



Щастный А.Т., Осочук А.С.✉, Марцинкевич А.Ф., Осочук С.С.

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,  
Витебск, Беларусь

## Метод диагностики дислипопротейнемии IV типа у получавших такролимус пациентов с гипертриглицеридемией после пересадки почки

**Конфликт интересов:** не заявлен.

**Вклад авторов:** концепция и дизайн исследования – Щастный А.Т.; сбор и обработка материала – Осочук А.С.; статистическая обработка данных – Марцинкевич А.Ф.; написание текста – Осочук А.С.; редактирование – Осочук С.С.

**Информация об источнике поддержки в виде грантов, оборудования, лекарственных препаратов.** Работа выполнялась в рамках ГПНИ «Трансляционная медицина», подпрограмма 4.2 «Фундаментальные аспекты медицинской науки», задание 3.37 «Изучить состояние липидтранспортной и иммунной систем пациентов с пересадкой почки и обосновать подходы к их коррекции», госрегистрация № 20220305 от 16.03.2022. Финансовой поддержки со стороны компаний – производителей лекарственных препаратов авторы не получали.

Подана: 19.04.2023

Принята: 18.09.2023

Контакты: aos19950207@gmail.com

### Резюме

**Цель.** Разработать расчетный метод отнесения пациентов, применяющих такролимус после пересадки почки, к категории лиц с повышенным содержанием ХС ЛПОНП как альтернативу используемому в клинической практике методу В.Т. Фридвальда.

**Материалы и методы.** В группу обследуемых пациентов включены 15 мужчин (36–60 лет) и 15 женщин (36–55 лет) второго периода зрелого возраста. В контрольную группу вошли по 15 здоровых мужчин и женщин того же возраста. Всего проанализировано 55 человек – 30 здоровых лиц обоего пола и 25 (без выпадения исследуемых показателей) – с пересадкой почки на 7-е сутки после операции. ЛПОНП выделяли методом препаративного ультрацентрифугирования. Количество ХС и ТГ ЛПОНП, глюкозы, креатинина, мочевины плазмы крови, активности АсАТ и АлАТ определяли с использованием биохимических наборов. Статистический анализ выполнен с применением пакета прикладных программ R 4.2.2.

**Результаты.** Разработана модель отнесения пациентов, применяющих такролимус после пересадки почки, к категории лиц с повышенным содержанием ХС ЛПОНП.

**Заключение.** Разработанная нами логистическая модель позволяет отнести пациентов в возрасте 36–60 лет для мужчин и 36–55 лет для женщин на 7-е сутки после пересадки почки к лицам с повышенным или сниженным уровнем ХС ЛПОНП вне зависимости от содержания ТГ в крови без использования расчетного метода, предложенного В.Т. Фридвальдом.

**Ключевые слова:** холестерол, дислипопротейнемия, ЛПОНП, пересадка почки



Anatoly T. Shchastniy, Alexander S. Osochuk✉, Alixander F. Martsinkevich,  
Sergey S. Osochuk  
Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Belarus

## Diagnosis of Type IV Dyslipoproteinemia in Patients with Hypertriglyceridemia after Kidney Transplant Received Tacrolimus

**Conflict of interest:** nothing to declare.

**Authors' contribution:** study concept and design – Anatoly T. Shchastniy; data collection and processing – Alexander S. Osochuk; statistical data analysis – Alixander F. Martsinkevich; text writing – Alexander S. Osochuk; editing – Sergey S. Osochuk.

**Information about the source of support in the form of grants, equipment, drugs.** The work was carried out within the framework of the state research program "Translational Medicine", subprogram 4.2 "Fundamental Aspects of Medical Science", assignment 3.37 "To study the state of the lipid transport and immune systems of patients with kidney transplantation and substantiate approaches to their correction", state registration No. 20220305 dated 16.03.2022. The authors did not receive financial support from drug manufacturing companies.

Submitted: 19.04.2023

Accepted: 18.09.2023

Contacts: aos19950207@gmail.com

### Abstract

**Purpose.** To develop a calculation method for classifying patients using tacrolimus after kidney transplantation as those with elevated VLDL-C. As an alternative to the V.T. Fridwald method used in clinical practice.

**Materials and methods.** The group of examined patients included 15 men (36–60 years old) and 15 women (36–55 years old) of the second period of adulthood. The control group included 15 healthy men and women of the same age. A total of 55 people were analyzed – 30 healthy people of both sexes and 25 patients (without loss of the studied parameters) with a kidney transplant on the 7th day after the operation. VLDL was isolated by preparative ultracentrifugation. The amount of cholesterol and TG of VLDL, glucose, creatinine, blood plasma urea, activity of AST and ALT was determined using biochemical kits. Statistical analysis was performed using the application package R 4.2.2.

**Results.** A model was developed to classify patients using tacrolimus after kidney transplantation as individuals with elevated VLDL cholesterol levels.

**Conclusion.** The logistic model developed by us makes it possible to classify patients aged 36–60 years for men and 36–55 years for women on the 7th day after kidney transplantation as persons with elevated or reduced levels of VLDL-C, regardless of the content of blood triglycerides without using the calculation method proposed V.T. Friedwald.

**Keywords:** cholesterol, dyslipoproteinemia, VLDL, kidney transplant

### ■ ВВЕДЕНИЕ

Одним из наиболее значимых осложнений у пациентов с пересадкой почки являются дислиппротеинемии (ДЛП), приводящие к поражению сердечно-сосудистой системы, на долю которых приходится 35–50% летальных исходов [1]. Известно, что ДЛП являются следствием применения циклоспорина А или такролимуса.

Сравнительный анализ применения этих иммуносупрессантов указывает на предпочтительность такролимуса как препарата, вызывающего менее выраженные изменения в липидтранспортной системе крови [2]. Вместе с тем в работе [3] указывают на то, что у лиц, получавших такролимус, гиперхолестеролемия встречается в 3 раза реже, чем у лиц, получавших циклоспорин А, при этом распространенность гипертриглицеридемий не имеет отличий.

В настоящее время в большинстве клинических лабораторий для определения содержания холестерина (ХС) липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП) используется предложенный в 1972 г. расчетный метод Фридвальда [4]. Применение данного метода позволило избежать дорогостоящего и длительного выделения нативных липопротеиновых комплексов крови ультрацентрифугированием и таким образом обеспечить диагностику липидного профиля пациентов значительно менее затратными и доступными для клинической практики способами. Вместе с тем данный метод имеет существенные ограничения [5]. В частности, расчет ХС ЛПОНП посредством деления содержания триглицеридов (ТГ) на 5 (ТГ/5) становится все более неточным по мере превышения концентрации ТГ свыше 2,82 ммоль/л и не может быть использован при содержании ТГ более 4,52 ммоль/л [6]. Учитывая, что для такролимуса характерна способность увеличивать содержание ТГ, в том числе посредством снижения активности липопротеинлипазы [7] или стимуляции продукции микро-РНК-33 в печени [8], применение расчетной формулы Фридвальда для определения содержания ХС ЛПОНП является невозможным.

## ■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Разработать расчетный метод отнесения пациентов, применяющих такролимус после пересадки почки, к категории лиц с повышенным содержанием ХС ЛПОНП как альтернативу используемому в клинической практике методу В.Т. Фридвальда.

## ■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа проведена в рамках ГПНИ «Трансляционная медицина», государственная регистрация № 20220305 от 16.03.2022.

Для проведения исследования сформированы группы пациентов с терминальной стадией хронической болезни почек, получавших заместительную почечную терапию (26 – гемодиализ и 2 – перитонеальный диализ), которым была осуществлена пересадка почки и в послеоперационном периоде назначался такролимус. Причинами почечной недостаточности в 3/4 случаев был хронический гломерулонефрит с исходом в нефросклероз, в 1/4 – сахарный диабет с исходом в нефропатию, поликистоз и гипертоническая болезнь с поражением почек. Математический анализ исследуемых показателей не выявил статистически значимого влияния этиологии заболевания на изучаемые показатели. В группу обследуемых пациентов включены 15 мужчин (36–60 лет) и 15 женщин (36–55 лет) второго периода зрелого возраста [9]. В контрольную группу вошли по 15 здоровых мужчин и женщин того же возраста. Кровь для исследований забирали в Минском научно-практическом центре хирургии, трансплантологии и гематологии в рамках договора о сотрудничестве с Витебским государственным медицинским университетом. Кровь здоровых лиц отбирали в утренние часы натощак в вакутайнеры с ЭДТА. Кровь пациентов отбирали



в утренние часы натощак на 7-е сутки после операции по пересадке почки. Плазму крови замораживали при температуре жидкого азота и до обработки хранили в морозильной камере при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$ . ЛПОНП выделяли методом препаративного ультрацентрифугирования на ультрацентрифуге Beckman Optima LE80K (США) с использованием ротора 50.4Ti [10]. Количество ХС и ТГ ЛПОНП, глюкозы, креатинина, мочевины плазмы крови, активности АсАТ и АлАТ определяли с использованием биохимических наборов ООО «Арвитмедикл» (Республика Беларусь).

Статистический анализ выполнен с применением пакета прикладных программ R 4.2.2 [11].

Моделирование выполняли с помощью множественной логистической регрессии с использованием библиотеки glmulti [12]. Предикторы модели отбирались итеративно, так чтобы достичь наибольшего значения функции правдоподобия при минимальном количестве использованных параметров.

Качество полученной модели оценивали с помощью ROC-анализа [13], рассчитывая следующие показатели:

- точность – долю правильно идентифицированных случаев;
- F-меру – взвешенное гармоническое среднее PPV и чувствительности;
- чувствительность – долю правильно идентифицированных положительных случаев среди всех положительных случаев;
- специфичность – долю правильно идентифицированных отрицательных случаев среди всех отрицательных случаев;
- PPV (positive predictive value) – долю правильно идентифицированных положительных случаев от всех случаев, идентифицированных как положительные;
- NPV (negative predictive value) – долю правильно идентифицированных отрицательных случаев от всех случаев, идентифицированных как отрицательные;
- AUC – площадь под кривой зависимости чувствительности от разности единицы и специфичности;
- Cut-off – точку отсечения, т. е. значение, при превышении которого случай идентифицируется как положительный.

Всего проанализировано 55 человек – 30 здоровых лиц обоего пола и 25 (без выпадения исследуемых показателей) – с пересадкой почки на 7-е сутки после операции.

## ■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Из 25 обследуемых пациентов у 21 пациента содержание ХС-нативных ЛПОНП было выше, чем в контрольной группе, а у 4 содержание ХС-нативных ЛПОНП было ниже, чем у здоровых людей (табл. 1).

**Таблица 1**  
**Распределение по группам**  
**Table 1**  
**Distribution by groups**

| Группа                         | Количество |
|--------------------------------|------------|
| Пониженный уровень холестерина | 4          |
| Повышенный уровень холестерина | 21         |

Проведенная логистическая регрессия показала, что из проанализированных показателей значимыми предикторами высокого уровня ХС ЛПОНП были содержание креатинина и мочевины крови, а также активность АсАТ и АлАТ. Логистическая регрессия исключила показатели пола и глюкозы как незначимые для оценки высокого уровня ХС. Коэффициенты разработанной модели представлены в табл. 2.

Результаты предсказания уровня холестерина представлены в табл. 3.

Таблица 2  
Коэффициенты модели  
Table 2  
Model coefficients

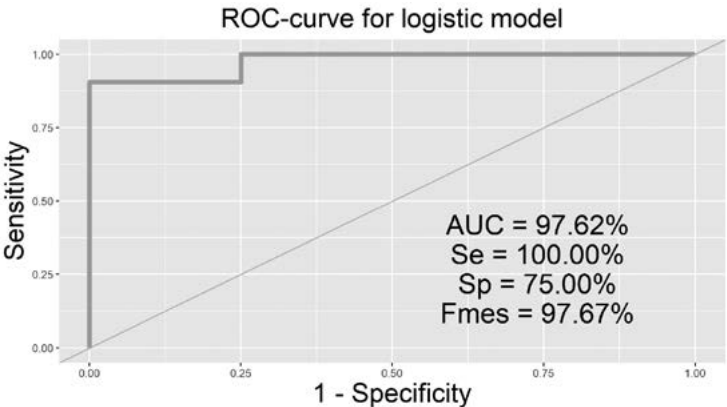
| Коэффициент                  | Значение   | Стандартная ошибка | z-значение | p-значение |
|------------------------------|------------|--------------------|------------|------------|
| Свободный член               | -18,815775 | 17,2001            | -1,0939    | 0,2740     |
| Мочевина, мМ/л               | 0,901534   | 0,8071             | 1,1170     | 0,2640     |
| Креатинин, мМ/лхвозраст, лет | -0,001429  | 0,0012             | -1,1466    | 0,2516     |
| Креатинин, мМ/лхАсАТ, ед/л   | 0,003415   | 0,0024             | 1,4386     | 0,1503     |
| Креатинин, мМ/лхАлАТ, ед/л   | 0,002851   | 0,0037             | 0,7806     | 0,4350     |

Таблица 3  
Результаты предсказания модели  
Table 3  
Model prediction results

|            | Ложный | Правильный |
|------------|--------|------------|
| Ложный     | 3      | 0          |
| Правильный | 1      | 21         |

Таблица 4  
Качество модели  
Table 4  
Quality of the model

| Точность | F-мера | Чувствительность | Специфичность | PPV    | NPV     | AUC    | Cut-off |
|----------|--------|------------------|---------------|--------|---------|--------|---------|
| 96,00%   | 97,67% | 100,00%          | 75,00%        | 95,45% | 100,00% | 97,62% | 37,45%  |



Графическое отображение результатов ROC-анализа  
Graphical display of ROC analysis results



Проведение ROC-анализа показало, что чувствительность модели составила 100%, а ее специфичность – 75% (табл. 4, см. рисунок). Оценка качества модели отражена в табл. 4.

Расчетная формула для определения уровня ХС ЛПОНП:

$$P = \frac{1}{1 + e^{-y}},$$

где  $y = -18,815775 + \text{мочевина} \times 0,901534 + \text{креатинин} \times \text{возраст} \times -0,001429 + \text{креатинин} \times \text{АсАТ} \times 0,003415 + \text{креатинин} \times \text{АлАТ} \times 0,002851$ .

Подставив соответствующие значения в уравнение, можно получить значение  $p$ , которое описывает вероятность отнесения пациента к той или иной группе. При значении больше 0,3745 (37,45%) следует относить пациента к группе с высоким уровнем ХС ЛПОНП, меньше – с низким.

В качестве примера можно рассмотреть одного из обследованных пациентов (данные пациента указаны в табл. 5).

$y = -18,815775 + 21,7 \times 0,901534 + 154,7035 \times 47 \times -0,001429 + 154,7035 \times 12,5 \times 0,003415 + 154,7035 \times 9,4 \times 0,002851 = 1,1070 \approx 1,11$ ;

$$P = \frac{1}{1 + e^{-1,11}} = 0,7516.$$

Полученное значение больше 0,3745, следовательно, пациент должен быть отнесен к группе с повышенным уровнем ХС ЛПОНП.

Для проверки модели на возможность возникновения ошибки, связанной с интерколлинеарностью, рассчитаны показатели Tolerance ( $1 - R^2$ , где  $R^2$  – коэффициент детерминации) и Variance Inflation Factor ( $1/\text{Tolerance}$ ), продемонстрировавшие ее отсутствие, поскольку значения Tolerance были больше 0,1–0,2 [14, 15], а значение VIF больше 2,5 [16].

Оценка калибровки модели методом Хосмера – Лемешева [17] показала, что  $p$  составило 0,7396, а это, в свою очередь, позволяет считать модель обладающей «хорошей подгонкой» (англ. well-fitted).

Полученная формула может быть использована при выборе лечения ДЛП IV типа с ингибиторами  $\beta$ -окси- $\beta$ -триметил-глутарил-КоА редуктазы (ОМГ-редуктазы – КФ 1.1.1.88) [18] или фибрами.

**Таблица 5**  
**Данные пациента с пересадкой почки на 7-е сутки после операции**  
**Table 5**  
**Data of a patient with a kidney transplant on the 7th day after surgery**

| Группа     | Мочевина | Креатинин | Возраст | АсАТ | АлАТ |
|------------|----------|-----------|---------|------|------|
| Правильный | 21,7     | 154,7035  | 47      | 12,5 | 9,4  |

## ■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработанная нами логистическая модель дает возможность отнести пациентов в возрасте 36–60 лет для мужчин и 36–55 лет для женщин на 7-е сутки после пересадки почки к лицам с повышенным или сниженным уровнем ХС ЛПОНП вне зависимости от содержания ТГ в крови без использования расчетного метода, предложенного В.Т. Фридвальдом.

Ранняя диагностика ДЛП IV типа позволит при отнесении пациентов к группе с повышенным содержанием ХС ЛПОНП использовать терапию с назначением ингибиторов ОМГ-редуктазы без учета их взаимодействия с такролимусом, а низкие значения ХС ЛПОНП при высоких концентрациях ТГ ЛПОНП позволят применять производные фиброевой кислоты как стимуляторы липопротеинлипазы (КФ 3.1.1.34).

---

## ■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Sessa A., Esposito A., Giliberti A., et al. Immunosuppressive agents and metabolic factors of cardiovascular risk in renal transplant recipients. *Transplant Proc.* 2009;41(4):1178–1182. doi: 10.1016/j.transproceed.2009.02.045
2. Venkiteswaran K., Sgoutas D.S., Santanam N., et al. Tacrolimus, cyclosporine and plasma lipoproteins in renal transplant recipients. *Transpl Int.* 2001;14(6):405–410. doi:10.1007/s001470100006
3. Deleuze S., Garrigue V., Delmas S., et al. New onset dyslipidemia after renal transplantation: is there a difference between tacrolimus and cyclosporine? *Transplant Proc.* 2006;38(7):2311–2313. doi: 10.1016/j.transproceed.2006.06.125
4. Friedewald W.T., Levy R.I., Fredrickson D.S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem.* 1972;18(6):499–502.
5. Martin S.S., Blaha M.J., Elshazly M.B., et al. Friedewald-estimated versus directly measured low-density lipoprotein cholesterol and treatment implications. *J Am Coll Cardiol.* 2013;62(8):732–739. doi: 10.1016/j.jacc.2013.01.079
6. Wolska A., Remaley A.T. Measuring LDL-cholesterol: what is the best way to do it? *Curr Opin Cardiol.* 2020;35(4):405–411. doi: 10.1097/HCO.0000000000000740
7. Tory R., Sachs-Barrable K., Goshko C.B., et al. Tacrolimus-induced elevation in plasma triglyceride concentrations after administration to renal transplant patients is partially due to a decrease in lipoprotein lipase activity and plasma concentrations. *Transplantation.* 2009;88(1):62–68. doi:10.1097/TP.0b013e3181aa7d04
8. Zhang C., Chen K., Wei R., et al. The circFASN/miR-33a pathway participates in tacrolimus-induced dysregulation of hepatic triglyceride homeostasis. *Signal Transduct Target Ther.* 2020;5(1):23. doi:10.1038/s41392-020-0105-2
9. Bunak V. Allocation of stages of ontogenesis and chronological boundaries of age periods. *Sovetskaja pedagogika.* 1965;11:105–119. (in Russian)
10. Perkins E.G., Lindgren F.T. *Analysis of lipids and lipoproteins.* Champaign IL: American Oil Chemists' Society; 1975.
11. The R Project for Statistical Computing. R-project. Available at: <https://www.r-project.org> (accessed 25.03.2023).
12. glmulti: Model Selection and Multimodel Inference Made Easy. CRAN. Available at: <https://cran.r-project.org/package=glmulti> (accessed 25.03.2023).
13. ROCR: Visualizing the Performance of Scoring Classifiers. CRAN. Available at: <https://cran.r-project.org/package=ROCR> (accessed 25.03.2023).
14. Mayers R.H. *Classical and Modern Regression with Applications.* 2nd edition. Boston: PWS-Kent Publishing Company; 1990.
15. Menard S. *Applied Logistic Regression Analysis.* 2nd edition. Thousand Oaks: Sage Publications; 2002.
16. Allison P.D. *Logistic Regression Using the SAS system: Theory and Applications.* Cary: SAS Institute Inc; 2001.
17. Lüdtke D., Mattan S., Shachar B., et al. An R Package for Assessment, Comparison and Testing of Statistical Models. *J. Open Source Softw.* 2021;6(60):3139. doi: 10.21105/joss.03139
18. Migliozi D.R., Asal N.J. Clinical Controversy in Transplantation: Tacrolimus Versus Cyclosporine in Statin Drug Interactions. *Ann Pharmacother.* 2020;54(2):171–177. doi: 10.1177/1060028019871891