. The influence of pharmacological blockade of the RAA system on transplanted kidney function understood as a change in serum creatinine level and eGFR value in the period between the beginning and the end of observation was evaluated.

The three papers complement each other by discussing and analyzing the results of the RAA blockade, its benefits and potential risks for KTRs. Despite the increasing use of ACE I and ARB in KTRs, the use of these drugs is still not as common as in patients with CKD with proteinuria, where there is strong evidence that pharmacological blockade of the RAA system slows the progression of the disease and reduces mortality in both diabetic and non-diabetic patients [1-5]. In the population of KTRs, the majority of patients are at stage 3b CKD [22] and this group is particularly susceptible to deterioration of transplanted kidney function, hyperkalemia or the development of anemia after ACEI or ARB treatment. Some transplantologists are reluctant to use these drugs. The studies on the nephro- and cardioprotective properties of pharmacological blockade of the RAA system in KTRs conducted so far have not provided strong evidence of their benefits [15-18, 19-21]. The analysis of the collected clinical material carried out in this dissertation also did not confirm a beneficial effect of a pharmacological blockade of the RAA system on patients' survival and/or transplanted kidneys. However, it makes a significant contribution to the current knowledge on the possible use of RAA blockade in KTRs, especially in patients with hypertension, proteinuria or polyglobulia, and proves that ACE I and ARB are safe in this group of patients.

VI. Conclusions

1.The use of ACE I or ARB did not significantly affect cardiovascular prognosis in the analysis of KTRs pairs from the same donor.

2.The use of ACE I or ARB did not significantly affect the excretory function of the transplanted kidney in the analysis of KTRs pairs from the same donor.

3.The use of ACE I or ARB has been shown to be safe for early changes in serum potassium and creatinine levels in the analysis of KTRs pairs from the same donor.

4.The pharmacological blockade of the RAA system caused a statistically significant decrease in hemoglobin levels in patients using ACE I or ARB.

5.Hypertension and nephro-protection were the main causes of pharmacological blockade of the RAA system in KTRs. ACE I was used more often than ARB. They were applied in small doses, not exceeding ⅓ of the maximum doses.

Piśmiennictwo / References

1. Shah R, Sparks MA. Renin-angiotensin system inhibition in advanced chronic kidney disease: how low can the kidney function go? Curr Opin Nephrol Hypertens. 2019 Mar; 28: 71-177

2. Oh YJ, Kim SM, Shin BC, Kim HL, Chung JH et al. The impact of renin-angiotensin system blockade on renal outcomes and mortality in predialysis patients with advanced chronic kidney disease. PloS One 2017; 12: e0170874.

3. Chen YJ, Li LJ, Tang WL, Song JY, Qiu R, et al. First-line drugs inhibiting the renin angiotensin system versus other first-line antihypertensive drug classes for hypertension. Cochrane Database Syst Rev. 2018; 14; 11: CD008170.

4. Higuchi S, Kohsaka S, Shiraishi Y, Katsuki T, Nagatomo Y, et al. Association of renin-angiotensin system inhibitors with long-term outcomes in patients with systolic heart failure and moderate-to-severe kidney function impairment. Eur J Intern Med. 2019; 62: 58-66

5. Lewis EJ, Hunsicker LG, Clarke WR, Berl T, Pohl MA et al., Collaborative Study Group. Renoprotective effect of the angiotensin-receptor antagonist Irbesartan in patient with nephropathy due to type 2 diabetes. N Engl J Med 2001; 20; 345: 851-60

6. Karthikeyan V, Ananthasubramaniam K. Coronary risk assessment and management options in chronic kidney disease patients prior to kidney transplantation. Curr Cardiol Rev. 2009; 5: 177-86.

7. Gillis KA, Patel RK, Jardine AG. Cardiovascular complications after transplantation: treatment options in solid organ recipients. Transplant Rev. 2014; 28: 47-55.

8. Chamienia A: Nefroprotekcja w chorobach nerek własnych i w nerce przeszczepionej. Forum Nefrol. 2012; 5: 218-231.

9. Meier-Kriesche HU, Baliga R, Kaplan B. Decreased renal function is a strong risk factor for cardiovascular death after renal transplantation. Transplantation. 2003; 27; 75:1291-5.

10. European Best Practice Guidelines for Renal Transplantation (Part 2) Nephrol Dial. Transplant. 2002; 17 (supl.4): 24-60

11. Sharma R, Pellerin D, Gaze D. C, Gregson H. C, Streather P. et all, Dobutamine stress echocardiography and the resting but not exercise electrocardiograph predict severe coronary artery disease in renal transplant candidates. Nephrol. Dial. Transplant. 2005; 68: 2207–2214.

12. Tylicki L, Rutkowski B: Adekwatna nefroprotekcja metodą skutecznej kardioprotekcji. Forum Nefrol. 2011; 4: 144-152.

13. Wolf G, Butzmann U, Wenzel U. The renin-angiotensin system and progression of renal disease: from hemodynamics to cell biology. Nephron Physiol. 2003; 93: 3-13.

14. Tylicki L, Lizakowski S, Rutkowski B. Renin-angiotensin-aldosterone system blockade for nephroprotection: current evidence and future directions. J Nephrol. 2012; 25: 900-910.

15. Philipp T, Martinez F, Geiger H, Moulin B, Mourad G. et al, Candesartan improves blood pressure control and reduces proteinuria in renal transplant recipients: results from SECRET. Nephrol Dial Transplant. 2010; 25: 967-76.

16. Ibrahim HN, Jackson S, Connaire J, Matas A, Ney A, et al. Angiotensin II blockade in kidney transplant recipients. J Am Soc Nephrol. 2013; 24: 320-7.

17. Knoll GA, Fergusson D, Chassé M, Hebert P, Wells G, et al. Ramipril versus placebo in kidney transplant patients with proteinuria: a multicentre, double-blind, randomised controlled trial. Lancet Diabetes Endocrinol. 2016; 4: 318-26.

18. Opelz G, Zeier M, Laux G, Morath C, Döhler B. No improvement of patient or graft survival in transplant recipients treated with angiotensin-converting enzyme inhibitors or angiotensin II type 1 receptor blockers: a collaborative transplant study report. J Am Soc Nephrol. 2006; 17: 3257-62.

19. Heinze G[1], Mitterbauer C, Regele H, Kramar R, Winkelmayer WC et al. Angiotensin-converting enzyme inhibitor or angiotensin II type 1 receptor antagonist therapy is associated with prolonged patient and graft survival after renal transplantation. J Am Soc Nephrol. 2006; 17: 889-99.

20. Hiremath S, Fergusson DA, Fergusson N, Bennett A, Knoll GA. Renin-Angiotensin System Blockade and Long-term Clinical Outcomes in Kidney Transplant Recipients: A Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. Am J Kidney Dis. 2017; 69: 78-86.

21. Opelz G, Döhler B. Cardiovascular death in kidney recipients treated with renin-angiotensin system blockers. Transplantation. 2014; 15; 97: 310-5.

22. Komorowska-Jagielska K, Heleniak Z, Januszko-Giergielewicz B, Dudziak M, Rutkowski B. Wczesne i późne ryzyko sercowo-naczyniowe u biorców nerki: przegląd literatury. Forum Nefrol. 2016; 9: 99-108