Utjecaj ranoga ukidanja steroida na progresiju fibroze i tubularne atrofije nakon transplantacije bubrega

Mihovilović, Karlo

Doctoral thesis / Disertacija

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:821521

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository

DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Karlo Mihovilović

Utjecaj ranoga ukidanja steroida na progresiju fibroze i tubularne atrofije nakon transplantacije bubrega

DISERTACIJA



ZAGREB 2022.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Karlo Mihovilović

Utjecaj ranoga ukidanja steroida na progresiju fibroze i tubularne atrofije nakon transplantacije bubrega

DISERTACIJA

ZAGREB, 2022.

Disertacija je izrađena na Zavodu za nefrologiju, Kliničke bolnice Merkur, Medicinskog fakulteta sveučilišta u Zagrebu.

Mentor: prof. dr. sc. Mladen Knotek, dr. med., specijalist interne medicine, subspecijalist nefrologije

ZAHVALA

Prijatelju i mentoru Mladenu Knoteku na uloženom trudu, velikom strpljenju i nesebičnom dijeljenju znanja kroz sve ove godine.

POSVETA

Doktorska disertacija je posvećena mojoj majci Zdenki i baki Zorki za svu ljubav i podršku kroz život.

SADRŽAJ

1. UVOD 1
1.1 Transplantacija bubrega 1
1.2 Imunosupresijski protokoli 3
1.3 Intersticijska fibroza i tubularna atrofija 6
1.4 Epitelno-mezenhimna tranzicija 9

2. HIPOTEZA 11

3. CILJEVI 12
3.1 Opći cilj 12
3.2 Specifični ciljevi 12

4. ISPITANICI I METODE 14
4.1 Ispitanici 14
4.2 Metode 16
4.2.1 Imunosupresija 16
4.2.2 Protokol biopsije 16
4.2.3 Kronični patohistološki skorovi i subklinička upala 17
4.2.4 Epitelno-mezenhimna tranzicija 18
4.3 Statistička obrada podataka 19
4.4 Etička načela istraživanja 20

5. REZULTATI 21
5.1 Pregled uključivanja bolesnika u studiju 21
5.1.1 Demografske karakteristike bolesnika 23
5.2 Preživljenje bolesnika između skupina imunosupresije s ranim ukidanjem steroida i na steroidima 25
5.2.1 Preživljenje bubrežnog presatka u ovisnosti o steroidima 26
5.2.2 Funkcija presađenog bubrega između skupina imunosupresije s ranim ukidanjem steroida i na steroidima 30
5.3 Akutna odbacivanja u ovisnosti o steroidima 33
5.3.1 Utjecaj akutnog odbacivanja na preživljenje presađenog bubrega između pojedinih skupina imunosupresije sa i bez steroida 35

5.3.1.1 Utjecaj akutnog odbacivanja uključujući i graničnog na preživljenje bubrežnog presatka u skupinama imunosupresije sa i bez steroida 38
5.3.1.2 Utjecaj akutnog odbacivanja na preživljenje presađenog bubrega cenzurirano za smrt bolesnika 39
5.3.2 Utjecaj akutnog odbacivanja na bubrežnu funkciju između pojedinih skupina imunosupresije s ranim ukidanjem steroida i na steroidima 42
5.3.3 Utjecaj akutnog odbacivanja na progresiju intersticijske fibroze i tubularne atrofije između skupine s ranim ukidanjem steroida i na steroidima 46
5.4 Progresija kroničnih skorova tijekom 1. god. od transplantacije 48
5.4.1 Incidencija progresije intersticijske fibroze i tubularne atrofije po težini progresije 49
5.4.2 Utjecaj steroida na progresiju intersticijske fibroze 50
5.4.3 Utjecaj steroida na progresiju tubularne atrofije 54
5.4.4 Progresija ostalih kroničnih skorova tijekom 1. god. od transplantacije 58
5.4.4.1 Progresija ostalih kroničnih skorova u ovisnosti o steroidima 59
5.5 Skor totalne upale na 12 mj. od transplantacije bubrega 60
5.5.1 Statistička analiza čimbenika koji utječu na nastanak totalne upale 61
5.5.2 Korelacija skora totalne upale s progresijom intersticijske fibroze i tubularne atrofije 63
5.5.3 Korelacija skora totalne upale na 12 mj. s bubrežnom funkcijom presatka 65
5.5.4 Skor totalne upale na 12 mj. između skupina s ranim ukidanjem steroida i na steroidima 67
5.6 Prediktivna vrijednost epitelno-mezenhimne tranzicije za nastanak IF/TA-e 68
6. RASPRAVA 70
7. ZAKLJUČAK 76
8. SAŽETAK 77
9. SUMMARY 79
10. POPIS LITERATURE 80
11. ŽIVOTOPIS 87

Kratice

ATG – antitimocitni globulin

CAN – kronična nefropatija alografta

CNI – kalcineurinski inhibitor

eGFR – procjena glomerularne filtracije

EMT – epitelno-mezenhimalana tranzicija

EnMT – endotelno-mezenhimalna tranzicija

ESRD – eng. End Stage Renal Disease, završni stadij bubrežne bolesti

GFR – glomerularna filtracija

HLA – eng. Human Leukocyte Antigens

IF/TA – intersticijska fibroza i tubularna atrofija

IL-2 – interleukin 2

IS- imunosupresija

KBB – kronična bubrežna bolest

MDRD – eng. The Modification of Diet in Renal Disease

MMF – mikofenolat mofetil

PRA – panel reaktivnih protutijela

SPKT – simultana transplantacija gušterače i bubrega

ti score – skor totalne upale (total inflammation score)

Tx- transplantacija

1. UVOD

1.1 Transplantacija bubrega

Broj bolesnika s presađenim bubregom u stalnom je porastu u svijetu, a i u Hrvatskoj [1]. Izrazito bolje dugoročno preživljenje i bolja kvaliteta života transplantiranih bolesnika u odnosu na bolesnike koji se liječe dijalizom čine transplantaciju prvom metodom izbora bubrežnog nadomjesnog liječenja. Iz Hrvatskog registra za nadomjesno bubrežno liječenje vidljivo je da transplantirani bolesnici čine oko 50 % svih bolesnika koji su liječeni nadomjesnom bubrežnom terapijom [1]. S obzirom na brojnost i brzinu rasta te populacije, skrb za bolesnike s transplantiranim bubregom predstavlja jedan od najvećih izazova u nefrologiji.

Dug put je prijeđen od prve uspješne transplantacije bubrega učinjene u SAD-u 1954. godine na jednojajčanim blizancima [2]. Za prvu uspješnu transplantaciju te kasnije sudjelovanje u otkriću azatioprina doktor Joseph Murray je dobio Nobelovu nagradu za fiziologiju i medicinu [3]. Upravo otkriće imunosupresivnih lijekova je omogućilo transplantaciju s nesrodnih davatelja. Nakon azatioprina, sredinom 60-ih godina se u transplantaciji bubrega počinju koristiti kortikosteroidi. Tom Starzl prvi uvodi kombinaciju steroida i azatioprina kao imunosupresiju održavanja te postiže jednogodišnje preživljenje presatka od 70% [4]. Sedamdesetih godina prošlog stoljeća dolazi do upotrebe antitimocitnog globulina a potom i monoklonskog protutijela na receptor IL-2, važnih lijekova u indukcijskoj imunosupresiji [5, 6]. Razvoj imunosupresije nastavlja se otkrićem ciklosporina 1979. godine te takrolimusa 1989. godine [7, 8].

Razvoj imunosupresivnih lijekova, poboljšanje prezervacije doniranih organa i kirurških metoda, bolje razumijevanje sustava tkivne podudarnosti dovelo je do značajnog napretka u kratkoročnim i dugoročnim ishodima transplantacije [9]. Na temelju rezultata ELITE Symphony studije je protokol imunosupresije s niskom dozom takrolimusa uz mikofenolatmofetil (MMF) i steroide te indukciju daklizumabom postao standardni imunosupresivni protokol [10]. U posljednjih 15 godina pokušava se različitim modifikacijama imunosupresivnih protokola smanjiti nuspojave istih uz poboljšanje ishoda transplantacije (manje akutnih odbacivanja, dulje preživljenje presatka i bolesnika).

Jedna od tih strategija je rano ukidanje steroida nakon transplantacije bubrega.[11] Ukidanjem steroida smanjuju se brojni rizični čimbenici (hipertenzija, hiperlipidemija, povećanje težine, novonastala šećerna bolest nakon transplantacije) koji su potencijalni uzrok kardiovaskularnih bolesti i smrtnosti bolesnika nakon transplantacije [12–16].

Više randomiziranih studija je dokazalo jednaku učinkovitost protokola prema kojima se steroidi ukidaju kratko nakon transplantacije bubrega. Ipak, uočena je i povećana incidencija akutnih odbacivanja kod bolesnika liječenih prema protokolima s brzim ukidanjem steroida, od čega je većina bila blagog stupnja (IA) i bez utjecaja na dugoročni ishod transplantacije [17, 18]. Glavni nedostatak navedenih studija je neizvođenje protokolarnih biopsija koje bi pokazale stvarnu incidenciju akutnih i subakutnih odbacivanja te subakutne upale u presatku. Naime, akutna i subakutna odbacivanja te subakutna upala su glavni uzroci intersticijske fibroze i tubularne atrofije (IF/TA), patohistološke promjene koja je vodeći uzrok gubitka presatka [19–21]. Povećani broj akutnih odbacivanja te nedostatak publiciranih studija s dugoročnim praćenjem takvih bolesnika, uključujući nedostatno istraživanje novonastalih donor-specifičnih protutijela, doveo je do pada trenda korištenja protokola imunosupresije s ranim ukidanjem steroida.

Cilj naše studije je odrediti progresiju IF/TA-e u prvoj godini nakon transplantacije kod bolesnika koji su primali imunosupresiju koja uključuje steroide i bolesnika kod kojih su oni ukinuti ubrzo nakon transplantacije te odrediti čimbenike koji utječu na progresiju IF/TA-e tijekom prve godine nakon transplantacije. Planira se utvrditi vrijednost epitelno-mezenhimalne tranzicije u biopsijama bubrega učinjenim 1 i/ili 3 mjeseca od transplantacije kao možebitnog prediktora progresije IF/TA-e na biopsijama unutar godine dana od transplantacije bubrega. Ta metoda bi omogućila individualiziranu imunosupresiju rano nakon transplantacije bubrega s ciljem smanjenja kroničnih promjena u kasnijem tijeku transplantacije i time možebitnog produljenja preživljenja bolesnika i transplantata.

1.2 Imunosupresijski protokoli

Kratkoročni i dugoročni ishodi transplantacije bubrega su znatno poboljšani posljednjih desetljeća. Jedan od najvećih zahtjeva u transplantacijskoj medicini je prilagodba imunosupresije kako bi se negativne posljedice iste svele na najmanju moguću mjeru. Steroidi su dugo vremena bili neizostavni dio imunosupresijskih protokola u transplantaciji bubrega. Dugotrajna upotreba steroida ima brojne nuspojave kao što su razvoj ili pogoršanje hipertenzije, dislipidemije, šećerne bolesti, osteoporoze, nastanak katarakte i povećanje tjelesne težine. Zbog ovih negativnih učinaka pokušavaju se uspostaviti protokoli imunosupresije bez trajne primjene steroida. Upotrebom suvremenih imunosupresiva kao što su antitimocitni imunoglobulini, odnosno antagonisti IL-2 receptora (daklizumab ili basiliksimab) u indukciji imunosupresije te kalcineurinskih inhibitora (osobito takrolimusa) u kombinaciji s preparatima mikofenolne kiseline (mikofenolat mofetil ili mikofenolat natrij) u održavanju imunosupresije omogućeno je rano ukidanje steroida bez negativnih posljedica na kratkoročno i dugoročno preživljenje bolesnika i presađenog bubrega. Studija Grewala i suradnika iz 1998. godine je pokazala dobre rezultate transplantacije bubrega uz protokol s ranim ukidanjem steroida uz mikofenolat mofetil i takrolimus u imunosupresiji te dala podlogu za pokretanje velikih prospektivnih, multicentričnih studija koje su imale za cilj potvrditi te rezultate [22]. FREEDOM studija je prva randomizirana multicentrična, prospektivna studija koja je dokazala da nema razlike između preživljenja primatelja i transplantiranog bubrega 12 mjeseci od transplantacije između protokola imunosupresije s ranim ukidanjem steroida te protokola gdje su steroidi sastavni dio imunosupresije uz mikofenolat natrij i ciklosporin te basiliksimab u indukcijskoj imunosupresiji [17]. Međutim, u toj studiji je bubrežna funkcija prema unaprijed određenim mjerama neinferiornosti bila statistički (iako ne i klinički relevantno) lošija u skupini s ranim ukidanjem steroida. Nakon toga su publicirani rezultati ASTELLAS studije, randomizirane, multicentrične, dvostruko slijepe prospektivne studije uz imunosupresiju održavanja s mikofenolat mofetilom i takrolimusom i indukcijom ovisno o pojedinom transplantacijskom centru (daklizumab, basiliksimab, antitimocitni globulin) [18]. Ova studija je dokazala petogodišnju ekvivalentnost protokola ranog ukidanja steroida u odnosu na protokol sa steroidima.

Preživljenje bolesnika, presatka te bubrežna funkcija bili su jednaki u pojedinim skupinama uz istodobno smanjenje kardiovaskularnih čimbenika rizika (tjelesna težina, trigliceridi, krvni tlak, novonastala šećerna bolest nakon transplantacije) u odsutnosti steroida. U više retrospektivnih studija su objavljeni različiti rezultati učestalosti akutnog odbacivanja pri korištenju imunosupresivnih protokola s ranim ukidanjem steroida u odnosu na protokole sa steroidima, dok je u ove dvije prospektivne studije incidencija biopsijom dokazanog akutnog odbacivanja bila veća u skupini s ranim ukidanjem steroida. Uz to je ASTELLAS studija pokazala veću učestalost kronične nefropatije alografta u skupini s ranim ukidanjem steroida (9.9 % *vs*. 4.1%, p=0.028). I ASTELLAS i FREEDOM studija imaju svoja ograničenja: nisu rađene implantacijske (nulte) biopsije kao ni protokol biopsije koje bi pokazale stvarnu učestalost i tijek kronične nefropatije alografta uz protokol s ranim ukidanjem steroida u usporedbi s protokolom sa steroidima. Zbog toga što nisu rađene protokol biopsije, nije bilo moguće pokazati stvarnu incidenciju subkliničkog odbacivanja i upale koji bi mogli biti odgovorni za ovu razliku u učestalosti kronične nefropatije alografta među pojedinim protokolima imunosupresije.

Godine 2016. je publicirana randomizirana, multicentrična, prospektivna HARMONY studija [23]. Studija je uspoređivala tri imunosupresivna protokola: indukcijsku imunosupresiju basiliksimabom s niskom dozom takrolimusa, mikofenolat mofetilom i standardnom dozom steroida; basiliksimab s niskom dozom takrolimusa, mikofenolat mofetilom i uz rano ukidanje steroida i treća skupina su bili bolesnici koji su u indukciji imali ATG s brzim ukidanjem steroida. 12 mjeseci od randomizacije nije bilo statistički značajne razlike u primarnoj mjeri ishoda, incidenciji akutnog odbacivanja među skupinama. Nije uočena razlika ni u preživljenju presatka i bubrežnoj funkciji među pojedinim skupinama nakon 12 mjeseci, no pokazalo se da su bolesnici u skupinama s brzim ukidanjem steroida imali manje novonastale šećerne bolesti (NODAT) i osteoporoze nakon transplantacije. Ovom studijom je dokazana ekvivalentnost imunosupresivnih protokola održavanja s brzim ukidanjem steroida u odnosu na protokole u kojima su steroidi trajno korišteni. Nedostatak HARMONY studije je relativno kratko praćenje 1. godine poslije transplantacije te nedostatak protokol biopsija koje bi pokazale stvarnu incidenciju subkliničkih akutnih odbacivanja i progresiju kroničnih promjena. Usprkos svim ovim studijama u kojima je prikazana jasna korist imunosupresivnih protokola s brzim ukidanjem steroida nakon transplantacije bubrega, trend upotrebe tih protokola u SAD-u opada [24]. Razloge treba tražiti u zabrinutosti za povećanu incidenciju akutnog odbacivanja te kroničnog humoralnog odbacivanja.

U Cochran metaanalizi Hallera i suradnika iz 2016. godine, u koju je uključeno 48 studija, analizirani su protokoli imunosupresije sa steroidima ili s isključivanjem steroida u različitim vremenskim intervalima nakon transplantacije bubrega [25]. Zaključak metaanalize je bio da je ukidanje steroida sigurno i bez utjecaja na preživljenje bolesnika i presatka. I u toj metaanalizi je nađena veća incidencija akutnih odbacivanja u protokolima s ranim ukidanjem steroida. Upravo je povećana incidencija akutnih odbacivanja obeshrabrila kliničare da u većem broju ukidaju steroide rano nakon transplantacije bubrega. Korištenje protokol biopsija bubrega kojima bi se utvrdila stvarna incidencija akutnih i subakutnih kliničkih odbacivanja kao i omogućilo individualizirano vođenje imunosupresije na temelju istih, moglo bi biti rješenje ovoga problema.

1.3 Intersticijska fibroza i tubularna atrofija

Intersticijska fibroza i tubularna atrofija (IF/TA) je glavna patohistološka odrednica kroničnog gubitka funkcije presatka (raniji naziv kronična nefropatija alografta) [26]. IF/TA je, uz smrt s presatkom u funkciji, glavni uzrok kasnog gubitka presatka [27–31]. Taj proces je nespecifičan, ireverzibilan i progresivan te utječe na morbiditet i mortalitet transplantiranih bolesnika [32]. Klinički čimbenici koji utječu na nastanak IF/TA-e su: starija dob primatelja, HLA nepodudarnost, prethodno akutno odbacivanje, upotreba kalcineurinskih inhibitora te BK virusna nefropatija [31, 33, 34].

Patohistološke promjene u bioptatu bubrega godinu dana nakon transplantacije dobro koreliraju s dugoročnim preživljenjem bubrega te su bolji i raniji pretkazatelj preživljenja bubrega od serumskog kreatinina [35, 36]. Studije s protokolarnim biopsijama su pokazale progresiju IF/TA-e 12 mjeseci od transplantacije dok je većina fibroze bila vidljiva već u ranim protokolarnim biopsijama (1 i 3 mjeseca od transplantacije) [33, 37]. Nalaz IF/TA-e u protokolarnim biopsijama već kratko nakon transplantacije se pripisuje stresu pri implantaciji bubrega (vrijeme hladne i tople ishemije, odgođena funkcija presatka, subakutna odbacivanja) [38, 39]. Rana akutna i subklinička odbacivanja su rizični čimbenik za nastanak *de novo* donor specifičnih protutijela (DSA) i kroničnog humoralnog odbacivanja koje je jedan od glavnih uzroka kasnog gubitka presatka [40, 41]. Više studija je dokazalo da je subklinička upala važniji prognostički faktor za progresiju IF/TA-e i *de novo* DSA od akutnih odbacivanja [42, 43]. Uzrok tome je vjerojatno što se takva upala i granična odbacivanja ne liječe, naspram akutnih odbacivanja koja se uvijek liječe. U studiji Mehta i suradnika analiziran je utjecaj subkliničke upale na protokol biopsijama 3 mjeseca od transplantacije na bubrežnu funkciju, kronične promjene, nastanak *de novo* DSA te incidenciju akutnih odbacivanja [44]. Uključeno je 200 bolesnika (71 bez subkliničke upale i 129 s upalom) s imunosupresijom održavanja uz takrolimus i MMF uz brzo ukidanje steroida, a u indukciji je korišten antitimocitni globulin. U grupi bolesnika bez subkliničke upale (i+t skor=0) 24 mjeseca nakon transplantacije serumski kreatinin je bio 123 ± 40 u odnosu na 146 ± 79 μmol/L, p=0.027 u bolesnika sa subkliničkom upalom (i+t>0). Nastanak *de novo* DSA 12 mjeseci nakon transplantacije bio je veći u skupini sa subkliničkom upalom 12/129 *vs*. 1/71, p=0.03. Kronični skor presatka (ci+ct+cg+cv) bio je veći 12 mjeseci nakon transplantacije u skupini sa subkliničkim odbacivanjem (2.4 ± 1.35 *vs*. 1.9 ± 1.2, p=0.02).

Rano ukidanje steroida povezano je s povećanom incidencijom akutnog odbacivanja, od kojih je većina bila blaži stupanj IA odbacivanja po Banff klasifikaciji. U ranije navedenim randomiziranim studijama ASTELLAS i FREEDOM ta povećana incidencija nije imala utjecaja na bubrežnu funkciju u kasnijem praćenju bolesnika (u ASTELLAS studiji 5 godina od transplantacije).

Subklinička upala i odbacivanje dovode do IF/TA-e te negativno utječu na dugoročno preživljenje grafta. Studija Heilmana i sur. pokazala je da i u slučaju imunosupresije s ranim ukidanjem steroida subklinička upala te subkliničko odbacivanje, uključujući i granično odbacivanje na protokol biopsijama 1 i/ili 4 mjeseca od transplantacije utječe na nastanak IF/TA-e bubrega 1 godinu nakon transplantacije [21]. Zanimljivo je da u navedenom istraživanju kliničko akutno odbacivanje nije bilo povezano s kasnijim nastankom IF/TA-e. Razlog tome je vjerojatno što je kliničko odbacivanje, za razliku od subkliničkog, bilo liječeno pulsnim dozama steroida kroz 3 dana te su steroidi potom uvedeni trajno u terapiju.

Studija Matasa i sur. s Mayo klinike pokazala je odlične 10 i 15-godišnje rezultate preživljenja bolesnika i presatka u skupini s brzim ukidanjem steroida [45, 46]. U studiju je bio uključen 1021 bolesnik s transplantatom od živog donora i 532 s preminulog donora. Uspoređivani su s kohortnom, historijskom grupom bolesnika koji su imali u terapiji održavanja steroide. Bolesnici kod kojih su steroidi rano ukidani imali su bolje rezultate preživljenja presatka te preživljenja presatka cenzoriranog za smrt bolesnika u skupini. Nije bilo razlike u incidenciji akutnih i kroničnih odbacivanja niti u bubrežnoj funkciji. Bolesnici s brzim ukidanjem steroida su imali značajno manju incidenciju avaskularne nekroze kuka, NODAT-a, katarakte, CMV infekcije i srčanih komplikacija.

Ovo su prve studije u kojima su objavljeni dugogodišnji rezultati imunosupresije s ranim ukidanjem steroida. Nedostatak ovih studija je retrospektivni karakter te različita vremenska razdoblja transplantacije između skupina koje su uspoređivane. U različitim vremenskim razdobljima bila je korištena različita vrsta imunosupresije održavanja (ciklosporin-MMF, visoka konc. takrolimusa - niska konc. sirolimusa, niska konc. takrolimusa i visoka konc. sirolimusa) antitimocitni globulin korišten je u indukcijskoj imunosupresiji. Antitimocitni globulin je poliklonsko protutijelo čiji glavni mehanizam je deplecija T limfocita te je u više kliničkih studija dokazan kao neovisni čimbenik za nastanak infekcija [47–50].

U retrospektivnoj studiji Mihovilovića i sur., u kojoj je analiziran učinak doze MMF na progresiju IF/TA-e 12 mjeseci od transplantacije, protokol s brzim ukidanjem steroida nije imao utjecaja na bubrežnu funkciju. Prema multivarijatnoj analizi bolesnici s brzim ukidanjem steroida imali su sporiju progresiju intersticijske fibroze dok za tubularnu atrofiju protokol s brzim ukidanjem steroida nije bio neovisni čimbenik progresije [51].

S obzirom da je serumski kreatinin kasni pokazatelj stvarnih zbivanja u bubregu, protokol biopsije bubrega mogle bi pomoći u praćenju i pravodobnom liječenju transplantiranih bolesnika s brzim ukidanjem steroida. Doza imunosupresije bi se mogla individualizirati u ranom poslijetransplantacijskom tijeku prema nalazu protokol biopsija 1 i/ili 3 mjeseca od transplantacije i na taj način prevenirati nastanak kasnijih kroničnih promjena.

1.4 Epitelno-mezenhimna tranzicija

Mehanizmi nastanka IF/TA-e nisu dobro razjašnjeni. U pokusnih životinja jedan je od glavnih mehanizama nastanka IF/TA-e epitelno-mezenhimna tranzicija (EMT) [52, 53]. EMT se objašnjava kao proces u kojem stanice postoje istodobno u oba stanja, epitelnom i mezenhimalnom, a ovisno o vanjskom utjecaju poprimaju definitivni oblik jednog od tih stanja, događa se fenotipski obrat (*phenotype switch*) [54]. Neovisno o mehanizmu nastanka sam proces EMT je nepobitan i važan u embriogenezi, oporavku tkiva od ozljede, rastu tumora i metastaziranju [55, 56].

Od nedavno se pokušava i proces endotelno-mezenhimne tranzicije (EnMT) dovesti u vezu s nastankom fibroze bubrega [57]. Na raznim eksperimentalnim modelima bubrežne bolesti pokazano je da proces EMT može biti preveniran te zaustavljen [58–61]. Na modelu stanične kulture proksimalnih tubula pokazano je da mikofenolat, ciklosporin, sirolimus te metilprednizolon mogu zaustaviti EMT te omogućiti rediferencijaciju miofibroblasta u epitelne stanice [62].

Studija Hertiga i sur. na biopsijama bubrega 3 mj. od transplantacije je pokazala da je EMT rani marker nastanka IF/TA-e na biopsijama bubrega 12 mj. poslije transplantacije [63]. U studiju su bila uključena 83 bolesnika kojima su napravljene protokol biopsije 3 i 12 mj. od transplantacije. Markeri EMT su bili β-katenin (marker epitelnih stanica) i vimentin (marker mezenhimalnih stanica). Prisutnost vimentina i translokacija β-katenina s bazalne strane tubula te gubitak ekspresije na istoj i translokacija u citoplasmu smatrani su kao pozitivni EMT. U grupi bolesnika s EMT-om (21 bolesnik) bilo je prisutno više subkliničkih akutnih odbacivanja (22 *vs.* 9.8%) i više intersticijske (0.71±0.2 vs.0.2±01., p=0.004) i tubularne upale (0.86 ± 0.3 vs. 0.39 ± 0.1, p=0.02). Samo su EMT na 3 mj. i i-skor na 12 mj. ostali neovisni rizični čimbenici za progresiju IF/TA-e više od 1 (ΔIF/TA).

Studija Rostaing i sur., Certitem studija, je prospektivna, randomizirana studija koja je analizirala progresiju IF/TA-e od 3 do 12 mj. poslije transplantacije bubrega prema profilu EMT-a na biopsijama bubrega 3 mj. od transplantacije [64]. Randomizacija je učinjena 3 mj. od transplantacije te su bolesnici dobivali everolimus u protokolu s ukidanjem CNI-a ili su nastavili s CNI-om u terapiji održavanja. Bolesnici su randomizirani prema EMT statusu na biopsijama bubrega 3 mj. od transplantacije: EMT pozitivni (EMT +) ili EMT negativni (EMT-). Randomizirana su 194 bolesnika (75 EMT+, 119 EMT-) te je 154 bolesnika završilo

studiju i imalo adekvatne biopsije za analizu. Hipoteza studije je bila da će bolesnici s EMT+ biopsijama nakon 3 mj. imati manju progresiju IF/TA-e u skupini s ukidanjem CNI-a od bolesnika s CNI-om u imunosupresiji održavanja. Progresija IF/TA-e nije bila statistički značajna između pojedinih imunosupresivnih protokola s EMT+ u vrijeme randomizacije (46.2% vs. 51.6%, p=0.68). Razlika udjela bolesnika bez progresije IF/TA-e između EMT+ vs. EMT- je bila statistički značajna (56.3 % vs. 31 %, p=0.002). Veća incidencija subkliničkih akutnih odbacivanja na 12 mj. protokol biopsijama bila je u skupini imunosupresije s ukidanjem CNI-a (25 % vs. 5.1%, p<0.001). Zaključak studije je da protokol imunosupresije bez CNI-a nema učinak na progresiju IF/TA-e dok je značajno veća incidencija subkliničkih akutnih odbacivanja korištenjem takvih protokola imunosupresije.

U studiji Xu-Dubois i sur. EnMT markeri (fascin 1, vimentin i hsp 47) detektiraju aktivaciju endotela sa DSA, uz sposobnost da se imunohistokemijski dokaže (84% specifičnosti i 100 % senzitivnost) akutno odbacivanje posredovano protutijelima s navedenim markerima koji su pokazani i kao neovisni prediktori kasne (4 god. nakon biopsije) lošije funkcije presatka [65].

Cilj naše studije je analizirati prediktivnu vrijednost EMT na protokol biopsijama bubrega 1 ili 3 mj. za progresiju IF/TA-e unutar 1. god. od transplantacije među skupinama imunosupresije s brzim ukidanjem steroida i onih koji imaju steroide u imunosupresiji održavanja.

2. HIPOTEZA

Rano ukidanje steroida u bolesnika s transplantiranim bubregom ili kombiniranom transplantacijom bubrega i gušterače će biti jednako učinkovito protokolu sa steroidima u imunosupresiji održavanja.

3.CILJEVI

3.1 Opći cilj

- odrediti utjecaj ranoga ukidanja steroida na dugoročni ishod transplantacije bubrega u bolesnika s presađenim bubregom ili kombiniranom transplantacijom bubrega i gušterače

3.2 Specifični ciljevi

- odrediti i usporediti dugoročno preživljenje bolesnika i presađenog bubrega ili gušterače te funkciju presađenog bubrega među skupinama imunosupresije (IS) sa ili bez steroida

- odrediti učestalost kliničkog i subkliničkog akutnog odbacivanja u skupinama IS sa i bez steroida

- utvrditi razlike u težini akutnog odbacivanja u skupinama IS sa i bez steroida

- odrediti utjecaj subkliničkog i kliničkog akutnog odbacivanja, uključujući i granično odbacivanje na dugoročno preživljenje, funkciju i IF/TA-u bubrežnog presatka u skupinama IS sa i bez steroida

- utvrditi progresiju IF/TA-e tijekom prve godine nakon presađivanja bubrega u skupinama IS sa i bez steroida

- utvrditi incidenciju intersticijske upale (ti score) na biopsijama bubrega 12 mj. poslije transplantacije u skupinama IS sa i bez steroida

- istražiti pojavnost epitelno-mezenhimalne tranzicije u ranim biopsijama bubrega (1 mj. nakon transplantacije bubrega) i njihovu povezanost s pojavom IF/TA-e u kasnijim biopsijama

4. ISPITANICI I METODE

4.1 Ispitanici

Retrospektivna studija provedena u Kliničkoj bolnici Merkur na skupini 124 transplantirana bolesnika. U studiju su bili uključeni bolesnici s transplantiranim bubregom te bubregom i gušteračom u razdoblju od 2007. do 2014. godine. U prvom dijelu tog razdoblja su u KB Merkur, uz istu indukcijsku imunosupresiju (daklizumab ili basiliksimab) i istu temeljnu imunosupresiju održavanja (kalcineurinski inhibitor i mikofenolat mofetil), transplantirani bolesnici niskog imunološkog rizika, s izostankom odgođene funkcije bubrežnog presatka, u imunosupresiji trajno dobivali steroide (razdoblje 2007. – 2010. god.), dok je u drugom dijelu (od 2010.) dio bolesnika na protokolu ranoga ukidanja steroida. Kriterij za ukidanje steroida bila je, uz niski imunološki rizik i dobru neposrednu funkciju bubrega, odsutnost epizode akutnog odbacivanja unutar 5 dana nakon transplantacije.

Temeljem gore navedenog uključni kriteriji za ovu studiju su:

1. transplantirani bubreg te bubreg i gušterača bez odgođene funkcije bubrega. Odgođena funkcija bubrega je definirana kao potreba za dijalizom unutar tjedan dana od transplantacije.

2. odsutnost akutnog odbacivanja do 5. dana nakon transplantacije

3. odsutnost HLA senzibilizacije (PRA < 10%)

4. prva transplantacija bubrega.

Isključni kriterij:

Nedostatak implantacijskih (nultih) biopsija bubrega te biopsije bubrega na 12 mj. od transplantacije bubrega.

Podaci donora i transplantacije koji će se analizirati:

1. dob donora
2. spol donora
3. tip donora (sa živog donora ili kadavera)
4. tip transplantacije (bubrega ili SPKT)
5. vrijeme transplantacije
6. HLA nepodudarnost
7. imunosupresija bez steroida (da ili ne)
8. odgođena funkcija presatka.

Podaci primatelja koji će se analizirati:

1. dob primatelja
2. spol primatelja
3. osnovna bubrežna bolest
4. koncentracije ciklosporina i takrolimusa na 1, 3, 6 i 12 mj. od transplantacije
5. doza MMF-a na 1, 3, 6 i 12 mj. od transplantacije
6. incidencija akutnih odbacivanja
7. kronični skorovi (ci, ct, cg, mm, cv, ah) na nultim (implantacijskim) i 12 mj. biopsijama bubrega
8. skor upale (ti) na 12 mj. biopsijama bubrega.

4.2 Metode

4.2.1 Imunosupresija

Imunosupresija se sastojala od indukcije daklizumabom ili basiliksimabom, uz ciklosporin ili takrolimus te mikofenolat mofetil i steroide.

Daklizumab je apliciran na dan 0: 2 mg/kg i.v. prije otvaranja vaskularnih anastomoza te na dan 14: 2 mg/kg i.v.. Basiliksimab je davan na dan 0: 20 mg i.v. prije otvaranja vaskularnih anastomoza te na dan 4: 20 mg i.v..

U skupini s ranim ukidanjem steroida, steroidi su ukidani peti dan od transplantacije. Dozirani su prema protokolu: dan 0: intraoperativno metilprednizolon 500 mg, dan 1: 250 mg, dan 2: 125 mg, dan 3: 80 mg i dan 4: prednizolon 40 mg. U skupini s trajnom primjenom steroida doza prednizolona je postupno smanjivana tako da je nakon 6 mj. iznosila 5 – 10 mg dnevno. Ciljane koncentracije ciklosporina bile su 250–350 tijekom prvog mjeseca poslije Tx, 200–300 tijekom drugog do šestog te nakon toga 100–150 μg/L. Ciljane vrijednosti takrolimusa bile su 10–12 tijekom prvog mjeseca poslije Tx, 8–10 od drugog do šestog mjeseca te nakon toga 5–8 μg/L. Ciljane koncentracije mikofenolat mofetila bile 7.2 μmol/L i više uz takrolimus te 5 μmol/L i više uz ciklosporin.

Srednja vrijednost koncentracije takrolimusa i ciklosporina te doze mikofenolat mofetila tijekom prve godine od transplantacije izračunata je od vrijednosti istih na 1, 3, 6 i 12 mj. od transplantacije.

4.2.2 Protokol biopsije

Protokol biopsije rađene su na dan transplantacije te 1, 3, 6 i 12 mjeseci od transplantacije. Indikacijske biopsije su rađene kod sumnje na akutno odbacivanje te zbog pogoršanja bubrežne funkcije.

Akutna odbacivanja dokazana biopsijom bubrega, uključujući i supklinička, liječena su 3 dana sa po 500 mg metilprednizolona dnevno. Odbacivanja rezistentna na steroide liječena su antitimocitnim globulinom dok su humoralna odbacivanja liječena plazmaferezama. Skorovi

akutnih i kroničnih promjena biopsija bubrega analizirani su prema Banff klasifikaciji. Svi biokemijski parametri korišteni u studiji određeni su u biokemijskom laboratoriju KB Merkur. Klirens kreatinina procijenjen je pomoću formule The Modification of Diet in Renal Disease (MDRD). Tipizacija tkiva određena je u Zavodu za tipizaciju tkiva, KBC Zagreb. Svi patohistološki uzorci bubrega obrađeni su i analizirani na Odjelu za elektronsku mikroskopiju i imunofluorescenciju, Zavoda za patologiju KB Dubrava.

4.2.3 Kronični patohistološki skorovi i subklinička upala

Analizirani su kronični skorovi na implantacijskim biopsijama (nulta biopsija bubrega) i biopsijama bubrega 12 mj. od transplantacije. Skorovi koji su analizirani: intersticijska fibroza (ci), tubularna atrofija (ct), kronična glomerulopatija (cg), povećanje mezangijalnog matriksa (mm), vaskularna fibroza-zadebljanje intime (cv), hijalinoza arteriola (ah) te ti skor (subklinička upala). Skorovi su analizirani prema Banff klasifikaciji [66, 67]. Progresija skorova (delta) tijekom prve godine od transplantacije dobivena je oduzimanjem kroničnih skorova na nultoj biopsiji od kroničnih skorova na 12 mj. Skor totalne upale (ti) analiziran je na biopsijama bubrega 12 mj. od transplantacije. Vrijednosti skorova su 0 – 3.

4.2.4 Epitelno-mezenhimna tranzicija

EMT je analiziran imunohistokemijski, koekspresijom E-kadherina i α-glatkomišićnog aktina na protokol biopsijama bubrega 1 i 3 mj. od transplantacije. Analiziranje EMT i imunohistokemijsko bojenje za EMT napravljeno je na Zavodu za patologiju, KB Merkur. Parafinski uzorci biopsija bubrega su deparafinizirani. Učinjeno je razotkrivanje epitopa antigena u puferu Dako TRS high pH na temperaturi 97 °C u trajanju od 20 min. Uzorci su inkubirani primarnim protutijelom na E-kadherin (klon:NCH-38, lot br. 10129412) 20 min na 25 °C. Vizualizacija primarnog protutijela E-kadherina učinjena je uz EnVision Flex (K8000) inkubacijom na 25 °C u trajanju 20 min i završno bojenje inkubacijom kromogen DAB+ (DM827) 10 min na 25 °C. α-glatkomišićni aktin je bojen protutijelom na SMA (eng. smooth muscle actin) (Dako, klon 1A4) inkubacijom u trajanju 20 min na sobnoj temperaturi. Vizualizacija primarnog protutijela na SMA je napravljena pomoću EnVision Flex (K8000), uz vrijeme inkubacije 20 min pri sobnoj temperaturi. Kromogen koji je korišten je AEC, Dako (K3469) inkubirano 20 min na sobnoj temperaturi. Imunobojač koji je korišten za imunohistokemijsko bojenje je bio Dako, Autostainer Link 48.

4.3 Statistička obrada podataka

Numeričke varijable testirane su na normalnost raspodjele Shapiro-Wilksovim testom. Za testiranje razlika numeričkih varijabli (npr. dob donora i pacijenta, kreatinin i dr.) između grupa korišten je parametrijski test (t-test) u slučaju normalne raspodjele, a u slučaju odstupanja od normalne raspodjele neparametrijski testovi (Mann-Whitney U ili Kruskal-Walis). Distribucije su prikazane grafički i tablično. Za usporedbu grupa prema nominalnim kategorijskim varijablama (npr. spol, vrsta imunosupresije i dr.) korišten je Hi-kvadrat test ili Fisherov egzaktni test. Proporcije (incidencije) su prikazane s pripadajućim intervalima pouzdanosti dobivenih Waldovom metodom. Analiza incidencije akutnog odbacivanja te preživljenja presatka i transplantiranog pacijenta provedena je Kaplan-Mayerovom metodom i Coxovom regresijom. Numeričke varijable u slučaju normalne distribucije prikazane su kao srednja vrijednost ± standardna devijacija a u slučaju nepravilne distribucije kao medijan s rasponom. Razina statističke značajnosti za ovo istraživanje određena je na $\alpha=0.05$.

4.4 Etička načela istraživanja

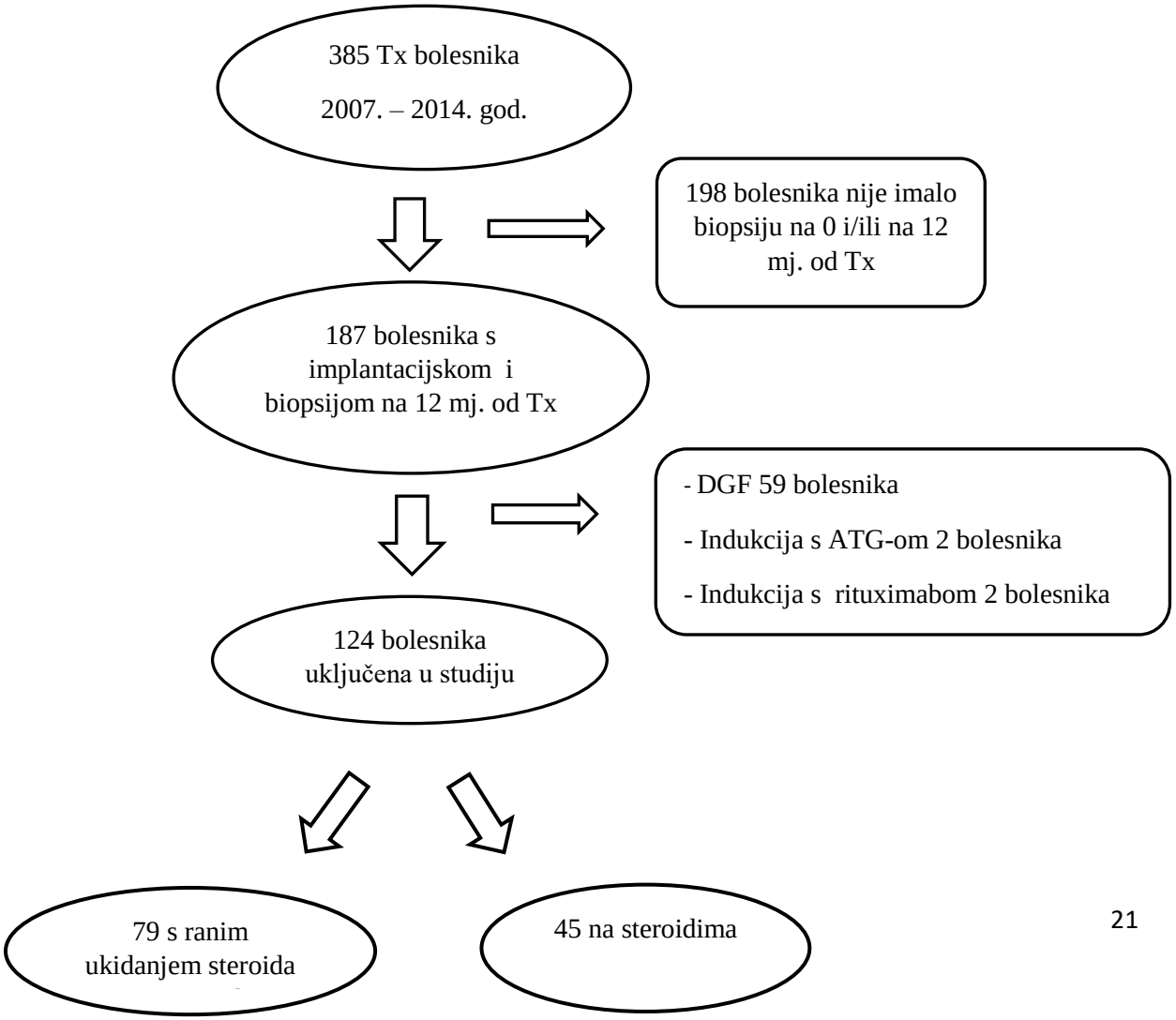
Istraživanje je odobrilo Etičko povjerenstvo Kliničke bolnice Merkur te Etičko povjerenstvo Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Istraživanje je provedeno u skladu s Osnovama dobre kliničke prakse, Helsinškom deklaracijom, Zakonom o zdravstvenoj zaštiti Republike Hrvatske te Zakonom o pravima pacijenata Republike Hrvatske.

5. REZULTATI

5.1 Pregled uključivanja bolesnika u studiju

Bolesnici sa transplantiranim bubregom ili simultano bubregom i gušteračom transplantirani 2007. – 2014. god. razmatrani su za uključivanje u studiju. Od 2007 do 2014. god. transplantirano je ukupno 385 bolesnika. Od 385 transplantiranih bolesnika, 187 bolesnika imalo je implantacijsku biopsiju i biopsiju bubrega na 12 mj. od transplantacije. Nadalje 124 bolesnika zadovoljila su uključne kriterije studije, učinjena nulta (implantacijska) i 12 mj. biopsija nakon transplantacije, nisu imali odgođenu funkciju presatka te su u indukciji imunosupresije imali protutijelo na IL-2 receptor. Detaljni pregled bolesnika uključenih u studiju prikazan je na slici 1.

Slika 1. Uključivanje bolesnika u studiju



U studiju su uključeni bolesnici s niskim imunološkim rizikom bez odgođene funkcije presatka te one koji nisu imali epizodu akutnog odbacivanja do 5 dana poslije transplantacije kada su se ukidali steroidi. Odluka o ukidanju steroida bila je prepuštena nadležnom liječniku koji je u tom trenutku vodio brigu o bolesniku. 198 bolesnika nije imalo biopsiju presatka pri implantaciji i/ili na 12 mj. od transplantacije. Indukcijska imunosupresija kod svih bolesnika uključenih u studiju bila je s protutijelom na IL-2 receptor (daklizumab ili basiliksimab), kalcineurinski inhibitor (takrolimus ili ciklosporin), mikofenolat mofetil ± steroidi.

5.1.1 Demografske karakteristike bolesnika

U studiju su uključena 124 bolesnika s transplantiranim bubregom ili bubregom i gušteračom koji su transplantirani u vremenskom razdoblju 2007. – 2014. god. na KB Merkur. Svi bolesnici su u indukcijskoj imunosupresiji imali protutijelo na IL-2 receptor. Klinička obilježja bolesnika i transplantacije podijeljena prema upotrebi steroida u imunosupresiji održavanja prikazana su u tablici 1.

Tablica 1. Demografska obilježja bolesnika

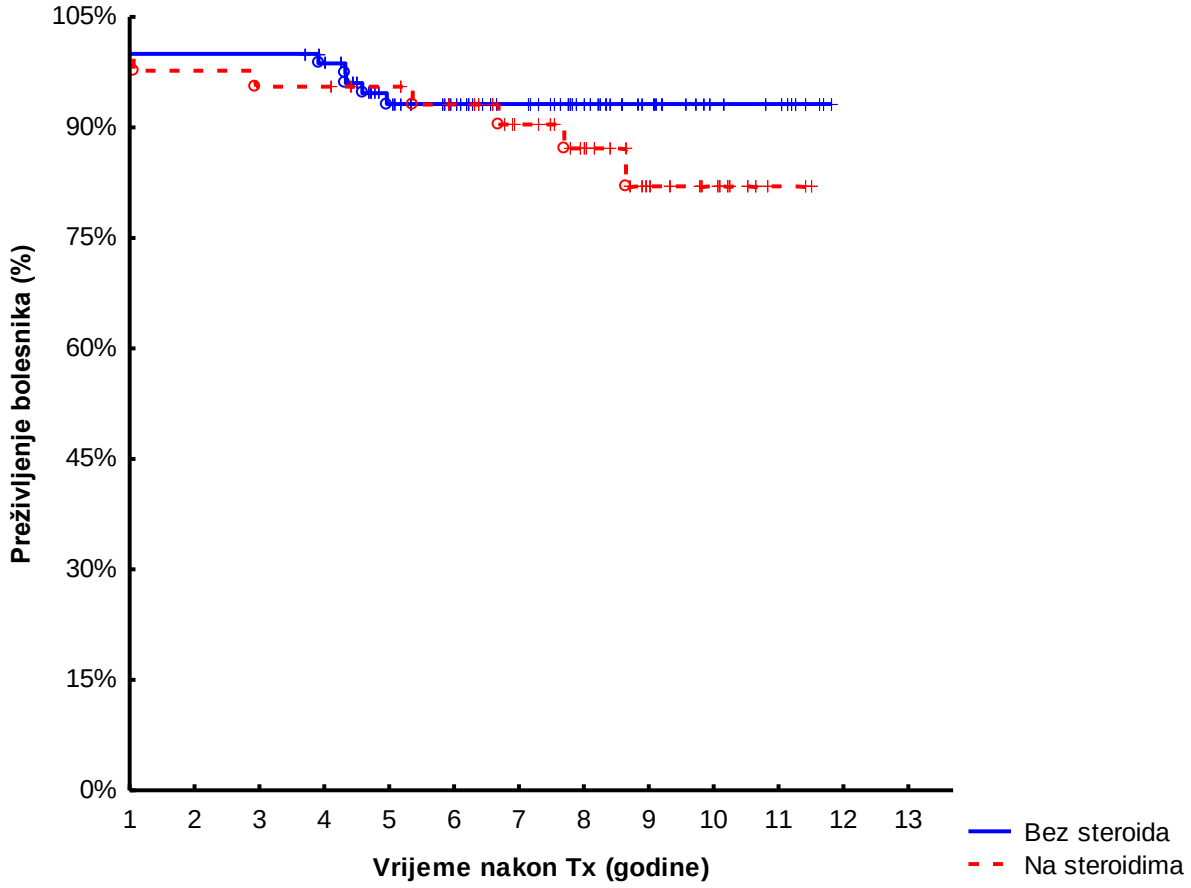
	Rano ukidanje steroida N=79	Na steroidima N=45
KARAKTERISTIKE PRIMATELJA		
- Spol primatelja (m,ž)	56/23	28/17
- Dob primatelja (god.)	45.15±12.37	44.24±11.61
- Osnovna bubrežna bolest (glomerulonefritis, dijabetička nefropatija, policistična bolest, ostalo)	29/14/10/26	14/18/2/11
KARAKTERISTIKE DONORA		
- Tip donora (preminuli/živi)	52/27	35/10
- Spol donora (m, ž)	42/37	28/17
- Dob donora (god.)	46.16 ± 14.91	39.89 ± 17.52
KARAKTERISTIKE TRANSPLANTACIJE		
- Tip transplantacije (bubreg/SPKT)	69/10	27/18
- Tip CNI-a (takrolimus/ciklosporin)	70/9	42/3
- HLA MM	3.37 ± 1.52	3.8 ± 1.34

Najčešći uzrok bubrežne bolesti je bio glomerulonefritis, dijabetička nefropatija i policistična bolest bubrega. U skupini s brzim ukidanjem steroida bilo je više transplantacija sa živog donora (34 % vs. 22%) te manje simultanih transplantacija bubrega i gušterače (13 % vs. 40%). Nije bilo značajne razlike u dobi primatelja i donora te HLA nepodudarnosti među pojedinim skupinama.

5.2 Preživljenje bolesnika između skupina imunosupresije s ranim ukidanjem steroida i na steroidima

Na slici 1 prikazano je dugoročno preživljenje bolesnika između skupina bolesnika s ranim ukidanjem steroida i na steroidima.

Slika 1. Preživljenje bolesnika u grupama imunosupresije s ranim ukidanjem steroida i na steroidima



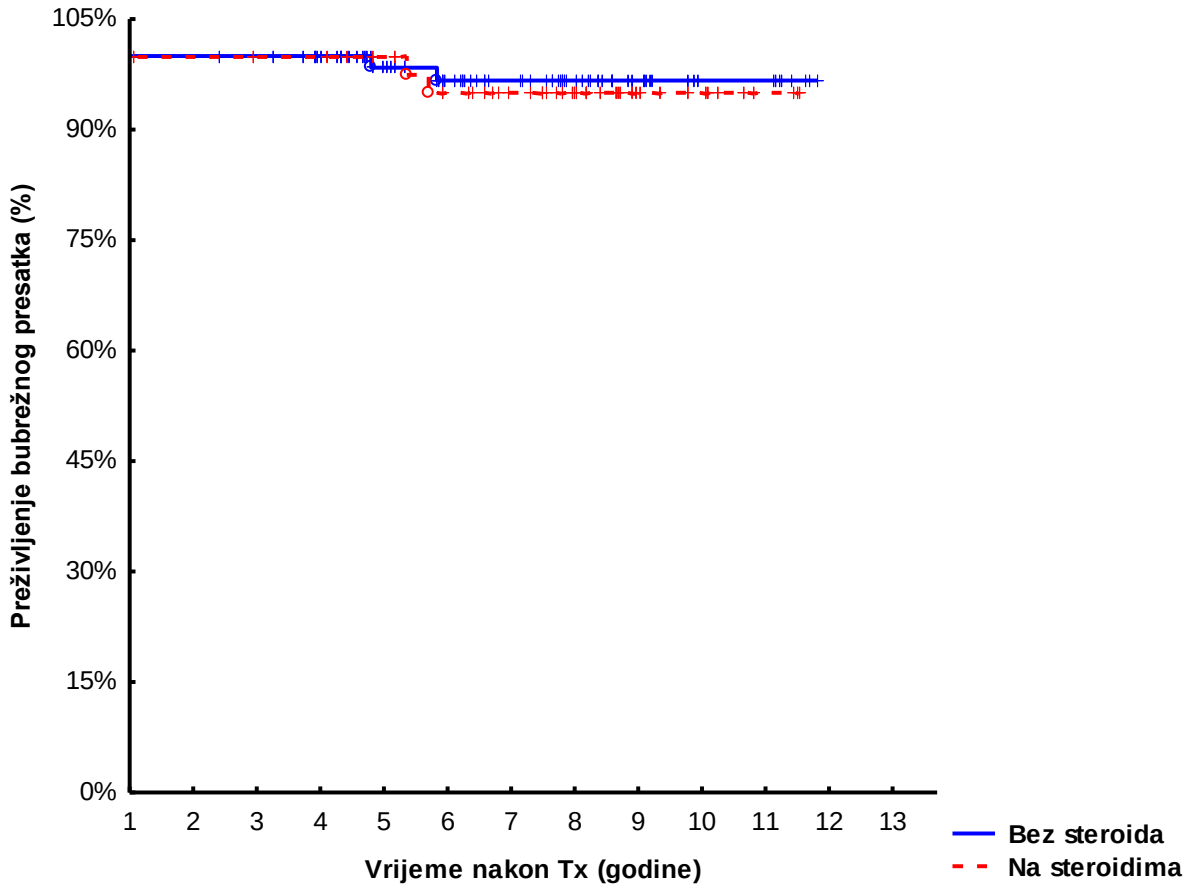
Legenda: Log-rank test, p=0.28

Nije bilo statistički značajne razlike između pojedinih skupina (Log-rank test, p=0.28). 5-godišnje preživljenje bolesnika u skupini s ranim ukidanjem steroida bilo je 94.7 % *vs.* 95.5 % u skupini bolesnika koji su na steroidima.

5.2.1 Preživljenje bubrežnog presatka u ovisnosti o steroidima

Na slici 2 prikazano je preživljenje bubrega cenzurirano za smrt bolesnika između pojedinih skupina imunosupresije s ranim ukidanjem steroida i na steroidima.

Slika 2. Preživljenje bubrega cenzurirano za smrt bolesnika u grupama imunosupresije s ranim ukidanjem steroida i na steroidima

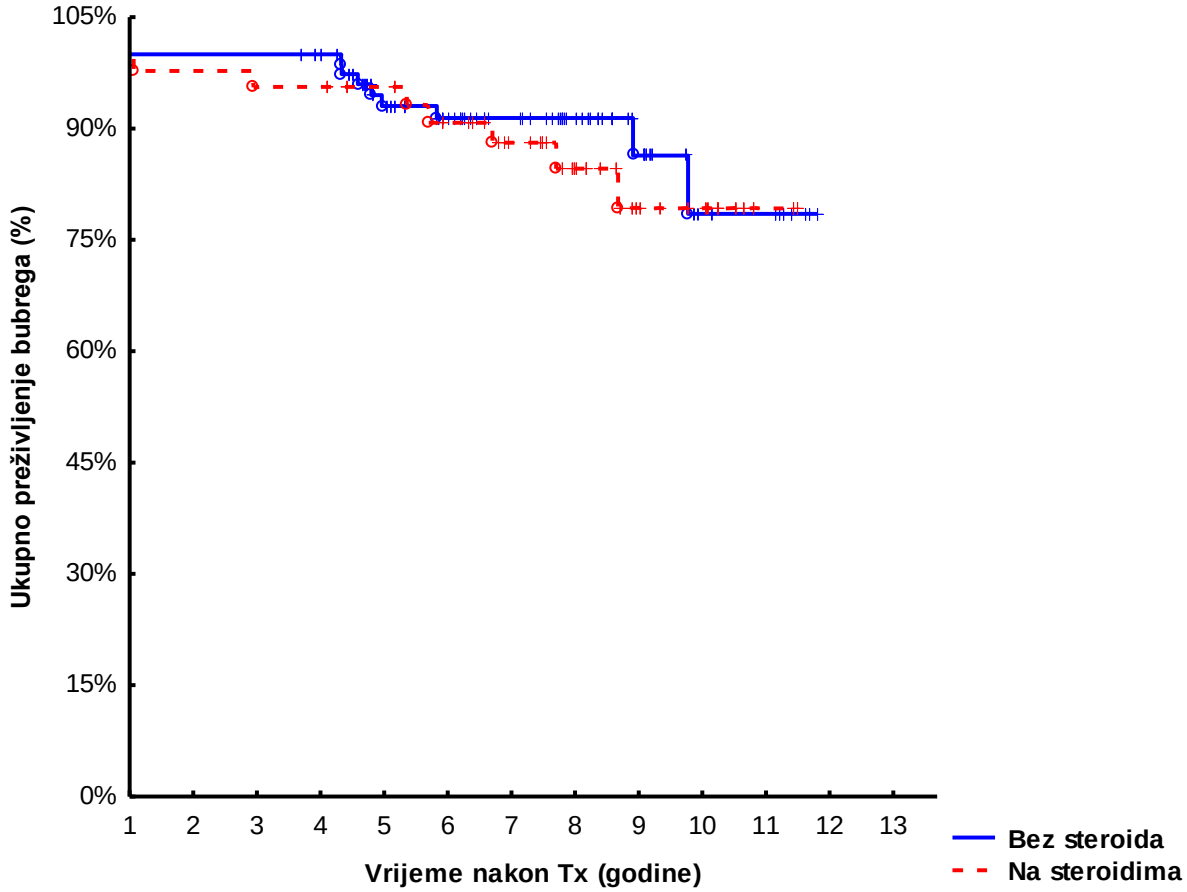


Legenda: Log-rank test, p=0.68

Nema statistički značajne razlike u dugoročnom preživljenju bubrega između pojedinih skupina imunosupresije sa i bez steroida (Log-rank test, p=0.68). 5-godišnje preživljenje presatka u skupini s ranim ukidanjem steroida je 97 % *vs*. 95 % u skupini bolesnika koji su na steroidima.

Na slici 3 prikazano je ukupno preživljenje bubrega u ovisnosti o steroidima

Slika 3. Ukupno preživljenje bubrega u grupama imunosupresije s ranim ukidanjem steroida i na steroidima



Legenda: Log-rank test, p=0.58

Između pojedinih skupina imunosupresije nema statistički značajne razlike (Log-rang test, p=0.58). 5-godišnje preživljenje presatka u obje skupine je 96 %.

Univarijatna analiza čimbenika koji utječu na ukupno preživljenje presatka

U tablici 2 su analizirani čimbenici koji utječu na ukupni gubitak presatka.

Tablica 2. Univarijatna analiza čimbenika koji utječu na gubitak presatka

Gubitak presatka (da/ne)		**p**
Tip transplantacije (bubreg *vs.* SPKT)	14/82 *vs*. 1/27	0.16
Spol primatelja (muškarci *vs*. žene)	11/73 *vs*. 4/36	0.62
Spol donora (muškarci *vs*. žene)	7/63 *vs*. 8/46	0.41
Tip donora (živi *vs.* preminuli)	4/33 *vs*. 11/76	0.77
Rano ukidanje steroida (da *vs.* ne)	8/71 *vs*. 7/38	0.37
Akutno odbacivanje (da *vs*. ne)	6/28 *vs*. 9/81	0.24
Tip CNI-a (takrolimus *vs*. ciklosporin)	13/99 *vs*. 2/10	0.61

Gubitak presatka	**Da** **Ne**	**p**
Dob primatelja	43.81 ± 11.74 *vs*. 52.13 ± 12.18	0.02
Dob donora	43.4 ± 16.5 *vs*. 48.2 ± 12.94	0.36
HLA MM	3.53 ± 1.45 *vs*. 3.53 ± 1.64	0.59
Prosječna konc. takrolimusa u 1. god.	8.75 ± 1.71 *vs*. 8.37 ± 1.51	0.45
Prosječna konc. ciklosporina u 1. god.	264.05 ± 37.03 *vs*. 257 ± 38.89	0.89
Prosječna doza MMF-a	2340.83 vs. 507.83 *vs*. 2250 ± 554	0.28
Δci unutar 1. god. od Tx	0.52 ± 0.67 *vs*. 1 ± 0.76	0.01
Δct unutar 1. god. od Tx	0.52 ± 0.69 *vs*. 1 ± 0.76	0.04
ti skor na 12 mj.	0.53 ± 0.79 *vs*. 1 ± 1.04	0.07

U univarijatnoj analizi dob primatelja i progresija ci i ct skora unutar 1. god. od transplantacije utječu na ukupni gubitak presatka.

Multivarijatna analiza čimbenika koji utječu na ukupno preživljenje presatka

U multivarijatnu analizu uključeni su oni čimbenici koji su bilo signifikantni ili granično signifikantni u univarijatnoj analizi za ukupno preživljenje bubrežnog presatka. Zbog kolinearnosti Δci i Δct skora u mulitvarijatnu analizu uključen je samo Δci skor.

Tablica 3. Multivarijatna analiza čimbenika koji utječu na ukupno preživljenje bubrežnog presatka

	Beta (β)	SE (β)	p
Tip transplantacije (bubreg)	0.07	0.09	0.44
Δci skor unutar 1. god. od Tx	0.15	0.13	0.25
ti skor na 12 mj. od Tx	0.09	0.13	0.48
Dob primatelja	0.21	0.09	0.03

Legenda: Multivarijatna linearna regresijska analiza

U multivarijatnoj analizi čimbenika koji utječu na ukupno preživljenje bubrežnog presatka samo dob primatelja ostaje neovisni čimbenik za preživljenje presatka.

5.2.2 Funkcija presađenog bubrega između skupina imunosupresije s ranim ukidanjem steroida i na steroidima

U tablici 4 analizirana je bubrežna funkcija presatka 3, 6 i 12 mjeseci te 3 i 5 godina od transplantacije između skupina imunosupresije s ranim ukidanjem steroida i na steroidima.

Tablica 4. Funkcija presađenog bubrega izražena kao procijenjena glomerulska filtracija (eGFR) između skupina imunosupresije s ranim ukidanjem steroida i na steroidima

Bubrežna funkcija nakon Tx	Rano ukidanje steroida (eGFR; ml/min)	Na steroidima (eGFR; ml/min)	p
3 mj.	54.22 ± 16.39	50.52 ± 15.01	0.14
6 mj.	54.27 ± 16.75	56.84 ± 17.79	0.52
12 mj.	55.68 ± 17.63	59.84 ± 16.83	0.19
3 god.	62.95 ± 21.44	62.99 ± 18.75	0.62
5 god.	63.62 ± 20.57	65.82 ± 22.49	0.56

Između pojedinih skupina na imunosupresije s ranim ukidanjem steroida i na steroidima nema statistički značajne razlike u bubrežnoj funkciji presatka na gore navedenim vremenima nakon transplantacije.

Univarijatna analiza čimbenika koji utječu na funkciju bubrežnog presatka 5 godina od transplantacije

U tablici 5 analizirani su čimbenici koji utječu na funkciju bubrežnog presatka 5 godina od transplantacije.

Tablica 5. Univarijatna analiza čimbenika koji utječu na funkciju bubrežnog presatka 5 god. od transplantacije

	eGFR (ml/min)	**p**
Tip transplantacije (bubreg *vs.* SPKT)	58.78 ± 18.82 *vs*. 82.66 ± 18.23	<0.001
Spol primatelja (muškarci *vs*. žene)	64.12 ± 20.65 *vs*. 65.1 ± 22.72	0.95
Spol donora (muškarci *vs*. žene)	69.97 ± 20.43 *vs*. 57.51 ± 20.29	<0.001
Tip donora (živi *vs*. preminuli)	56.16 ± 14.21 *vs*. 68.12 ± 22.8	0.01
Rano ukidanje steroida (da *vs*. ne)	63.62 ± 20.57 *vs*. 65.82 ± 22.49	0.56
Akutno odbacivanje (da *vs*. ne)	60.03 ± 25.14 *vs*. 66.15 ± 19.36	0.14
Tip CNI-a (takrolimus *vs*. ciklosporin)	64.42 ± 21.39 *vs*. 63.49 ± 20.32	0.89
	R	**p**
Dob primatelja	-0.24	0.01
Dob donora	-0.51	<0.001
HLA MM	0.13	0.19
Prosječna konc. takrolimusa u 1. god.	0.07	0.49
Prosječna konc. ciklosporina u 1. god.	-0.66	0.07
Prosječna doza MMF-a u 1. god.	0.005	0.95
Δci unutar 1. god.	-0.12	0.21
Δct unutar 1. god.	-0.06	0.53
ci skor na 12 mj.	-0.24	0.01
ct skor na 12 mj.	-0.25	<0.01
ti skor na 12 mj.	-0.24	0.01

U univarijatnoj analizi čimbenika koji utječu na funkciju bubrežnog presatka 5 god. od transplantacije statistički značajni su tip transplantacije, spol donora, tip donora, dob primatelja, dob donora ci, ct i ti skor na 12 mj. od transplantacije.

Multivarijatna analiza čimbenika koji utječu na funkciju bubrežnog presatka 5 god. od transplantacije

Čimbenici koji su univarijatnoj analizi bili statistički signifikantni uvršteni su u multivarijatnu analizu. Zbog kolinearnosti ci sa ct skorom na 12 mj. u multivarijatnu analizu uvršten je samo ci skor na 12 mj.

Tablica 6. Multivarijatna analiza čimbenika koji utječu na funkciju bubrežnog presatka 5 god. od transplantacije

	Beta (β)	SE (β)	p
Dob primatelja	-0.21	0.09	0.02
Dob donora	-0.23	0.11	0.04
Spol donora (žene)	-0.26	0.08	0.001
Tip donora (preminuli)	0.15	0.09	0.13
Tip transplantacije (bubreg)	-0.16	0.11	0.15
ci skor na 12 mj.	-0.005	0.13	0.97
ti skor na 12 mj.	-0.28	0.13	0.04

Legenda: Multivarijatna linearna regresija

U multivarijatnoj analizi statistički neovisni prediktori bubrežne funkcije presatka na 5 god. od transplantacije ostaju dob primatelja i donora, spol donora te ti skor na 12 mj.

5.3 Akutna odbacivanja u ovisnosti o steroidima

Analizirana su sva prava akutna i granična odbacivanja u prvoj godini od transplantacije. U tablici 7 prikazana je prevalencija svih odbacivanja između pojedinih skupina imunosupresije sa i bez steroida. Ukupno su napravljene 373 biopsije bubrega u 124 bolesnika. U skupini bolesnika s brzim ukidanjem steroida (N bolesnika=79) 231 biopsija, a u skupini na steroidima (N bolesnika=45) 142 biopsije. Prosječan broj biopsija u skupini s brzim ukidanjem steroida je bio 2.92 a u skupini na steroidima 3.16.

Tablica 7. Prevalencija akutnih odbacivanja u skupinama IS sa i bez steroida

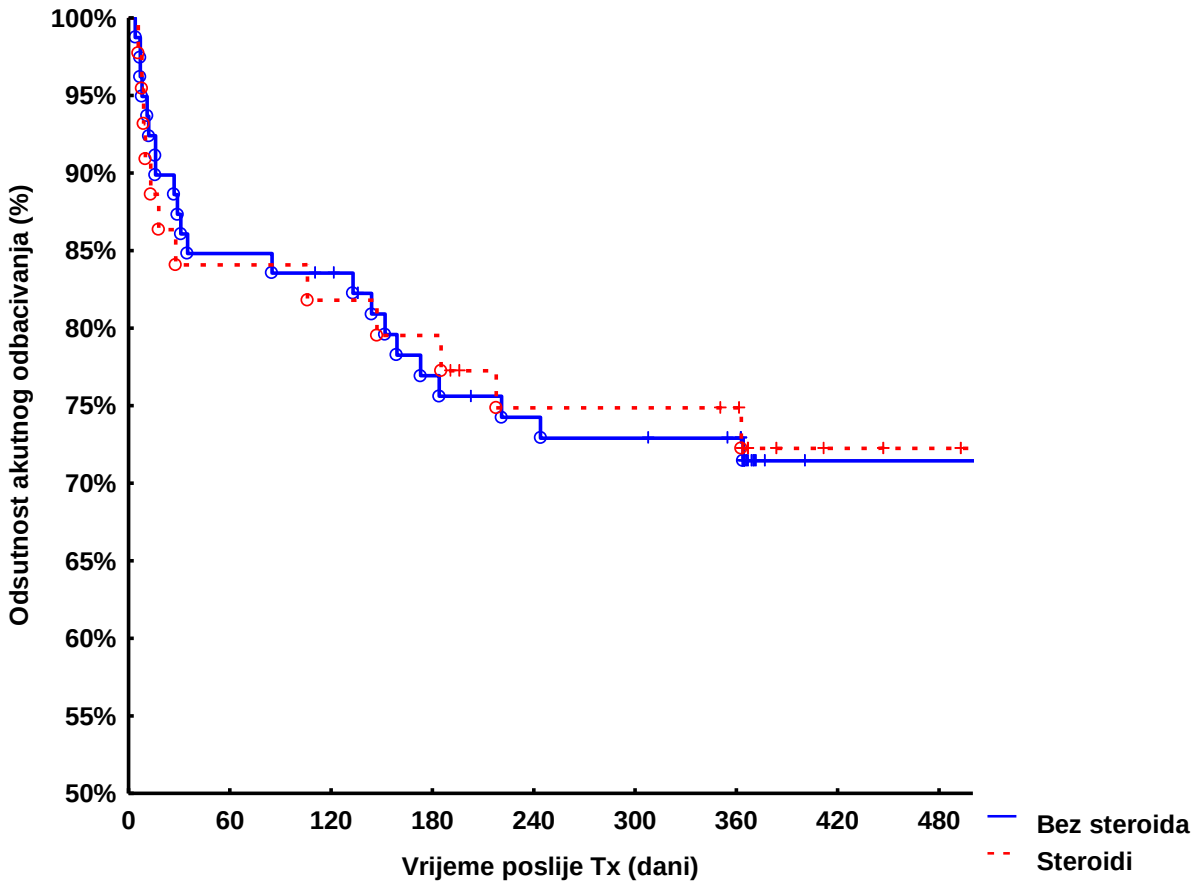
	Rano ukidanje steroida N (%)	Na steroidima N (%)	p
Normalno	155 (67.2)	82 (57.8)	0.07
Granično	47 (20.2)	44 (30.9)	0.02
IA	15 (6.5)	7 (4.9)	0.51
IIA	2 (0.9)	0	0.26
IB	7 (3)	8 (5.7)	0.22
IIB	2 (0.9)	0	0.26
III	0	0	
Humoralno	3 (1.3)	1 (0.7)	0.58
Ukupno	231	142	

Većina biopsija u obje skupine bila je bez odbacivanja. Broj biopsija bez odbacivanja bio je veći u skupini s ranim ukidanjem steroida (67.2 vs. 57.8 %). Više graničnih odbacivanja bilo

je u skupini bolesnika na steroidima (20.2 vs. 30.9 %, p=0.02). Značajnije razlike u ostalim stupnjevima odbacivanjima među skupinama nije bilo.

U prvoj godini od transplantacije 27 % bolesnika imalo je barem jednu epizodu akutnog odbacivanja. Vrijeme do prvog odbacivanja (bez graničnog) između pojedinih skupina prikazano je na slici 4. Nema statistički značajne razlike između pojedinih skupina imunosupresije sa i bez steroida (Kaplan Meier analiza, p=0.96).

Slika 4. Odsutnost akutnog odbacivanja između skupina imunosupresije sa i bez steroida

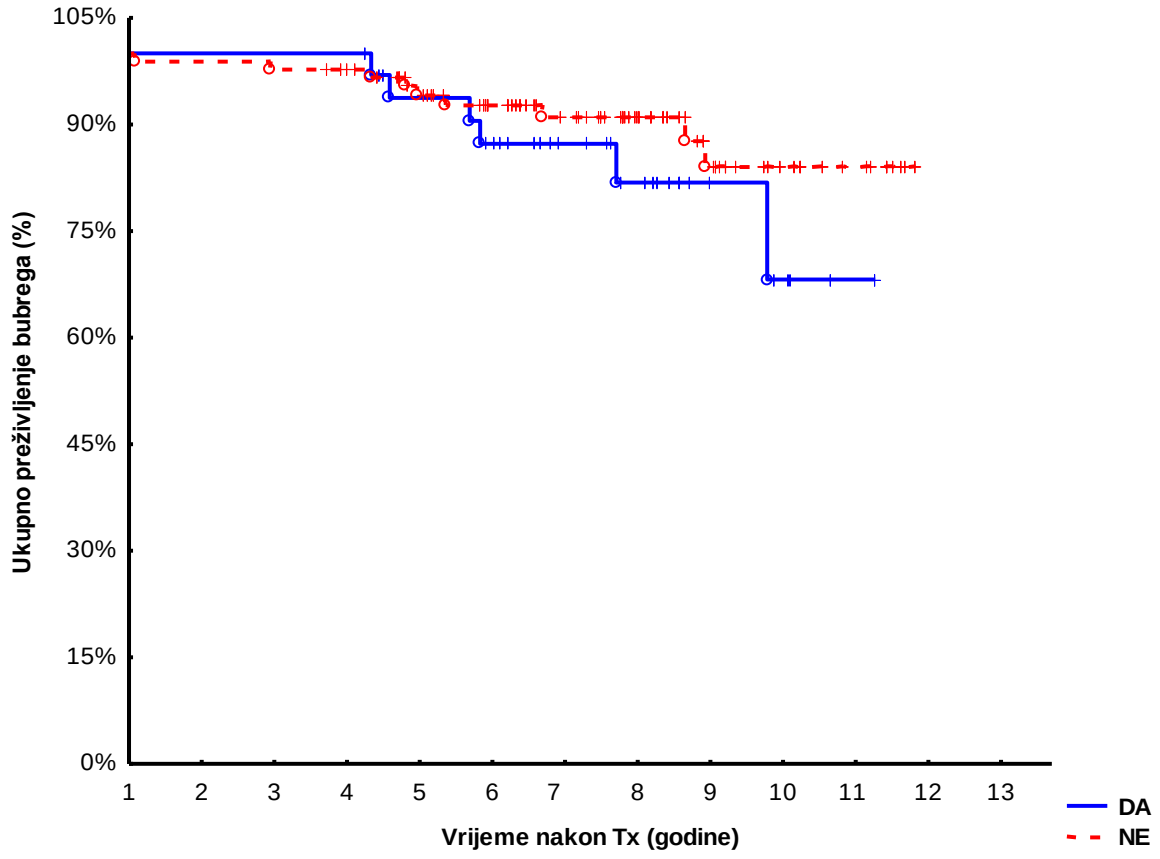


Legenda: Kaplan Meier analiza, p=0.96

5.3.1 Utjecaj akutnog odbacivanja na preživljenje presađenog bubrega između pojedinih skupina imunosupresije sa i bez steroida

Na slici 5 prikazano je dugoročno ukupno preživljenje bubrežnog presatka s obzirom na akutno odbacivanje (bez graničnog odbacivanja).

Slika 5. Ukupno preživljenje presađenog bubrega necenzurirano za smrt bolesnika s obzirom na akutno odbacivanje



Legenda: Log-rank test, p=0.27

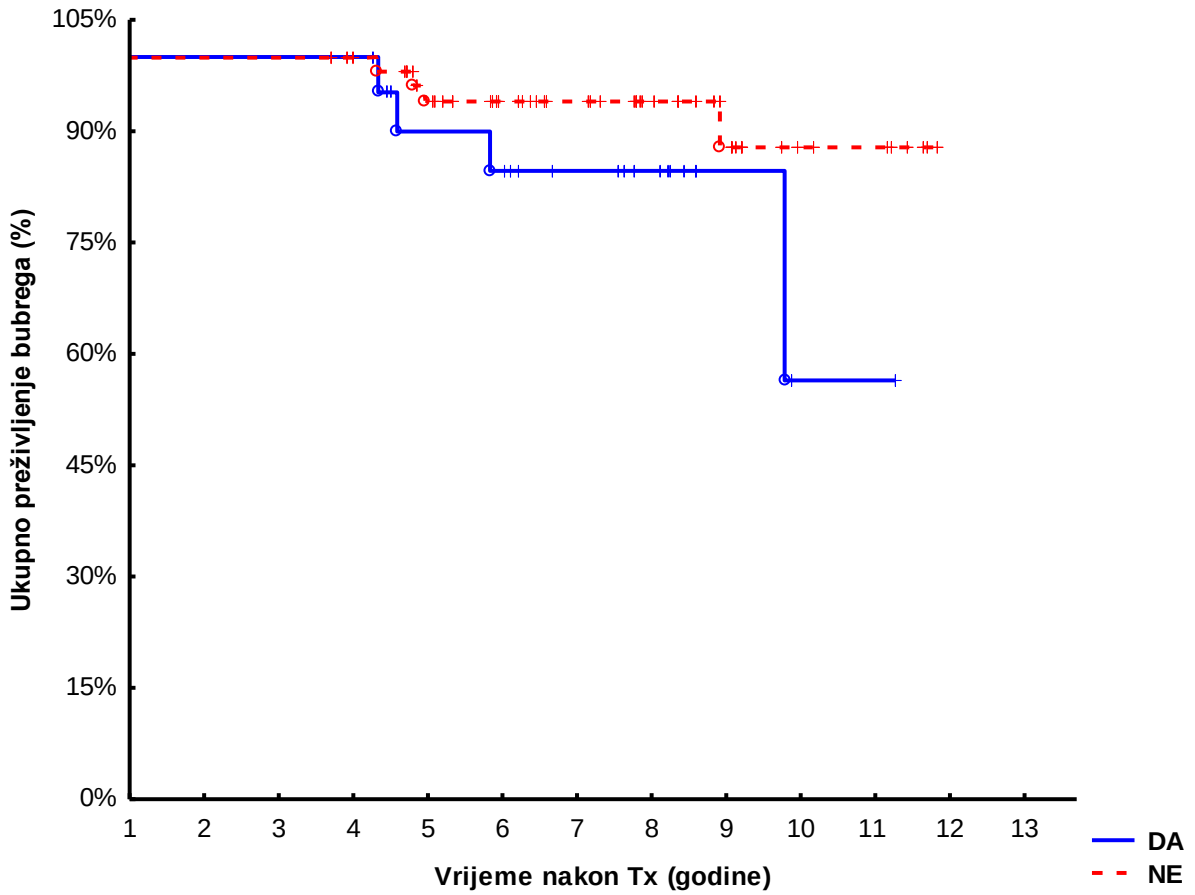
DA – bolesnici koji su imali epizodu akutnog odbacivanja u 1. god. od transplantacije

NE – bolesnici koji nisu imali epizodu akutnog odbacivanja u 1. god. od transplantacije

Između pojedinih skupina bolesnika sa i bez akutnog odbacivanja nema statistički značajne razlike u ukupnom preživljenju presađenog bubrega (Log-rank test, p=0.27).

Na slici 6 prikazano je ukupno preživljenje presađenog bubrega s obzirom na akutno odbacivanje u skupini bolesnika s brzim ukidanjem steroida nakon transplantacije bubrega.

Slika 6. Ukupno preživljenje presađenog s obzirom na akutno odbacivanje u skupini bolesnika s ranim ukidanjem steroida



Legenda: DA – bolesnici koji su imali epizodu akutnog odbacivanja u 1. god. od transplantacije

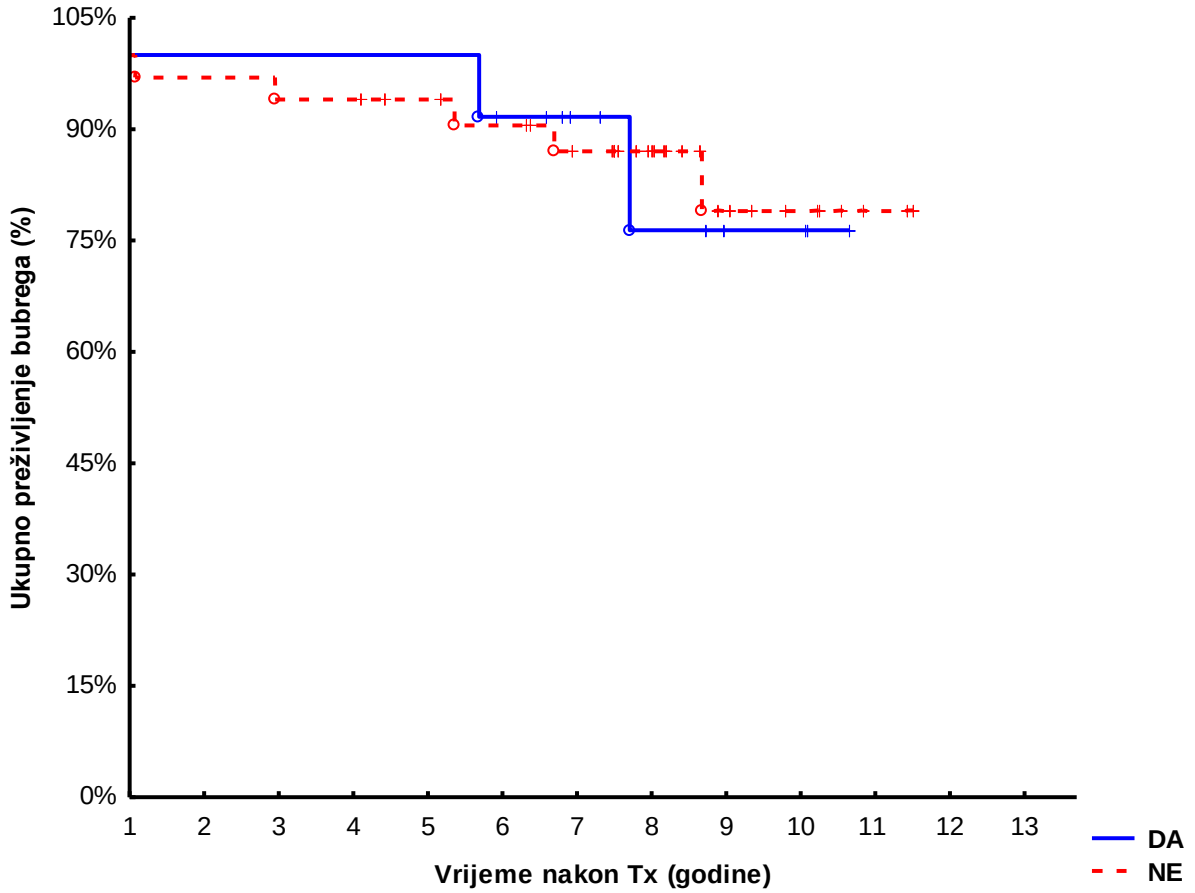
NE – bolesnici koji nisu imali epizodu akutnog odbacivanja u 1. god. od transplantacije

Log-rank test, p=0.13

U skupini bolesnika s ranim ukidanjem steroida akutno odbacivanje ne utječe na ukupno preživljenje presađenog bubrega (Log-rank test, p=0.13).

Na slici 7 prikazano je ukupno preživljenje presađenog bubrega s obzirom na akutno odbacivanje u skupini bolesnika na steroidima nakon transplantacije bubrega.

Slika 7. Ukupno preživljenje presađenog bubrega s obzirom na akutno odbacivanje u skupini bolesnika na steroidima



Legenda: Log-rank test, p=0.97

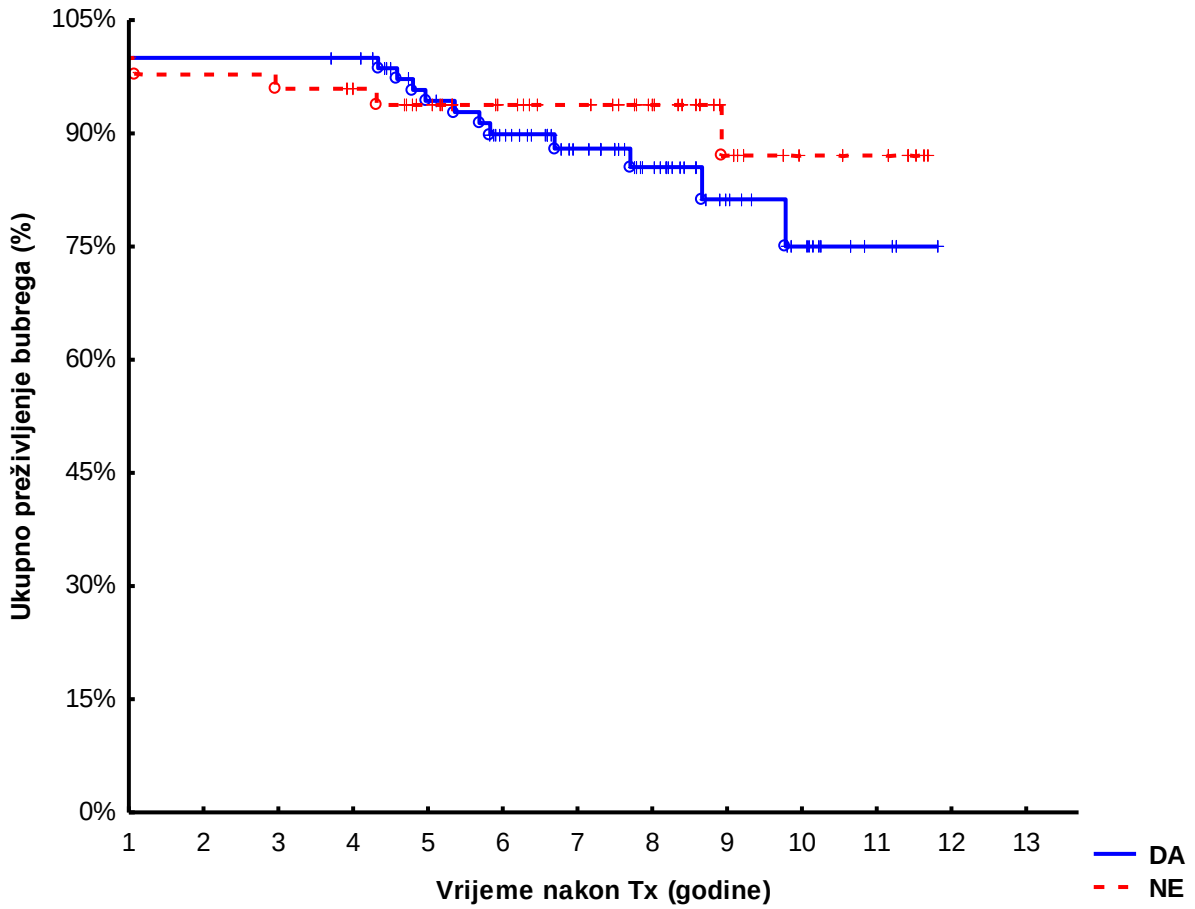
DA – bolesnici koji su imali epizodu akutnog odbacivanja u 1. god. od transplantacije

NE – bolesnici koji nisu imali epizodu akutnog odbacivanja u 1. god. od transplantacije

U skupini bolesnika na steroidima u imunosupresiji nakon transplantacije akutno odbacivanje ne utječe na ukupno preživljenje presađenog bubrega (Log-rank test, p=0.97).

5.3.1.1 Utjecaj akutnog odbacivanja uključujući i graničnog na preživljenje bubrežnog presatka u skupinama imunosupresije sa i bez steroida

Slika 8. Dugoročno ukupno preživljenje presađenog bubrega ovisnosti o akutnom odbacivanju uključujući i granično



Legenda: Log-rank test, p=0.35

DA – bolesnici koji su imali epizodu akutnog odbacivanja u 1. god. od transplantacije

NE – bolesnici koji nisu imali epizodu akutnog odbacivanja u 1. god. od transplantacije

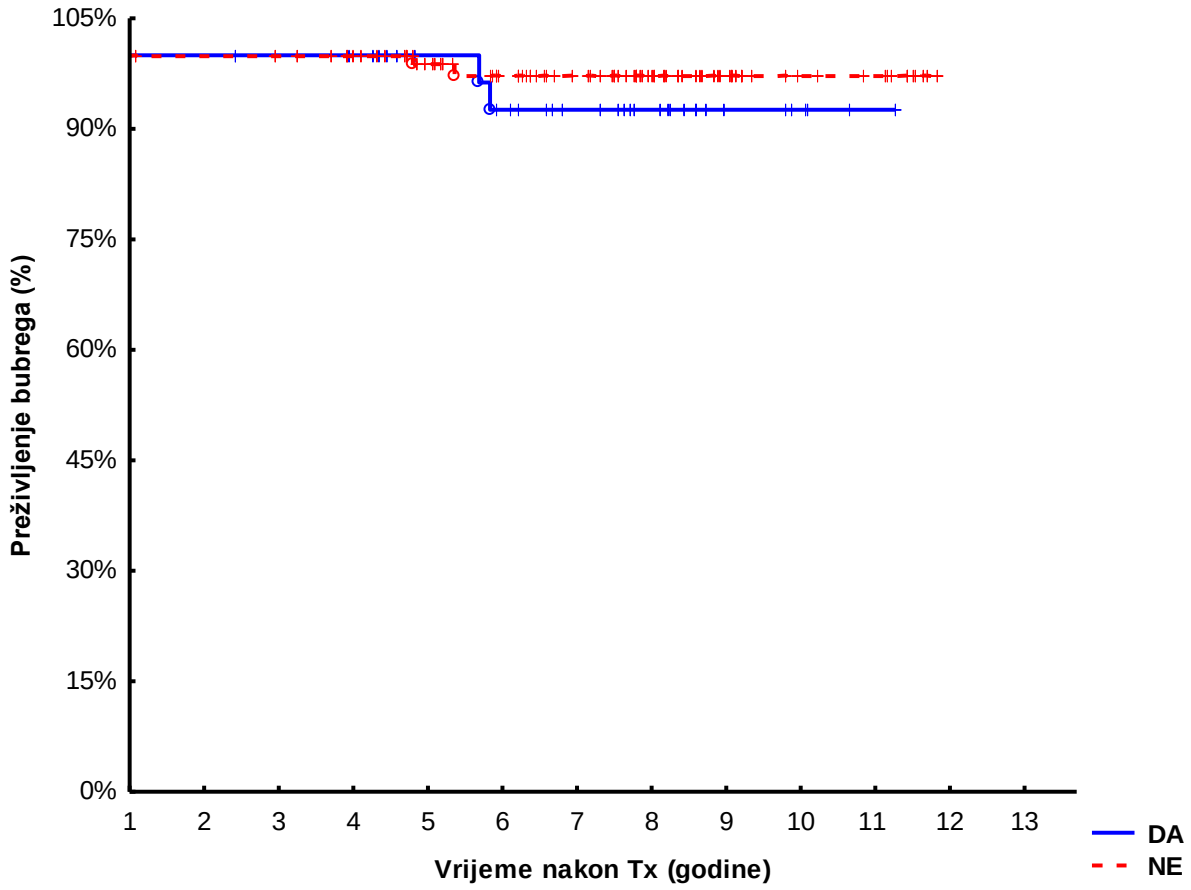
Nema statistički značajne razlike u dugoročnom preživljenju presatka između skupina sa i bez akutnog odbacivanja uključujući i granično odbacivanje (Log-rank test, p=0.35). U podskupini bolesnika s ranim ukidanjem steroida nema statistički značajne razlike u preživljenju presatka između skupine sa i bez akutnog odbacivanja (Log-rang test, p=0.25). U

podskupini bolesnika na steroidima isto tako ne postoji razlika u preživljenju presatka s obzirom na akutno odbacivanje (Log-rank test, p=0.94).

5.3.1.2 Utjecaj akutnog odbacivanja na preživljenje presađenog bubrega cenzurirano za smrt bolesnika

Na slici 9 prikazano je dugoročno preživljenje presađenog bubrega cenzurirano za smrt bolesnika između skupina bolesnika sa i bez akutnog odbacivanja.

Slika 9. Preživljenje presađenog bubrega cenzurirano za smrt bolesnika u skupinama bolesnika sa i bez preboljelog akutnog odbacivanja



Legenda: Log-rank test, p=0.33

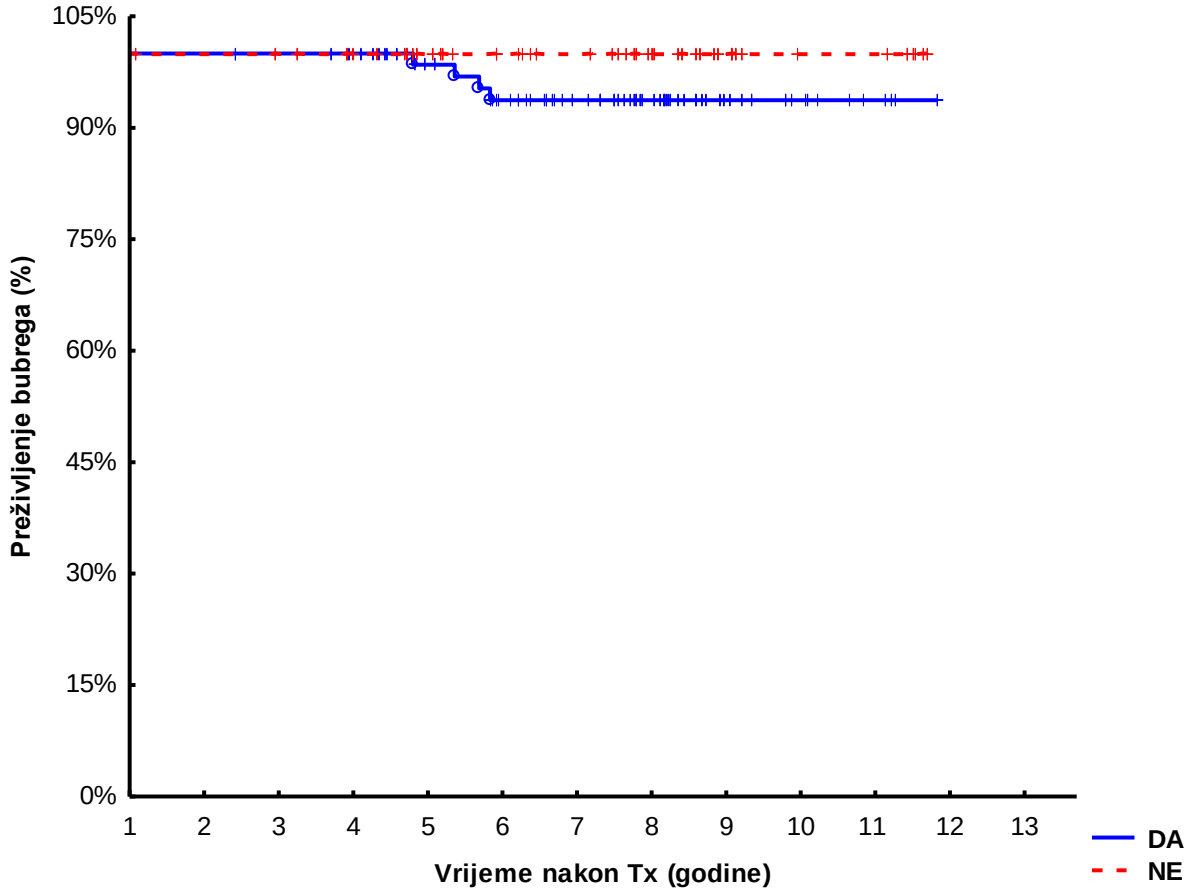
DA – bolesnici koji su imali epizodu akutnog odbacivanja u 1. god. od transplantacije

NE – bolesnici koji nisu imali epizodu akutnog odbacivanja u 1. god. od transplantacije

Nema statistički značajne razlike između pojedinih skupina u dugoročnom preživljenju presatka cenzuriranog za smrt bolesnika (Log-rank test, p=0.33). U podskupini s ranim ukidanjem steroida (Log-rank test, p=0.47) i na steroidima (Log-rank test, p=0.49) nema utjecaja akutnog odbacivanja na dugoročno preživljenje presatka.

Na slici 10 prikazano je dugoročno preživljenje presađenog bubrega cenzurirano za smrt bolesnika između skupina bolesnika sa i bez akutnog odbacivanja uključujući i granično odbacivanje.

Slika 10. Dugoročno preživljenje bubrežnog presatka cenzurirano za smrt bolesnika između skupina bolesnika sa i bez akutnog odbacivanja



Legenda: Log-rank test, p=0.14

DA – bolesnici koji su imali epizodu akutnog odbacivanja u 1. god. od transplantacije

NE – bolesnici koji nisu imali epizodu akutnog odbacivanja u 1. god. od transplantacije

Nema statistički značajne razlike u dugoročnom preživljenju presatka cenzurirano za smrt bolesnika između skupina sa i bez akutnog odbacivanja gdje je i granično odbacivanje smatrano kao pravo akutno odbacivanje (Log-rank test, p=0.14). U podskupini s ranim ukidanjem steroida (Log-rank test, p=0.25) i na steroidima (Log-rank test, p=0.38) nema utjecaja akutnog odbacivanja na dugoročno preživljenje presatka.

5.3.2 Utjecaj akutnog odbacivanja na bubrežnu funkciju između pojedinih skupina imunosupresije s ranim ukidanjem steroida i na steroidima

U tablici 8 prikazana je bubrežna funkcija 3, 6, 12 mj. te 3 i 5 god. nakon transplantacije između skupina imunosupresije sa i bez ukidanja steroida u bolesnika s akutnim odbacivanjem.

Tablica 8. Bubrežna funkcija u skupinama imunosupresije s ranim ukidanjem steroida i na steroidima u bolesnika s akutnim odbacivanjem

Bubrežna funkcija nakon Tx	Rano ukidanje steroida (ml/min)	Na steroidima (ml/min)	p
3 mj.	51.49 ± 15.04	48.67 ± 8.97	0.65
6 mj.	49.59 ± 13	56.48 ± 15.02	0.19
12 mj.	51.47 ± 15.97	59.79 ± 11.67	0.15
3 god.	60.66 ± 23.29	58.31 ± 18.82	1
5 god.	58.87 ± 15.04	62.14 ± 32.18	0.89

U tablici 9 prikazana je bubrežna funkcija 3, 6, 12 mj. te 3 i 5 god. poslije transplantacije između skupina imunosupresije sa i bez ukidanja steroida u bolesnika bez akutnog odbacivanja

Tablica 9. Bubrežna funkcija u skupinama imunosupresije s ranim ukidanjem steroida i na steroidima u bolesnika bez epizode akutnog odbacivanja

Bubrežna funkcija nakon Tx	Rano ukidanje steroida (ml/min)	Na steroidima (ml/min)	p
3 mj.	51.49 ± 15.04	48.67 ± 8.97	0.65
6 mj.	49.59 ± 13	56.48 ± 15.02	0.19
12 mj.	51.47 ± 15.97	59.79 ± 11.67	0.15
3 god.	60.66 ± 23.29	58.31 ± 18.82	1
5 god.	58.87 ± 15.04	62.14 ± 32.18	0.89

Nema statistički značajne razlike u bubrežnoj funkciji između pojedinih skupina imunosupresije neovisno o preboljeloj epizodi akutnog odbacivanja.

U tablici 10 prikazana je bubrežna funkcija 3, 6, 12 mj. te 3 i 5 god. nakon transplantacije između skupina imunosupresije sa i bez ukidanja steroida u bolesnika s akutnim odbacivanjem gdje je i granično odbacivanje smatrano kao pravo akutno odbacivanje.

Tablica 10. Bubrežna funkcija u skupinama imunosupresije s ranim ukidanjem steroida i na steroidima u bolesnika s preboljelom epizodom akutnog odbacivanja uključujući i granično

Bubrežna funkcija nakon Tx	Rano ukidanje steroida (ml/min)	Na steroidima (ml/min)	p
3 mj.	53.56 ± 14.67	49.59 ± 12.52	0.29
6 mj.	51.66 ± 12.93	57.87 ± 16.39	0.13
12 mj.	52.31 ± 15.29	58.51 ± 15.44	0.08
3 god.	59.65 ± 20.99	56.05 ± 18.48	0.25
5 god.	60.05 ± 20.9	65.23 ± 24.65	0.29

U tablici 11 prikazana je bubrežna funkcija 3, 6, 12 mj. te 3 i 5 god. poslije transplantacije između skupina imunosupresije sa i bez ukidanja steroida u bolesnika bez akutnog odbacivanja uključujući i granično odbacivanje.

Tablica 11. Bubrežna funkcija u skupinama imunosupresije s brzim ukidanjem steroida i na steroidima u bolesnika bez epizode akutnog odbacivanja uključujući i granično

Bubrežna funkcija nakon Tx	Rano ukidanje steroida (ml/min)	Na steroidima (ml/min)	p
3 mj.	55.36 ± 18.58	52.51 ± 19.73	0.41
6 mj.	57.73 ± 20.45	54.55 ± 21.05	0.43
12 mj.	60.13 ± 19.68	62.78 ± 19.85	0.81
3 god.	67.54 ± 21.53	62.87 ± 20.13	0.61
5 god.	68.68 ± 19.31	67.37 ± 16.36	0.83

Nema statistički značajne razlike u bubrežnoj funkciji između pojedinih skupina imunosupresije neovisno o preboljeloj epizodi akutnog odbacivanja kad se i granično odbacivanje smatra kao pravo akutno odbacivanje.

5.3.3 Utjecaj akutnog odbacivanja na progresiju intersticijske fibroze i tubularne atrofije između skupine s ranim ukidanjem steroida i na steroidima

Utjecaj akutnog odbacivanja (bez graničnog) na progresiju IF/TA-e između skupina s ranim ukidanjem steroida i na steroidima prikazan je u tablici 12.

Tablica 12. Progresija IF/TA-e u bolesnika s akutnim odbacivanjem između skupina s ranim ukidanjem steroida i na steroidima

	Rano ukidanje steroida	Na steroidima	p
Δci	0.73 ± 0.77	0.67 ± 0.78	0.84
Δct	0.59 ± 0.79	0.75 ± 0.75	0.5

Progresija IF/TA-e u skupini bolesnika bez akutnog odbacivanja (bez graničnog) između skupina s ranim ukidanjem steroida i na steroidima prikazana je u tablici 13.

Tablica 13. Progresija IF/TA-e u bolesnika bez akutnog odbacivanja između skupina s ranim ukidanjem steroida i na steroidima

	Rano ukidanje steroida	Na steroidima	p
Δci	0.44 ± 0.63	0.69 ± 0.77	0.16
Δct	0.58 ± 0.63	0.76 ± 0.71	0.3

Rano ukidanje steroida nema utjecaja na progresiju IF/TA-e neovisno o akutnom odbacivanju.

Utjecaj akutnog odbacivanja (uključujući i granično) na progresiju IF/TA-e između skupina s ranim ukidanjem steroida i na steroidima prikazan je u tablici 14.

Tablica 14. Progresija IF/TA-e u bolesnika s akutnim odbacivanjem (uključeno i granično) između skupina s ranim ukidanjem steroida i na steroidima

	Rano ukidanje steroida	Na steroidima	p
Δci	0.62 ± 0.72	0.71 ± 0.78	0.69
Δct	0.6 ± 0.72	0.77 ± 0.72	0.26

Progresija IF/TA-e u skupini bolesnika bez akutnog odbacivanja (uključeno i granično) između skupina s ranim ukidanjem steroida i na sterodima prikazana je u tablici 15.

Tablica 15. Progresija IF/TA-e u bolesnika bez akutnog odbacivanja (uključeno i granično) između skupina s ranim ukidanjem steroida i na steroidima

	Rano ukidanje steroida	Na steroidima	p
Δci	0.38 ± 0.6	0.64 ± 0.74	0.3
Δct	0.56 ± 0.61	0.71 ± 0.73	0.56

Rano ukidanje steroida nema utjecaja na progresiju IF/TA-e neovisno o akutnom odbacivanju čak i onda kada se granično odbacivanje smatra kao pravo akutno odbacivanje.

5.4 Progresija kroničnih skorova tijekom 1. god. od transplantacije

Analizirana je progresija ci i ct skora tijekom 1. godine od Tx. U tablici 16 prikazana je vrijednost skorova pri implantaciji (nulta biopsija) i 12 mj. od transplantacije bubrega.

Tablica 16. Vrijednosti ci i ct skora pri implantaciji i 12 mj. od Tx

	nulta biopsija	12 mjeseci	p
ci skor	0.17 ± 0.42	0.69 ± 0.74	<0.001
ct skor	0.23 ± 0.46	0.79 ± 0.7	<0.001

Tijekom prve godine dolazi do statistički značajne progresije intersticijske fibroze i tubularne atrofije.

5.4.1 Incidencija progresije intersticijske fibroze i tubularne atrofije po težini progresije

U tablici 17 prikazana je raspodjela progresije intersticijske fibroze i tubularne atrofije prema stupnju progresije.

Tablica 17. Prikaz Δci i Δct prema stupnju progresije

	0	**1**	**2**	**3**
Δci	67 (54)	43 (35)	13 (10)	1 (1)
Δct	58 (47)	53 (43)	12 (9)	1 (1)

N broj biopsija s postotkom u zagradi

Progresije ci skora nije bilo u 54 % bolesnika a ct skora u 47 % bolesnika. Najčešći je blagi stupanj progresije intersticijske fibroze (35%) i tubularne atrofije (43%).

5.4.2 Utjecaj steroida na progresiju intersticijske fibroze

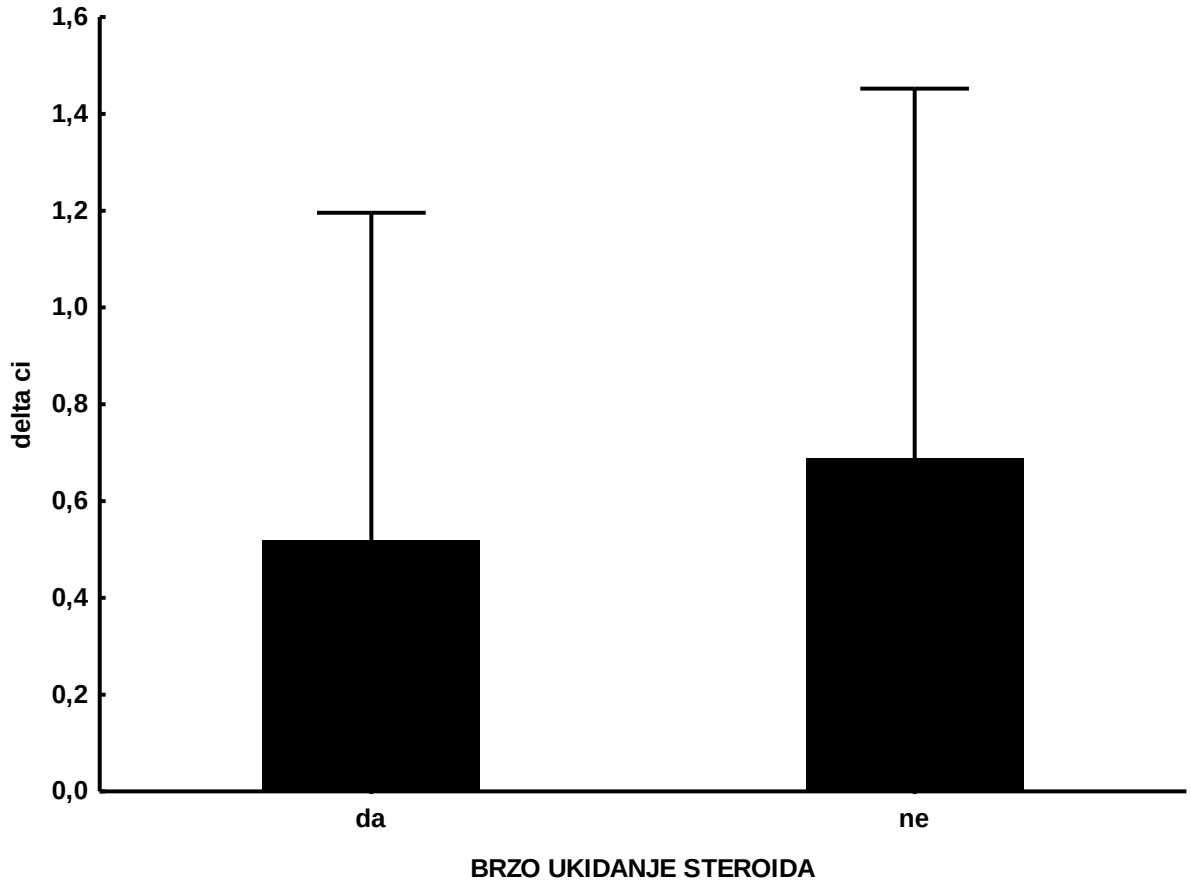
U skupini s ranim ukidanjem steroida u 57 % bolesnika nema progresije ci skora, 35 % ima progresiju za 1, 6 % za 2 i 1 % za 3. U skupini bolesnika na steroidima nema progresije u 49 % bolesnika, 33 % ima progresiju 1, 18 % ima progresiju za 2. Nema statistički značajne razlike među pojedinim skupinama imunusupresije sa i bez steroida prema težini progresije ci skora (Chi-kvadrat test, p=0.52).

Tablica 18. Stupnjevi progresije ci skora između skupina imunosupresije s ranim ukidanjem steroida i na steroidima

Δci	Rano ukidanje steroida N (%)	Na steroidima N (%)	p
0	45 (56.9)	22 (48.9)	0.39
1	28 (35.4)	15 (33.3)	0.81
2	5 (6.3)	8 (17.8)	0.04
3	1 (1.3)	0	0.45
Ukupno	79	45	

Srednja vrijednost progresije ci skora u skupini s brzim ukidanjem steroida je 0.52 ± 0.62 *vs.* 0.69 ± 0.76 u bolesnika na steroidima, p=0.28 (slika 11).

Slika 11. Srednja vrijednost progresije ci skora između skupina s ranim ukidanjem steroida i na steroidima



Legenda: Prikazana je srednja vrijednost sa standardnom devijacijom, p=0.28.

Univarijatna analiza čimbenika koji utječu na progresiju intersticijske fibroze

Tablica 19. Univarijatna analiza čimbenika koji utječu na progresiju ci skora unutar 1. god. od transplantacije

	Δci	**p**
Tip transplantacije (bubreg *vs*. SPKT)	0.63 ± 0.76 *vs*. 0.43 ± 0.5	0.36
Spol primatelja (muškarci *vs.* žene)	0.64 ± 0.74 *vs*. 0.45 ± 0.64	0.17
Spol donora (muškarci *vs.* žene)	0.63 ± 0.75 *vs*. 0.52 ± 0.67	0.45
Tip donora (živi *vs*. preminuli)	0.49 ± 0.73 *vs*. 0.62 ± 0.7	0.22
Rano ukidanje steroida (da *vs*. ne)	0.51 ± 0.68 *vs*. 0.69 ± 0.76	0.23
Akutno odbacivanje (da *vs.* ne)	0.71 ± 0.76 *vs*. 0.52 ± 0.68	0.28
Tip CNI-a (takrolimus *vs*. ciklosporin)	0.55 ± 0.69 *vs.* 0.83 ± 0.83	0.23
	R	**p**
Dob primatelja	0.03	0.75
Dob donora	0.1	0.26
HLA MM	-0.01	0.96
Prosječna konc. takrolimusa	-0.08	0.41
Prosječna konc. ciklosporina	0.49	0.15
Prosječna doza MMF-a	-0.19	0.03
ci na nultoj biopsiji	-0.28	<0.01
ti skor na 12 mj.	0.65	<0.01

Prosječna doza MMF-a u 1. godini transplantacije, ci skor na implantacijsoj biopsiji te ti skor na 12 mj. su statistički značajni za progresiju ci skora u univarijatnoj analizi.

Multivarijatna analiza čimbenika koji utječu na progresiju intersticijske fibroze

Čimbenici koji su bili statistički signifikantni i granično signifikantni su uvršteni u multivarijatnu analizu (tablica 20).

Tablica 20. Multivarijatna linearna regresija čimbenika koji utječu na Δci

	Beta (β)	SE (β)	p
ci skor na 0 mj.	-0.33	0.06	<0.01
ti skor na 12 mj.	0.73	0.06	<0.01
prosječna doza MMF-a	-0.09	0.06	0.17
spol primatelja (muškarci)	-0.01	0.06	0.89

Samo ci skor na implantacijskoj biopsiji i ti skor na 12 mj. ostaju neovisni čimbenici progresije intersticijske fibroze unutar prve godine od transplantacije bubrega.

5.4.3 Utjecaj steroida na progresiju tubularne atrofije

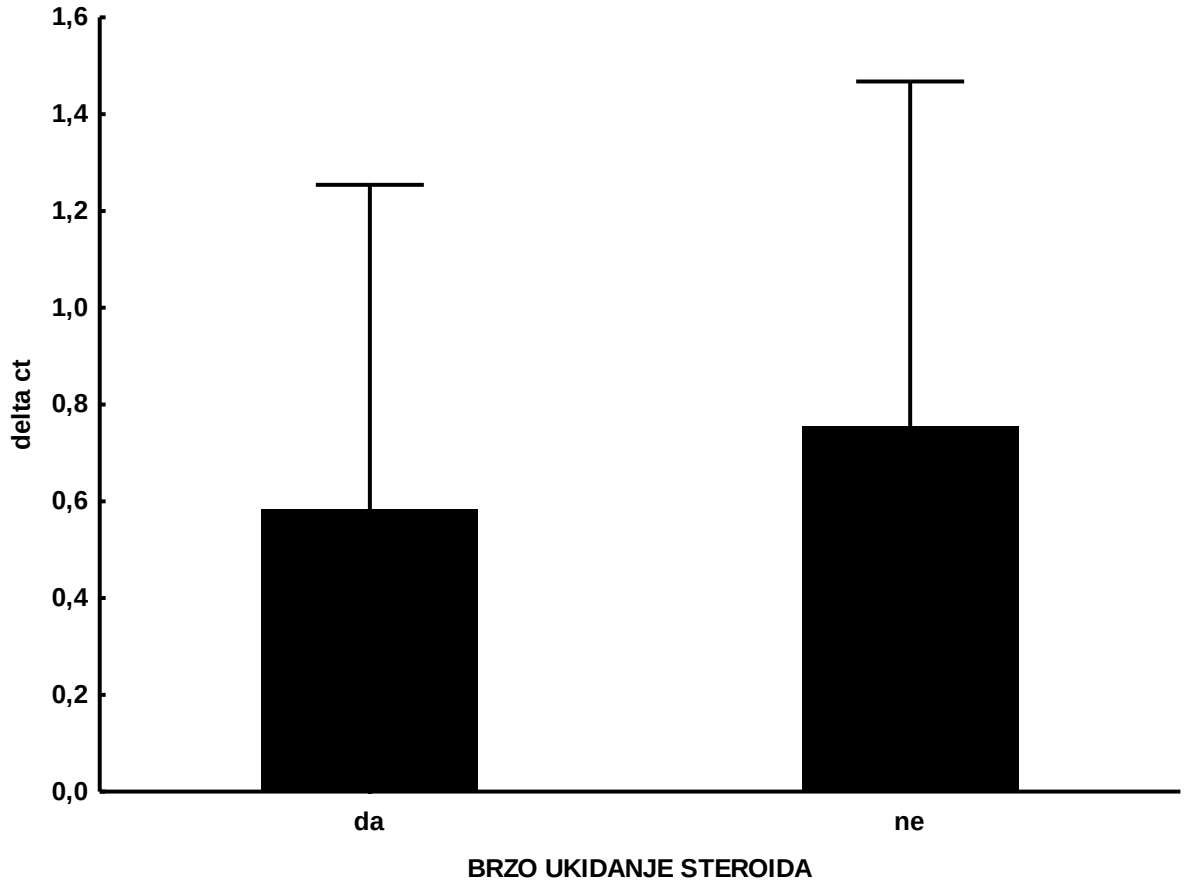
U skupini s ranim ukidanjem steroida 51 % bolesnika nema progresiju ct skora, 42 % ima za 1, 6 % za 2 i 1 % za 3. U skupini bolesnika na steroidima 40 % nema progresiju ct skora, 44 % ima progresiju 1 i 16 % za 2. Nema statistički značajne razlike među pojedinim skupinama imunusupresije sa i bez steroida prema težini progresije ct skora.

Tablica 21. Stupnjevi progresije ct skora između skupina imunosupresije s ranim ukidanjem steroida i na steroidima

Δct	Rano ukidanje steroida N (%)	Na steroidima N (%)	p
0	40 (50.6)	18 (40)	0.25
1	33 (41.8)	20 (40.4)	0.77
2	5 (6.3)	7 (15.6)	0.09
3	1 (1.3)	0	0.45
Ukupno	79	45	

Srednja vrijednost progresije tubularne atrofije u skupni s ranim ukidanjem steroida je 0.58 ± 0.67 *vs.* 0.76 ± 0.71, p=0.17 u skupini bolesnika koja je imala steroide u imunosupresiji održavanja.

Slika 12. Srednja vrijednost progresije ct skora između skupina s ranim ukidanjem steroida i na steroidima



Legenda: Prikazana je srednja vrijednost sa standardnom devijacijom, p=0.17.

Univarijatna analiza čimbenika koji utječu na progresiju tubularne atrofije

Tablica 22. Univarijatna analiza čimbenika koji utječu na progresiju ct skora unutar 1. god. od transplantacije

	Δct	**p**
Tip transplantacije (bubreg vs. SPKT)	0.67 ± 0.74 *vs.* 0.57 vs. 0.5	0.81
Spol primatelja (muškarci vs. žene)	0.71 ± 0.72 *vs.* 0.5 ± 0.59	0.13
Spol donora (muškarci vs. žene)	0.64 ± 0.72 *vs.* 0.65 ± 0.65	0.8
Tip donora (živi vs. preminuli)	0.57 ± 0.73 *vs.* 0.68 ± 0.67	0.3
Rano ukidanje steroida (da vs. ne)	0.58 ± 0.67 *vs.* 0.76 ± 0.71	0.17
Akutno odbacivanje (da vs. ne)	0.65 ± 0.77 *vs.* 0.63 ± 0.65	0.87
Tip CNI-a (takrolimus *vs.* ciklosporin)	0.63 ± 0.67 *vs.* 0.83 ± 0.83	0.4
	R	**p**
Dob primatelja	0.02	0.82
Dob donora	0.04	0.63
HLA MM	0.06	0.53
Prosječna konc. takrolimusa	-0.09	0.33
Prosječna konc. ciklosporina	0.22	0.54
Prosječna doza MMF-a	-0.23	0.01
ct na nultoj biopsiji	-0.41	<0.01
ti skor na 12 mj.	0.58	<0.01

Prosječna doza MMF-a u 1. godini transplantacije, ct skor na implantacijskoj biopsiji te ti skor na 12 mj. su statistički značajni za progresiju ct skora u univarijatnoj analizi.

Multivarijatna analiza čimbenika koji utječu na progresiju tubularne atrofije

Čimbenici koji su bili statistički signifikantni i granično signifikantni su uvršteni u multivarijatnu analizu (tablica 23).

Tablica 23. Multivarijatna analiza čimbenika koji utječu na Δct

	Beta (β)	SE (β)	p
ct skor na 0 mj.	-0.27	0.06	<0.01
ti skor na 12 mj.	0.71	0.06	<0.01
Prosječna doza MMF-a	-0.06	0.07	0.39
Spol primatelja (muškarci)	-0.01	0.06	0.93
Rano ukidanje steroida (ne)	0.09	0.06	0.12

Samo ct skor na implantacijskoj biopsiji i ti skor na 12 mj. od transplantacije ostaju neovisni čimbenici progresije tubularne atrofije unutar prve godine od transplantacije bubrega.

5.4.4 Progresija ostalih kroničnih skorova tijekom 1. god. od transplantacije

Analizirani su ostali kronični skorovi te njihova progresija tijekom 1. godine od transplantacije bubrega. Kronični skorovi koji su analizirani su: cg – kronična glomerulopatija, mm- povećanje mezangijalnog matriksa, cv – vaskularna fibroza i ah skor – hijalinoza arteriola. Skorovi su očitavani na implantacijskim i 12 mj. biopsijama presatka.

Tablica 24. Progresija ostalih kroničnih skorova tijekom prve godine od transplantacije

	nulta biopsija	12 mjeseci	p
cg skor	0 ± 0	0.02 ± 0.15	0.08
mm skor	0 ± 0	0.08 ± 0.4	0.01
cv skor	0.23 ± 0.67	0.26 ± 0.66	0.7
ah skor	0.59 ± 0.9	0.75 ± 0.98	0.11

Tijekom prve godine dolazi do statistički značajne progresije samo mm skora.

5.4.4.1 Progresija ostalih kroničnih skorova u ovisnosti o steroidima

U tablici 25 prikazane su srednje vrijednosti progresije cg, mm, cv i ah skora tijekom 1. godine od transplantacije između pojedinih skupina imunosupresije s ranim ukidanjem steroida i bolesnicima koji su na steroidima.

Tablica 25. Progresija cg, mm, cv i ah skora između skupina imunosupresije s brzim ukidanjem steroida i na steroidima

Rano ukidanje steroida	DA	NE	p
cg skor	0.03 ± 0.16	0.02 ± 0.16	0.98
mm skor	0.08 ± 0.42	0.11 ± 0.38	0.65
cv skor	0.23 ± 0.67	0.26 ± 0.62	0.64
ah skor	0.44 ± 0.81	0.36 ± 0.57	0.87

Nema statistički značajne razlike u progresiji gore navedenih skorova između skupina imunosupresije s ranim ukidanjem steroida i na sterodima.

5.5 Skor totalne upale na 12 mj. od transplantacije bubrega

ti skor na 12 mj. veći od 0 prisutan je u 39 % bolesnika na protokol biopsijama. 22 % bolesnika ima ti skor 1, 15% ima ti skor 2 dok manje od 1 % bolesnika ima ti skor 3.

Postoji snažna korelacija ti skor na 12 mj. sa ci i ct skorom na 12 mj. te progresijom intersticijske fibroze i tubularne atrofije 1 god. od transplantacije (slika 13 i 14).

5.5.1 Statistička analiza čimbenika koji utječu na nastanak totalne upale

Tablica 26. Univarijatna analiza čimbenika koji su povezani s ti skorom na protokol biopsiji 1 god. nakon tx.

	ti skor	**p**
Tip transplantacije (bubreg *vs.* SPKT)	0.64 ± 0.89 *vs*. 0.43 ± 0.57	0.6
Spol primatelja (muškarci *vs*. žene)	0.69 ± 0.88 *vs*.0.36 ± 0.68	0.04
Spol donora (muškarci *vs*. žene)	0.61 ± 0.82 *vs*. 0.55 ± 0.86	0.54
Tip donora (živi *vs.* preminuli)	0.44 ± 0.79 *vs*. 0.65 ± 0.85	0.15
Rano ukidanje steroida (da *vs*. ne)	0.54 ± 0.86 *vs*. 0.67 ±0.79	0.23
Akutno odbacivanje (da *vs*. ne)	0.93 ± 0.99 *vs.* 0.46 ± 0.73	0.01
Tip CNI-a (takrolimus *vs.* ciklosporin)	0.56 ± 0.83 *vs.* 0.8 ± 0.92	0.38
	R	**p**
Dob primatelja	-0.08	0.4
Dob donora	0.06	0.54
HLA MM	-0.06	0.5
Prosječna konc. takrolimusa	-0.15	0.12
Prosječna doza MMF-a	-0.09	0.35
ci na 12 mj.	0.76	<0.01
ct na 12 mj.	0.72	<0.01

U univarijatnoj analizi čimbenika koji utječu na nastanak totalne upale 12 mj. od transplantacije samo spol primatelja, kronični skor intersticijske fibroze i tubularne atrofije na 12 mj. su statistički značajni. Δci i Δct nisu uvršteni u analizu zbog kolinearnosti sa ci i ct skorom na 12 mj. od transplantacije.

Tablica 27. Multivarijatna analiza čimbenika koji su povezani s totalnom upalom 12 mj. poslije Tx

	Beta (β)	SE (β)	p
ci skor na 12 mj.	0.47	0.11	<0.01
prosječna konc. takrolimus u 1. god.	-0.16	0.06	<0.01
spol primatelja (muškarci)	0.03	0.06	0.65
akutno odbacivanje (ne)	-0.17	0.06	<0.01

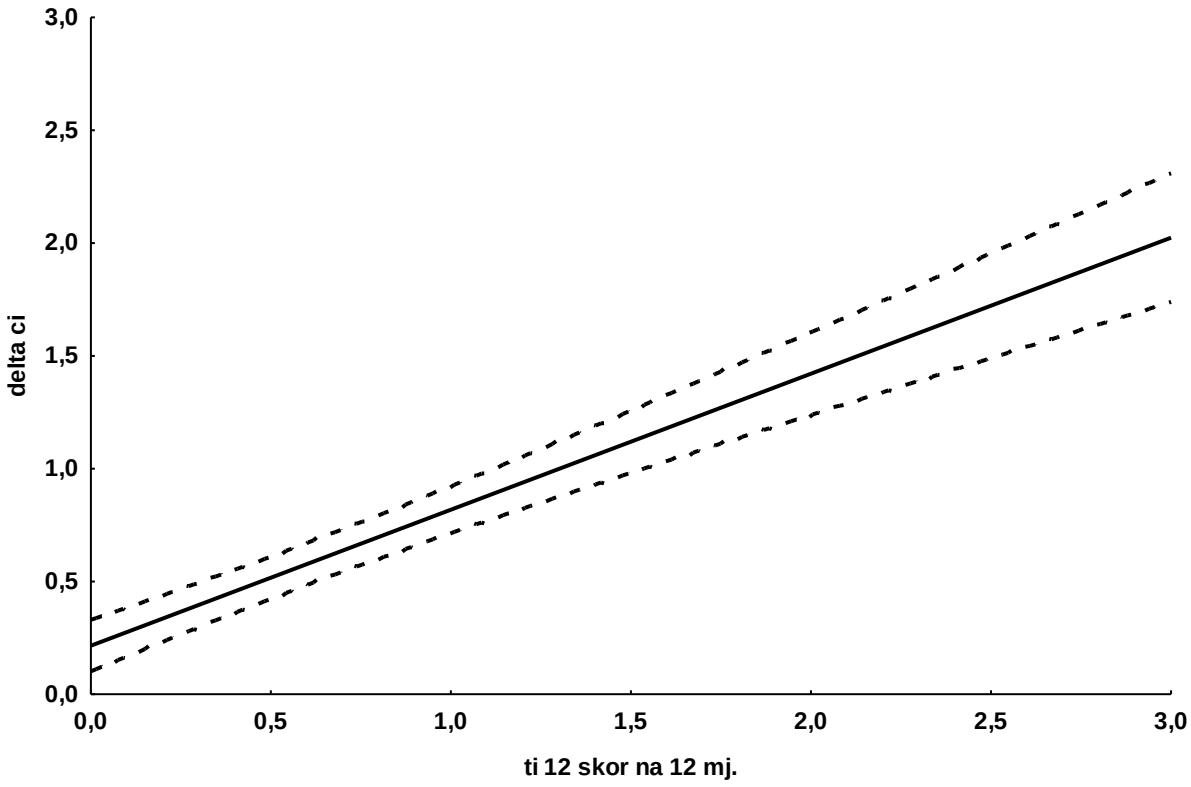
Legenda: Multivarijatna linearna regresija

U multivarijatnoj analizi ci skor na 12 mj., epizoda akutnog odbacivanja te prosječna konc. takrolimusa u 1. god. od transplantacije ostaju neovisni čimbenici nastanka totalne upale na protokol biospijama bubrega 12 mj. poslije transplantacije.

5.5.2 Korelacija skora totalne upale s progresijom intersticijske fibroze i tubularne atrofije

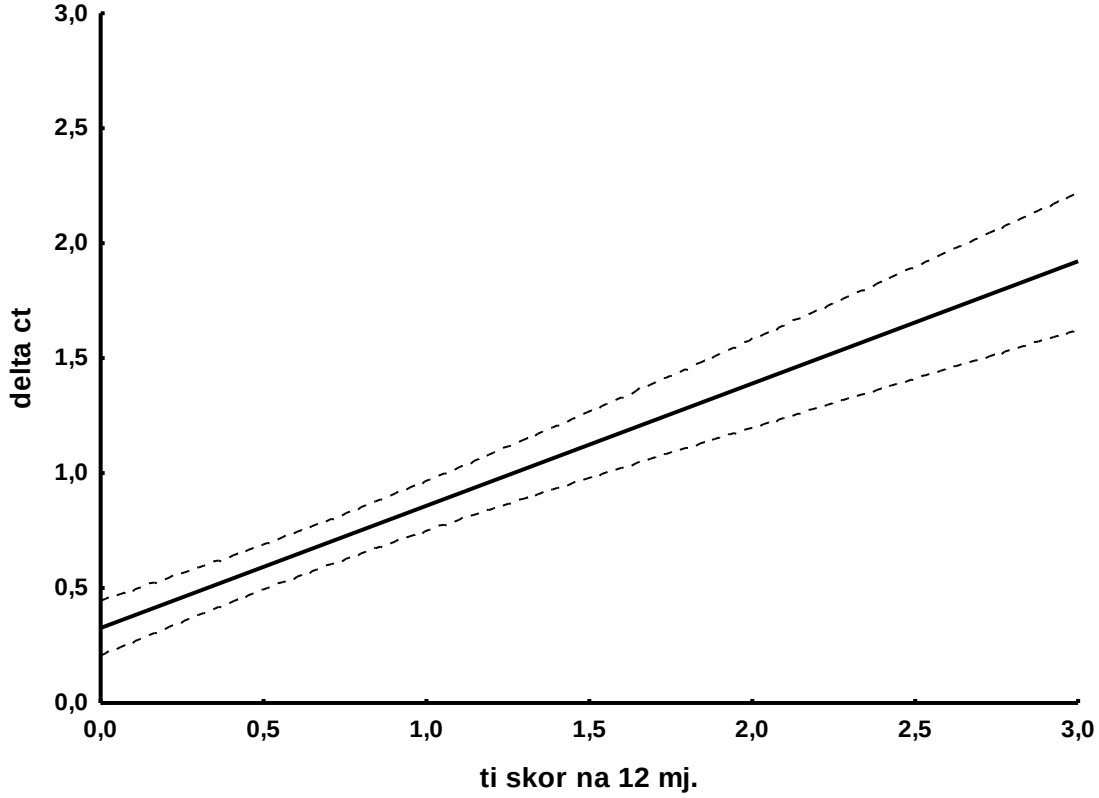
Korelacija ti skora na 12 mj. s progresijom skora intersticijske fibroze tijekom prve godine od transplantacije bubrega prikazana je na slici 13. Faktor korelacije za Δci je R=0.65 a za Δct R=0.58 (p<0.001).

Slika 13. Korelacija ti skora na 12 mj. s progresijom intersticijske fibroze unutar 1 god. od transplantacije



Legenda: Spearmanova korelacija, R=0.65, p<0.001

Slika 14. Korelacija ti skor na 12 mj. s progresijom tubularne atrofije unutar 1 god. od transplantacije



Legenda: Spearmanova korelacija, R=0.65, p<0.001

Postoji snažna korelacija ti skora na 12 mj. s progresijom intersticijske fibroze i tubularne atrofije unutar prve godine od transplantacije bubrega.

5.5.3 Korelacija skora totalne upale na 12 mj. s bubrežnom funkcijom presatka

U tablici 27 prikazana je korelacija ti skora 12 mj. od transplantacije s bubrežnom funkcijom presatka 3, 6, 12 mjeseci te 3 i 5 godina od transplantacije.

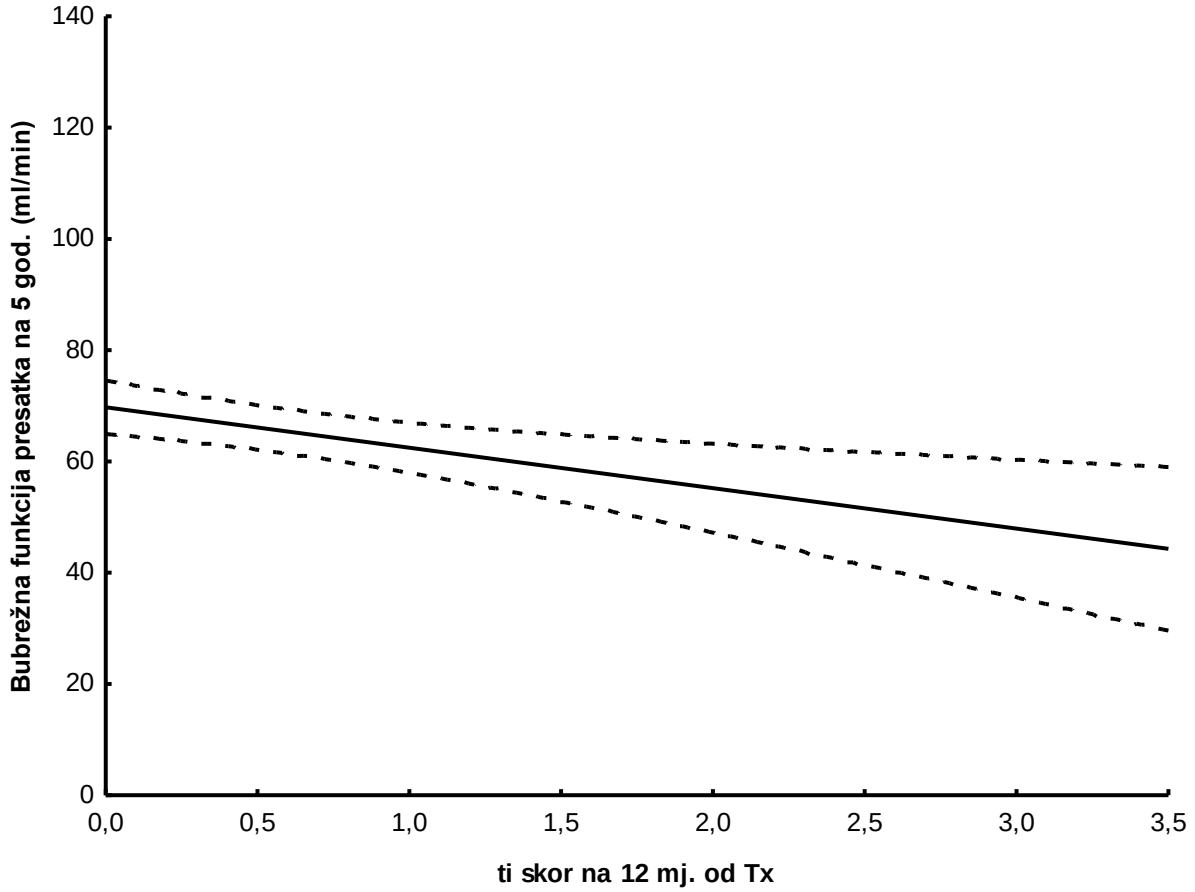
Tablica 27. Korelacija ti skora na 12 mj. s bubrežnom funkcijom presatka

	ti skor na 12 mj.	
Bubrežna funkcija nakon Tx	R	p
3 mj.	-0.04	0.67
6 mj.	-0.03	0.78
12 mj.	-0.09	0.34
3 god.	-0.14	0.13
5 god.	-0.24	0.01

ti skor na 12 mj. od transplantacije je statistički značajan čimbenik bubrežne funkcije presatka na 5 godina od transplantacije (R=-0.24, p=0.015). U mulitivarijatnoj analizi ti skor na 12 mj. ostaje statistički značajan negativan čimbenik bubrežne funkcije presatka na 5 god. od transplantacije (tablica 6).

ti skor na 12 mj. je neovisan negativan čimbenik bubrežne funkcije na 5 god. od transplantacije.

Slika 15. Korelacija ti skora na 12 mj. s bubrežnom funkcijom presatka na 5 god. od Tx

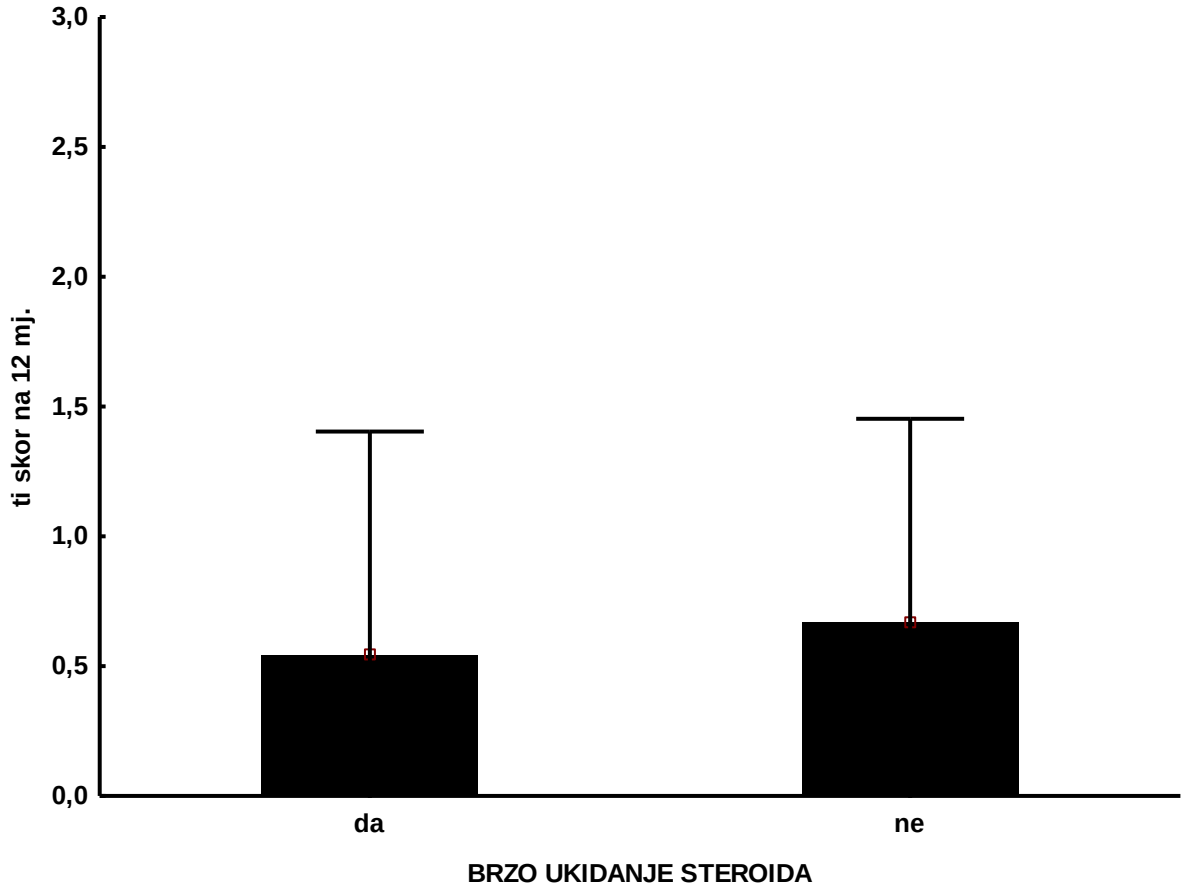


Legenda: Spearmanova korelacija, R=-0.24, p=0.015

5.5.4 Skor totalne upale na 12 mj. između skupina s ranim ukidanjem steroida i na steroidima

ti skor na 12 mj. između pojedinih skupina IS s brzim ukidanjem steroida i na steroidima je 0.54 ± 0.86 *vs.* 0.67 ± 0.79, p=0.23. Između pojedinih skupina sa i bez steroida nema statistički značajne razlike u ti skoru na 12 mjeseci od transplantacije.

Slika 16. Usporedba ti skora na 12 mj. između skupine s ranim ukidanjem steroida i na steroidima



Legenda: Srednja vrijednost sa standardnom devijacijom, p=0.23

5.6 Prediktivna vrijednost epitelno-mezenhimne tranzicije za nastanak IF/TA-e

Za određivanje EMT-a i njene prediktivne vrijednosti u nastanku IF/TA-e analizirane su biopsije bubrega 1. i 3. mj. od transplantacije bubrega kod 15 bolesnika s ranim ukidanjem steroida i kod 15 bolesnika na sterodima u imunosupresiji održavanja.

Progresija ci i ct skora kod ove podskupine bolesnika prikazana je u tablici 28.

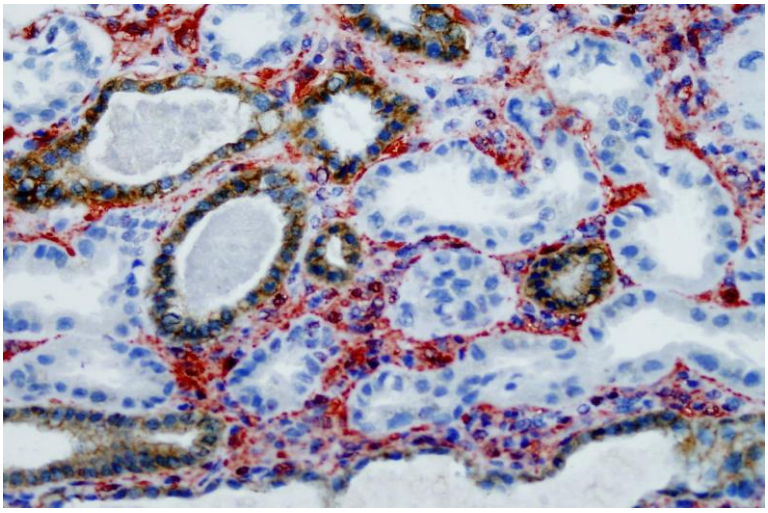
Tablica 28. Vrijednosti ci i ct skora pri implantaciji i 12 mj. od Tx u podskupini bolesnika za EMT

	nulta biopsija	12 mjeseci	p
ci skor	0.18 ± 0.48	0.86 ± 0.8	<0.001
ct skor	0.21 ± 0.42	0.96 ± 0.74	<0.001

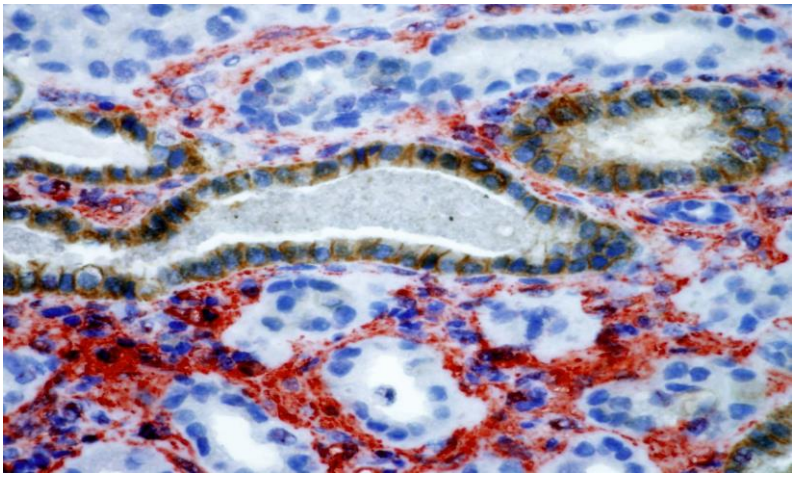
Učinjenom statističkom analizom dokazana je progresija ci i ct skora unutar prve godine od transplantacije bubrega.

Mikroskopski su pregledana i analizirana sva vidna polja na svim uzorcima. Nije nađen pozitivni EMT ni na jednoj biopsiji bubrega 1. i 3. mj. od transplantacije. Na slici 17 i 18 prikazan je uzorak biopsije transplantiranog bubrega imunohistokemijski bojan na E-kadherin i α-glatki mišić.

Slika 17. Imunohistokemijsko bojenje uzorka transplantiranog bubrega na E-kadherin i α-glatki mišić, povećanje 400 x



Slika 18. Imunohistokemijsko bojenje uzorka transplantiranog bubrega na E-kadherin i α-glatki mišić, povećanje 600 x



Legenda: Crveno se boji α-glatki mišić, a smeđe E kadherin. α-glatki mišić je pozitivan u intersticiju, a E kadherin u distalnim tubulima. Nema pozitivnog EMT-a.

6. RASPRAVA

Protokol s ranim ukidanjem steroida nakon transplantacije bubrega uvodi se više u kliničku praksu krajem 90-ih godina prošlog stoljeća kada počinje upotreba modernih imunosupresivnih lijekova MMF-a i takrolimusa [68]. Godine 2006. broj bolesnika liječenih prema tom protokolu u SAD-u je bio 40 %. Od tada je taj broj u kontinuiranom padu i po zadnjem registru iz 2017 god. iznosi 30 % [24]. Razloge toga treba tražiti u objavljenim studijama u kojima je prikazana povećana incidencija akutnih odbacivanja u tih bolesnika. 5-godišnji rezultati u randomiziranoj studiji Woodlea i sur. s ranim ukidanjem steroida (7 dana poslije transplantacije) pokazali su veću prevalenciju akutnog staničnog odbacivanja u skupini s ranim ukidanjem steroida u odnosu na one koji su bili trajno liječeni steroidima nakon transplantacije bubrega (p=0.04) [18]. Većina tih odbacivanja je bila IA stupnja te nije imala utjecaja na 5-godišnje preživljenje bolesnika i presatka niti na bubrežnu funkciju presatka. Rezultati FREEDOM studije su također pokazali veću prevalenciju akutnog odbacivanja u skupini s ranim ukidanjem steroida u odnosu na bolesnike koji su imali steroide u imunosupresiji održavanja nakon transplantacije bubrega (p=0.046) [17]. I u ovoj studiji je većina akutnih odbacivanja bila IA stupnja. Nakon ovih dviju studija dolazi do smanjene primjene protokola imunosupresije s ranim ukidanjem steroida nakon transplantacije bubrega. U obje studije su zamijećeni pozitivni učinci ranog ukidanja steroida u obliku smanjenja kardiovaskularnih čimbenika rizika (niži trigliceridi, smanjeno dobivanje na tjelesnoj težini te manja upotreba inzulina u NODAT-u) što bi trebalo ohrabriti kliničare u češćem korištenju protokola s ranim ukidanjem steroida.

Cilj ove studije bio je odrediti utjecaj ranoga ukidanja steroida na dugoročne ishode transplantacije bubrega u bolesnika s presađenim bubregom ili kombiniranom transplantacijom bubrega i gušterače. Poseban naglasak je stavljen na progresiju IF/TA-e nakon transplantacije i utjecaj ranoga ukidanja steroida na istu. Prikazani rezultati 5-godišnjeg preživljenja bolesnika i presatka između skupina s ranim ukidanjem steroida i na steroidima su bez statističke razlike među skupinama te su u skladu s objavljenim studijama [18, 69]. Nije utvrđena ni razlika u progresiji IF/TA-e i drugih patohistoloških skorova među dvjema skupinama. U retrospektivnoj studiji Luana i sur. iz američkog transplantacijskog registra uključeno je 95755 bolesnika s transplantiranim bubregom 2000 – 2006. godine [70]. Bolesnici s ranim ukidanjem steroida imali su statistički značajno bolje jedno- i

četverogodišnje preživljenje presatka i bolesnika u odnosu na bolesnike koji su imali steroide u imunosupresiji održavanja ($p<0.001$). Prema samim autorima te rezultate treba tumačiti uz veliku dozu opreza zbog retrospektivnog dizajna studije i velike razlike u kovarijablama između skupina. Studije Matasa i suradnika su jedine objavljene studije s dugogodišnjim (5-, 10- i 15-godišnjim) praćenjem bolesnika liječenih prema protokolu s ranim ukidanjem steroida [45, 46, 71]. U tim studijama je 5-godišnje preživljenje bolesnika s presatkom sa živog donora bilo 90%, a od preminulog donora 86% u skupini s ranim ukidanjem steroida. 5-godišnje preživljenje bubrežnog presatka od živog donora, necenzuriranog za smrt bolesnika, je 82% a od preminulog donora 77% u skupini s ranim ukidanjem steroida. U skupini s ranim ukidanjem steroida imali su jednako 10-godišnje, a bolje 15-godišnje preživljenje i bolesnika i presatka. Utjecaj ranog ukidanja steroida na smanjenje kardiovaskularnih čimbenika rizika, ranije dokazano u više studija, po prvi puta je rezultiralo i većim 15-godišnjim preživljenjem bolesnika i presatka u bolesnika s brzim ukidanjem steroida. 5-godišnje preživljenje bolesnika neovisno o tipu donora u našoj studiji bilo je 95%, a presatka (cenzurirano za smrt bolesnika) 96% u obje skupine imunosupresije te je istovjetno 5-godišnjem preživljenju bolesnika i presatka u ASTELLAS studiji. Bolje sveukupno preživljenje u našoj studiji u usporedbi s rezultatima iz studije Matasa i sur. je vjerojatno posljedica različitih uključnih kriterija između studija (bolesnici bez odgođene funkcije presatka, bolesnici s niskim imunološkim rizikom).

U ovom istraživanju se prevalencija akutnih odbacivanja prema stupnjevima odbacivanja nije razlikovala među skupinama imunosupresije sa i bez steroida. Više graničnog odbacivanja bilo je u skupini bolesnika sa steroidima, ali ta razlika nije imala statističku značajnost ($p=0.07$). Incidencija akutnih odbacivanja u 1. god. od transplantacije bila je 27 % u obje skupine imunosupresije. Akutno odbacivanje nije utjecalo na dugoročno preživljenje bolesnika i presatka niti na bubrežnu funkciju u obje skupine. Neovisno o tome je li granično odbacivanje analizirano kao pravo odbacivanje ili ne, nije bilo utjecaja na preživljenje bolesnika i presatka niti na bubrežnu funkciju presatka. Više studija pokazalo je veću incidenciju akutnih odbacivanja rano nakon transplantacije bubrega u skupini bolesnika s ranim ukidanjem steroida [17,18,72]. Ni u jednoj od tih studija razlika u incidenciji akutnih odbacivanja nije rezultirala razlikom u dugoročnom preživljenju bolesnika i presatka. Većina tih akutnih odbacivanja je blagog stupnja te dobro odgovara na liječenje bolusima steroidima. Ovi rezultati potvrđuju ranije rezultate studija u kojima je dokazano da liječeno akutno odbacivanje u eri moderne imunosupresije nema utjecaja na preživljenje bolesnika i presatka

[73]. Eventualni utjecaj akutnog odbacivanja na razvoj dnDSA i kasnije pojavu kroničnog odbacivanja posredovanog protutijelima u protokolu s ranim ukidanjem steroida nije dovoljno ispitan.

Jedan od patofizioloških mehanizama kojim se objašnjava manja incidencija akutnih odbacivanja u bolesnika sa steroidima u imunosupresiji je niža razina NK stanica nakon transplantacije kao posljedica upotrebe steroida [74]. U indukcijskoj imunosupresiji u bolesnika u SAD-u se najčešće koristi antitimocitni globulin posljedično mišljenju da antitimocitni globulin smanjuje incidenciju akutnih odbacivanja [75]. Rezultati Harmony studije su pak pokazali istovjetnost indukcije imunosupresije s antitimocitnim globulinom u odnosu na basiliksimab u bolesnika s ranim ukidanjem steroida. Broj akutnih odbacivanja u skupini s antitimocitnim globulinom u indukciji nije bio značajno manji nego u skupini s basiliksimabom (9.9 *vs*. 10.6 %, p=0.87) [23]. S druge strane, u više studija je pokazana povećana incidencija infekcija i limfoproliferativnih bolesti nakon upotrebe antitimocitnog globulina [49,76–78].

Subklinička upala se smatra značajnim prediktorom preživljenja i funkcije presatka [79, 80]. Ti skor opisuje ukupni upalni infiltrat u parenhimu bubrega neovisno o fibrozi te je prvi puta uveden u Banff 07 klasifikaciju [67]. U ovom istraživanju je ti skor na protokol biopsijama presatka učinjenim 12 mj. od transplantacije neovisni negativni prediktor bubrežne funkcije u 5. god. od transplantacije te čimbenik progresije IF/TA-e u 1. god. od transplantacije. U 39 % bolesnika je ti skor na biopsiji bubrega 12 mj. nakon transplantacije bio veći od 0. U studiji Mehta i sur. je subklinička upala na protokol biopsijama u 3. mj. od transplantacije u skupini bolesnika s ranim ukidanjem steroida bila neovisni čimbenik za nastanak dnDSA [44]. Također je bila neovisni negativni čimbenik za prisutnost IF/TA-e 12 mj. nakon transplantacije (p=0.008) te niže bubrežne funkcije 2 god. nakon transplantacije (p=0.05) u odnosu na bolesnike koji nisu imali upalu na protokol biopsijama 3 mj. od transplantacije. U bolesnika koji su imali subkliničku upalu bilo je više epizoda akutnog odbacivanja unutar 1 god. od transplantacije bubrega (24 % *vs.* 10%, p=0.015). Ovi rezultati su u skladu s našim istraživanjem u kojem se epizoda akutnog odbacivanja pokazala neovisnim prediktorom ti skora u biopsiji presatka 12 mj. od transplantacije. Studija Nankivella i sur. je pokazala da steroidi sami nisu dovoljni u liječenju subkliničkih odbacivanja [81]. Naime, u kontrolnim biopsijama nakon liječenja subkliničkog odbacivanja steroidima 50% bolesnika ima perzistirajuće odbacivanje. U našem istraživanju ne postoji statistička razlika u ti skoru 12 mj. nakon transplantacije među skupinama imunosupresije sa i

bez steroida. Ti rezultati daju naslutiti da niska doza steroida u imunosupresiji održavanja nije dovoljna da suprimira upalu u parenhimu bubrega. Studija Shishida i sur. je pokazala da je perzistentna kronična upala odgovorna za progresiju IF/TA-e [82]. Brža progresija IF/TA-e, lošija bubrežna funkcija presatka te lošije preživljenje presatka 5 god. od transplantacije bila je u skupini bolesnika koji su imali prisutne histološke znakove subkliničke upale u biopsijama bubrega s IF/TA-om. Kod bolesnika s IF/TA-om bez znakova upale je progresija iste unutar 5 god. od transplantacije bila neznatna kao što je neznatno bilo i smanjenje bubrežne funkcije. U našem istraživanju se ti skor pokazao snažnim neovisnim negativnim čimbenikom progresije IF/TA-e u 1. god. nakon transplantacije.

Prema našim saznanjima, ovo je prva studija u kojoj je analiziran utjecaj ranog ukidanja steroida nakon transplantacije na progresiju IF/TA-e u bolesnika s niskim imunološkim rizikom uz indukcijsku imunosupresiju protutijelom na IL-2 receptor, te kalcineurinski inhibitor (većinom takrolimus) i MMF u imunosupresiji održavanja. U istraživanju je utvrđena statistički značajna progresija IF/TA-e u 1. god. nakon transplantacije bubrega ($p<0.001$). U 50% bolesnika nije bilo progresije IF/TA-e, dok je u 40% progresija bila blaga, za 1 stupanj, u 1. god. nakon transplantacije bubrega. Nije bilo statistički značajne razlike u progresiji IF/TA-e između protokola imunosupresije s ranim ukidanjem steroida i sa steroidima. Studija Woodlea i sur. je pokazala povećanu incidenciju kronične nefropatije presatka u skupini s ranim ukidanjem steroida u odnosu na bolesnike sa steroidima ($p=0.028$) [18]. U ovoj studiji kronična nefropatija presatka nije bila predefinirana mjera ishoda. Kako nije rađena implantacijska biopsija, nije bilo moguće utvrditi progresiju kronične nefropatije presatka među skupinama imunosupresije. Randomizirana, prospektivna studija Laftavia i sur. pokazala je statistički značajnu progresiju IF/TA-e u 1. god. nakon transplantacije bubrega u skupini bolesnika s ranim ukidanjem steroida [72]. U ovoj studiji je u indukciji korišten antitimocitni globulin te su uključeni i bolesnici s visokim imunološkim rizikom pa se ti rezultati ne mogu ekstrapolirati na našu populaciju bolesnika. I ovdje su bolesnici sa subkliničkim odbacivanjem u protokol biopsiji imali veću progresiju fibroze u odnosu na bolesnike bez odbacivanja (64 % *vs.* 12 %, $p=0.001$). Multicentrična, prospektivna, randomizirana studija u pedijatrijskoj populaciji Sarwala i sur. nije pokazala značajnu razliku u progresiji IF/TA-e među skupinama s ranim ukidanjem steroida i sa steroidima unutar 2 god. od transplantacije bubrega [83]. U randomiziranoj prospektivnoj studiji Kumara i sur. s ranim ukidanjem steroida nije bilo statistički značajne razlike u progresiji kronične nefropatije presatka među skupinama [84]. Studija je uključila visokosenzibilizirane bolesnike s velikim

udjelom marginalnih donora (30%) uz korištenje protokol biopsija bubrega u 1., 6., 12. i 24. mj. od transplantacije. U indukciji imunosupresije je korišten basiliksimab, a u imunosupresiji održavanja ciklosporin i MMF. Nije bilo statistički značajne razlike u preživljenju bolesnika i presatka, incidenciji akutnih i subkliničkih odbacivanja, kroničnoj nefropatiji presatka i bubrežnoj fibrozi među skupinama imunosupresije s ranim ukidanjem steroida i sa steroidima u imunosupresiji održavanja. Rezultati naše studije s 5-godišnjim praćenjem bolesnika ukazuju da je protokol s ranim ukidanjem steroida siguran, tj. u odnosu na bolesnike koji su imali steroide u imunosupresiji održavanja nije bilo povećane incidencije akutnog i subkliničkog odbacivanja, kao ni razlike u progresiji IF/TA-e u 1. god. nakon transplantacije bubrega.

Epitelno-mezenhimna tranzicija nakon transplantacije (EMT) bubrega prisutna je u biopsijama presatka rano nakon transplantacije te bi mogla biti ranim markerom progresije IF/TA-e [63, 85, 86]. U prikazanoj studiji imunohistokemijskim bojenjem na α glatki mišić i E kadherin analizirana je prisutnost EMT u uzorcima biopsije bubrega. Pregledom i analizom svih uzoraka nije nađen EMT u biopsijama bubrega na 1. i 3. mj. od transplantacije. Studija Nankivella i sur. je pokazala da IF/TA nastaje rano nakon transplantacije te da progredira najbrže tijekom 1. godine [33]. U našoj studiji dolazi do blage progresije IF/TA-e tijekom 1. god., dok 50 % bolesnika uopće nema progresiju iste što je možda bilo uzrok nepostojanja EMT-a u našim uzorcima. Studija Vitalone i sur. je pokazala da prevalencija EMT-a varira u ovisnosti o metodi koja se koristi u zapažanju iste [87]. Upotrebom imunohistokemijskog bojenja na α glatki mišić, mezenhimalni markeri, koekspresija sa E kadherinom je bila prisutna u 61 % uzoraka s jako malim intenzitetom bojenja. Korištenjem S100A4, markera fibroblasta, koekspresija je bila prisutna u svim uzorcima. Neovisno o markeru koji je korišten nije bilo korelacije između ekspresije markera za EMT i progresije IF/TA-e unutar 1 god. od transplantacije.

Protokol s ranim ukidanjem steroida nakon transplantacije bubrega je učinkovit i siguran u bolesnika s niskim imunološkim rizikom. Protokol biopsijama bubrega se dokazala istovjetna progresija IF/TA-e u 1. god. nakon transplantacije između skupina imunosupresije sa i bez steroida. U skupini s ranim ukidanjem steroida nije bilo veće incidencije akutnih i subkliničkih odbacivanja te je subklinička upala na biopsijama presatka 12 mj. od transplantacije istovjetna kao i u skupini bolesnika koji su bili na steroidima. Ograničenja ovog istraživanja su što ovo nije bila randomizirana studija. Odluku o ukidanju steroida nakon transplantacije donosio je liječnik koji je u tom trenutku vodio imunosupresiju

bolesnika te je to možda dovelo do sustavne greške (eng. *biasa*) iako su uključeni i analizirani svi oni čimbenici koji bi eventualno mogli imati utjecaj na rezultate. Samo bolesnici koji su imali implantacijske i 12 mj. biopsije presatka su bili uključeni u studiju te je zbog toga moguće da rezultati preživljenja bolesnika i presatka ne odražavaju stvarno stanje. Nadalje, smatramo da bi bilo dobro rezultate progresije IF/TA-e 1. god. potvrditi protokol biopsijom 5 god. od transplantacije. Isto tako bi bilo korisno istražiti pojavnost dnDSA te utjecaj istih na eventualni nastanak kroničnih odbacivanja posredovanih protutijelima u bolesnika s brzim ukidanjem steroida. Modifikacija imunosupresivnih protokola i smanjenje nuspojava imunosupresivnih lijekova ostaje jedna od glavnih zadaća u transplantacijskoj medicini. Protokol s ranim ukidanjem steroida ne utječe na kratkoročne a vjerojatno poboljšava dugoročne ishode transplantacije dokidanjem nuspojava koje su povezane s kroničnim korištenjem istih.

7. ZAKLJUČAK

Nema statistički značajne razlike u progresiji IF/TA-e u skupinama imunosupresije s ranim ukidanjem steroida i onima koji su imali steroide u imunosupresiji održavanja. 1. i 5-godišnje preživljenje bolesnika i presatka je istovjetno u navedenim skupinama imunosupresije. U skupini s ranim ukidanjem steroida nema veće incidencije akutnih i subkliničkim akutnih odbacivanja u 1. god. nakon transplantacije. Nema statistički značajne razlike u ti skoru na protokol biopsijama bubrega 12 mj. nakon transplantacije bubrega između navedenih skupina imunosupresije. Bubrežna funkcija presatka u svim vremenskim intervalima (3, 6 i 12 mj., 1 te 5 god.) nakon transplantacije bila je jednaka među navedenim grupama bolesnika. Epitelno-mezenhimalna tranzicija nije bila detektirana u uzorcima protokol biopsija bubrega 1 i 3 mj. nakon transplantacije.

8. SAŽETAK

Utjecaj ranoga ukidanja steroida na progresiju fibroze i tubularne atrofije nakon transplantacije bubrega

Karlo Mihovilović, 2022

Uvod: Utjecaj ranoga ukidanja steroida na progresiju kroničnih patohistoloških promjena nakon transplantacije bubrega nije sasvim razjašnjen. Cilj studije je bio utvrditi utjecaj ranoga ukidanja steroida nakon transplantacije bubrega na progresiju IF/TA-e. Nadalje, analizirana je pojavnost subkliničke upale i akutnih te subkliničkih akutnih odbacivanja između skupina imunosupresije s ranim ukidanjem steroida i onima koji su steroide imali kontinuirano u imunosupresiji održavanja. 1. i 5. god. preživljenje bolesnika i presatka analizirano je među navedenim skupinama imunosupresije. Epitelno-mezenhimalna tranzicija (EMT) kao eventualni prediktor nastanka IF/TA-e analizirana je u protokol biopsijama 1. i 3. mj. od transplantacije.

Ispitanici i metode: U istraživanje su uključena 124 bolesnika s transplantiranim bubregom i simultano bubregom i gušteračom. Uključeni su bolesnici s niskim imunološkim rizikom bez odgođene funkcije presatka. U 79 bolesnika steroidi su ukidani peti dan od transplantacije a 45 bolesnika imalo je steroide kontinuirano u imunosupresiji održavanja uz kalcineurinski inhibitor i MMF. U indukcijskoj imunosupresiji korišteno je protutijelo na IL-2 receptor. Protokol biopsije bubrega su rađene pri implantaciji i 12 mj. od transplantacije. Progresija skorova (delta) tijekom prve godine od transplantacije dobivena je oduzimanjem kroničnih skorova na nultoj biopsiji od kroničnih skorova na 12 mj. od transplantacije. Skor totalne upale (ti) analiziran je na 12 mj. biopsijama. Vrijednosti skorova su 0 – 3. Za vrednovanje kroničnih patohistoloških promjena korištena je Banff 97 i Banff 07 klasifikacija. EMT je učinjen simultanim bojenjem na α glatki mišić i E kadherin na protokol biopsijama 1 i 3 mj. od transplantacije.

Rezultati: Između skupina imunosupresije s ranim ukidanjem steroida i na steroidima nema statistički značajne razlike u progresiji intersticijske fibroze (0.52 ± 0.62 *vs.* 0.69 ± 0.76, p=0.28) i tubularne atrofije (0.58 ± 0.67 *vs.* 0.76 ± 0.71, p=0.17). Nije bilo statistički značajne razlike u ti skoru na biopsijama bubrega 12 mj. nakon transplantacije među pojedinim

skupinama imunosupresije s ranim ukidanjem steroida i na steroidima (0.54±0.86 *vs.* 0.67±0.79, p=0.23). Nema razlike među grupama imunosupresije sa i bez steroida u preživljenju bolesnika i presatka 1. i 5. god. nakon transplantacije te incidenciji akutnih i subkliničkih odbacivanja u 1. god. nakon transplantacije bubrega. Bubrežna funkcija u svim vremenskim intervalima (3, 6 i 12 mj., 3 i 5 god.) nakon transplantacije bila je bez statistički značajne razlike među skupinama. EMT nije detektiran na uzorcima protokol biopsija bubrega.

Zaključak: Rano ukidanje steroida nakon transplantacije bubrega nema utjecaja na progresiju kroničnih patohistoloških skorova u 1. god. nakon transplantacije bubrega.

9. SUMMARY

Impact of early steroid withdrawal on progression of interstitial fibrosis and tubular atrophy after kidney transplantation

Karlo Mihovilović, 2022

Introduction: Long-term effects of early steroid withdrawal (ESW) on development of chronic pathophysiology changes in kidney allograft is unclear.

Methods: In this study we compared chronic scores on protocol biopsies in Caucasian kidney recipients (N=124) without DGF with ESW (79) vs. continuous steroids (45) on top of CNI and MMF. Induction consisted of IL-2R antibody. Protocol biopsies were done on day 0 and 1 year after transplant. Chronic scores (ci, ct, cg, mm, cv and ah) were analyzed by Banff' 97 and its update Banff 07 classification. Total inflammation (ti) score was analyzed on protocol biopsies 1 year after transplantation.

Results: Progression of interstitial fibrosis was in ESW (0.52 ± 0.62 *vs.* 0.69 ± 0.76, p=0.28) and in tubular atrophy (0.58 ± 0.67 *vs.* 0.76 ± 0.71, p=0.17) versus continuous steroids group. ti score on protocol kidney biopsies 12 months after transplantation was in ESW (0.54±0.86 *vs.* 0.67±0.79, p=0.23) versus continuous steroids group.

Conclusion: In conclusion, ESW does not have impact on progression of IF/TA. ti score was comparable between ESW and continuous steroids group on 12 moths protocol transplant biopsies.

10. POPIS LITERATURE

1 https://www.hdndt.org/registar-nadomjestanja-bubrezne-funkcije.

2 Adesina S, Alkhudhayri A, Patel JK, Naufal M, Geara A, Azzi J. Steroid withdrawal in kidney allograft recipients. Expert Rev Clin Immunol. 2014;10(9):1229–39.

3 Murray JE, Merrill JP, Harrisson JH, Wilson RE, Damin GJ. Prolonged survival of human-kidney homografts by immunosuppressive drug therapy. N Engl J Med. 1963 Jun;268:1315–23.

4 Marchioro TL, Terasaki PI, Hutchison DE, Brettschneider L, Cerilli GJ, Groth CG, et al. Renal transplantation at the University of Colorado. Transplantation. 1967 Jul;5(4):Suppl:831-6.

5 Starzl TE, Marchioro TL, Hutchinson DE, Porter KA, Cerilli GJ, Brettschneider L. The clinical use of antilymphocyte globulin in renal homotransplantation. Transplantation. 1967 Jul;5(4):Suppl:1100-5.

6 Vincenti F, de Andrés A, Becker T, Choukroun G, Cole E, González-Posada JM, et al. Interleukin-2 receptor antagonist induction in modern immunosuppression regimens for renal transplant recipients. Transpl Int. 2006 Jun;19(6):446–57.

7 Wallemacq PE, Reding R. FK506 (tacrolimus), a novel immunosuppressant in organ transplantation: clinical, biomedical, and analytical aspects. Clin Chem. 1993 Nov;39(11 Pt 1):2219–28.

8 Calne RY, White DJ, Thiru S, Evans DB, McMaster P, Dunn DC, et al. Cyclosporin A in patients receiving renal allografts from cadaver donors. Lancet (London, England). 2(8104–5):1323–7.

9 Safinia N, Afzali B, Atalar K, Lombardi G, Lechler RI. T-cell alloimmunity and chronic allograft dysfunction. Kidney Int. 2010;78(SUPPL. 119):S2–12.

10 Ekberg H, Tedesco-Silva H, Demirbas A, Vítko S, Nashan B, Gürkan A, et al. Reduced exposure to calcineurin inhibitors in renal transplantation. N Engl J Med. 2007 Dec;357(25):2562–75.

11 Augustine JJ, Hricik DE. Steroid sparing in kidney transplantation: changing paradigms, improving outcomes, and remaining questions. Clin J Am Soc Nephrol. 2006 Sep;1(5):1080–9.

12 Veenstra DL, Best JH, Hornberger J, Sullivan SD, Hricik DE. Incidence and long-term cost of steroid-related side effects after renal transplantation. Am J Kidney Dis. 1999 May;33(5):829–39.

13 Citterio F. Steroid side effects and their impact on transplantation outcome. Transplantation. 2001 Dec;72(12 Suppl):S75-80.

14 Miller LW. Cardiovascular toxicities of immunosuppressive agents. Am J Transplant. 2002 Oct;2(9):807–18.

15 Julian BA, Laskow DA, Dubovsky J, Dubovsky E V, Curtis JJ, Quarles LD. Rapid loss of vertebral mineral density after renal transplantation. N Engl J Med. 1991 Aug;325(8):544–50.

16 Rike AH, Mogilishetty G, Alloway RR, Succop P, Roy-Chaudhury P, Cardi M, et al. Cardiovascular risk, cardiovascular events, and metabolic syndrome in renal transplantation: comparison of early steroid withdrawal and chronic steroids. Clin Transpl. 2008;22(2):229–35.

17 Vincenti F, Schena FP, Paraskevas S, Hauser IA, Walker RG, Grinyo J. A randomized, multicenter study of steroid avoidance, early steroid withdrawal or standard steroid therapy in kidney transplant recipients. Am J Transpl. 2008;8(2):307–16.

18 Woodle ES, First MR, Pirsch J, Shihab F, Gaber AO, Van Veldhuisen P. A prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled multicenter trial comparing early (7 day) corticosteroid cessation versus long-term, low-dose corticosteroid therapy. Ann Surg. 2008;248(4):564–77.

19 Mengel M, Gwinner W, Schwarz A, Bajeski R, Franz I, Bröcker V, et al. Infiltrates in protocol biopsies from renal allografts. Am J Transplant. 2007;7(2):356–65.

20 Shimizu T, Toma H, Hayakawa N, Shibahara R, Ishiyama R, Hayashida A, et al. Clinical and pathological analyses of interstitial fibrosis and tubular atrophy cases after kidney transplantation. Nephrology. 2016;21:26–30.

21 Heilman RL, Devarapalli Y, Chakkera HA, Mekeel KL, Moss AA, Mulligan DC, et al. Impact of subclinical inflammation on the development of interstitial fibrosis and tubular atrophy in kidney transplant recipients. Am J Transpl. 2010;10(3):563–70.

22 Grewal H., Thistlethwaite J., Loss G., Bruce D., Siegel C., Cronin D., et al. Corticosteroid Cessation 1 Week Following Renal Transplantation Using Tacrolimus/Mycophenolate Mofetil Based Immunosuppression. Transplant Proc. 1998 Jun;30(4):1378–9.

23 Thomusch O, Wiesener M, Opgenoorth M, Pascher A, Woitas RP, Witzke O, et al. Rabbit-ATG or basiliximab induction for rapid steroid withdrawal after renal transplantation (Harmony): an open-label, multicentre, randomised controlled trial. Lancet. 2016 Dec;388(10063):3006–16.

24 Hart A, Smith JM, Skeans MA, Gustafson SK, Wilk AR, Castro S, et al. OPTN/SRTR 2017 Annual Data Report: Kidney. Am J Transplant. 2019;19 Suppl 2:19–123.

25 Haller MC, Royuela A, Nagler E V., Pascual J, Webster AC. Steroid avoidance or withdrawal for kidney transplant recipients. Cochrane Database Syst Rev. 2016;2016(8). DOI: 10.1002/14651858.CD005632.pub3

26 Kasiske BL, Kalil RS, Lee HS, Rao K V. Histopathologic findings associated with a chronic, progressive decline in renal allograft function. Kidney Int. 1991 Sep;40(3):514–24.

27 Halloran PF, Melk A, Barth C. Rethinking chronic allograft nephropathy: the concept of accelerated senescence. J Am Soc Nephrol. 1999 Jan;10(1):167–81.

28 Pascual M, Theruvath T, Kawai T, Tolkoff-Rubin N, Cosimi AB. Strategies to improve long-term outcomes after renal transplantation. N Engl J Med. 2002 Feb;346(8):580–90.

29 Colvin RB. Chronic allograft nephropathy. N Engl J Med. 2003 Dec;349(24):2288–90.

30 Cornell LD, Colvin RB. Chronic allograft nephropathy. Curr Opin Nephrol Hypertens. 2005 May;14(3):229–34.

31 Cosio FG, Grande JP, Larson TS, Gloor JM, Velosa JA, Textor SC, et al. Kidney allograft fibrosis and atrophy early after living donor transplantation. Am J Transplant. 2005 May;5(5):1130–6.

32 Kaplan B, Meier-Kriesche H-U. Death after graft loss: an important late study endpoint in kidney transplantation. Am J Transplant. 2002 Nov;2(10):970–4.

33 Nankivell BJ, Borrows RJ, Fung CL-S, O'Connell PJ, Allen RDM, Chapman JR. The natural history of chronic allograft nephropathy. N Engl J Med. 2003 Dec;349(24):2326–33.

34 Wadei HM, Rule AD, Lewin M, Mahale AS, Khamash HA, Schwab TR, et al. Kidney transplant function and histological clearance of virus following diagnosis of polyomavirus-associated nephropathy (PVAN). Am J Transplant. 2006 May;6(5 Pt 1):1025–32.

35 Cosio FG, Grande JP, Wadei H, Larson TS, Griffin MD, Stegall MD. Predicting subsequent decline in kidney allograft function from early surveillance biopsies. Am J Transplant. 2005 Oct;5(10):2464–72.

36 Kaplan B, Schold J, Meier-Kriesche H-U. Poor predictive value of serum creatinine for renal allograft loss. Am J Transplant. 2003 Dec;3(12):1560–5.

37 Vanhove T, Goldschmeding R, Kuypers D. Kidney Fibrosis: Origins and Interventions. Transplantation. 2017;101(4):713–26.

38 Kuypers DR, Chapman JR, O'Connell PJ, Allen RD, Nankivell BJ. Predictors of renal transplant histology at three months. Transplantation. 1999 May;67(9):1222–30.

39 Heilman RL, Chakkera HA, Reddy KS, Colby T V, Moss AA, Williams JW, et al. Clinical factors associated with graft fibrosis in kidney-transplant recipients on steroid-avoidance immunosuppression. Clin Transpl. 2008;22(3):309–15.

40 García-Carro C, Dörje C, Åsberg A, Midtvedt K, Scott H, Reinholt FP, et al. Inflammation in Early Kidney Allograft Surveillance Biopsies With and Without Associated Tubulointerstitial Chronic Damage as a Predictor of Fibrosis Progression and Development of De Novo Donor Specific Antibodies. Transplantation. 2017;101(6):1410–5.

41 Vanhove T, Vermeulen T, Annaert P, Lerut E, Kuypers DRJ. High Intrapatient Variability of Tacrolimus Concentrations Predicts Accelerated Progression of Chronic Histologic Lesions in Renal Recipients. Am J Transplant. 2016;16(10):2954–63.

42 El Ters M, Grande JP, Keddis MT, Rodrigo E, Chopra B, Dean PG, et al. Kidney allograft survival after acute rejection, the value of follow-up biopsies. Am J Transplant. 2013 Sep;13(9):2334–41.

43 Cosio FG, Lager DJ, Lorenz EC, Amer H, Gloor JM, Stegall MD. Significance and

implications of capillaritis during acute rejection of kidney allografts. Transplantation. 2010 May;89(9):1088–94.

44 Mehta R, Bhusal S, Randhawa P, Sood P, Cherukuri A, Wu C, et al. Short-term adverse effects of early subclinical allograft inflammation in kidney transplant recipients with a rapid steroid withdrawal protocol. Am J Transplant. 2018;18(7):1710–7.

45 Rizzari MD, Suszynski TM, Gillingham KJ, Dunn TB, Ibrahim HN, Payne WD, et al. Article Ten-Year Outcome after Rapid Discontinuation of Prednisone in Adult Primary Kidney Transplantation. 2012;7(16). DOI: 10.2215/CJN.08630811

46 Serrano OK, Kandaswamy R et al. Rapid discontinuation of prednisone (RDP) in kidney transplant (KTx) recipients: 15-year outcomes. Transplantation. 2016;100(7 Supplement 1):S397.

47 Brennan DC, Daller JA, Lake KD, Cibrik D, Del Castillo D, Thymoglobulin Induction Study Group. Rabbit antithymocyte globulin versus basiliximab in renal transplantation. N Engl J Med. 2006 Nov;355(19):1967–77.

48 Lebranchu Y, Bridoux F, Büchler M, Le Meur Y, Etienne I, Toupance O, et al. Immunoprophylaxis with basiliximab compared with antithymocyte globulin in renal transplant patients receiving MMF-containing triple therapy. Am J Transplant. 2002 Jan;2(1):48–56.

49 Mourad G, Rostaing L, Legendre C, Garrigue V, Thervet E, Durand D. Sequential protocols using basiliximab versus antithymocyte globulins in renal-transplant patients receiving mycophenolate mofetil and steroids. Transplantation. 2004 Aug;78(4):584–90.

50 Lee H, Lee S, Jeon JS, Kwon SH, Noh H, Han DC, et al. Thymoglobulin Versus Basiliximab Induction Therapy in Low-Risk Kidney Transplant Recipients: A Single-Center Experience. Transplant Proc. 2018 Jun;50(5):1285–8.

51 Mihovilović K, Maksimović B, Kocman B, Guštin D, Vidas Ž, Bulimbašić S, et al. Effect of mycophenolate mofetil on progression of interstitial fibrosis and tubular atrophy after kidney transplantation: A retrospective study. BMJ Open. 2014;4(7):1–8.

52 Djamali A, Reese S, Yracheta J, Oberley T, Hullett D, Becker B. Epithelial-to-mesenchymal transition and oxidative stress in chronic allograft nephropathy. Am J Transplant. 2005 Mar;5(3):500–9.

53 Iwano M, Plieth D, Danoff TM, Xue C, Okada H, Neilson EG. Evidence that fibroblasts derive from epithelium during tissue fibrosis. J Clin Invest. 2002 Aug;110(3):341–50.

54 Galichon P, Finianos S, Hertig A. EMT-MET in renal disease: Should we curb our enthusiasm? Cancer Lett. 2013;341(1):24–9.

55 Hay ED. An overview of epithelio-mesenchymal transformation. Acta Anat (Basel). 1995;154(1):8–20.

56 Thiery JP, Sleeman JP. Complex networks orchestrate epithelial-mesenchymal transitions. Nat Rev Mol Cell Biol. 2006 Feb;7(2):131–42.

57 Li J, Bertram JF. Review: Endothelial-myofibroblast transition, a new player in

diabetic renal fibrosis. Nephrology (Carlton). 2010 Aug;15(5):507–12.

58 Yang J, Dai C, Liu Y. A novel mechanism by which hepatocyte growth factor blocks tubular epithelial to mesenchymal transition. J Am Soc Nephrol. 2005 Jan;16(1):68–78.

59 Yang J, Liu Y. Blockage of tubular epithelial to myofibroblast transition by hepatocyte growth factor prevents renal interstitial fibrosis. J Am Soc Nephrol. 2002 Jan;13(1):96–107.

60 Zeisberg M, Hanai J, Sugimoto H, Mammoto T, Charytan D, Strutz F, et al. BMP-7 counteracts TGF-beta1-induced epithelial-to-mesenchymal transition and reverses chronic renal injury. Nat Med. 2003 Jul;9(7):964–8.

61 Park S-H, Choi M-J, Song I-K, Choi S-Y, Nam J-O, Kim C-D, et al. Erythropoietin decreases renal fibrosis in mice with ureteral obstruction: role of inhibiting TGF-beta-induced epithelial-to-mesenchymal transition. J Am Soc Nephrol. 2007 May;18(5):1497–507.

62 Copeland JWG V, Beaumont BW, Merrilees MJ, Pilmore HL. Epithelial-to-mesenchymal transition of human proximal tubular epithelial cells: effects of rapamycin, mycophenolate, cyclosporin, azathioprine, and methylprednisolone. Transplantation. 2007 Mar;83(6):809–14.

63 Hertig A, Anglicheau D, Verine J, Pallet N, Touzot M, Ancel PY, et al. Early epithelial phenotypic changes predict graft fibrosis. J Am Soc Nephrol. 2008;19(8):1584–91.

64 Rostaing L, Hertig A, Albano L, Anglicheau D, Durrbach A, Vuiblet V, et al. Fibrosis progression according to epithelial-mesenchymal transition profile: A randomized trial of everolimus versus CsA. Am J Transplant. 2015;15(5):1303–12.

65 Xu-Dubois YC, Peltier J, Brocheriou I, Suberbielle-Boissel C, Djamali A, Reese S, et al. Markers of Endothelial-to-Mesenchymal Transition: Evidence for Antibody-Endothelium Interaction during Antibody-Mediated Rejection in Kidney Recipients. J Am Soc Nephrol. 2016;27(1):324–32.

66 Racusen LC, Solez K, Colvin RB, Bonsib SM, Castro MC, Cavallo T, et al. The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. Kidney Int. 1999 Feb;55(2):713–23.

67 Solez K, Colvin RB, Racusen LC, Haas M, Sis B, Mengel M, et al. Banff 07 classification of renal allograft pathology: updates and future directions. Am J Transplant. 2008 Apr;8(4):753–60.

68 Steiner RW, Awdishu L. Steroids in kidney transplant patients. Semin Immunopathol. 2011;33(2):157–67.

69 Barraclough KA, Landsberg DN, Shapiro RJ, Gill JS, Li G, Balshaw RF, et al. A matched cohort pharmacoepidemiological analysis of steroid free immunosuppression in renal transplantation. Transplantation. 2009;87(5):672–80.

70 Luan FL, Steffick DE, Gadegbeku C, Norman SP, Wolfe R, Ojo AO. Graft and patient survival in kidney transplant recipients selected for de novo steroid-free maintenance immunosuppression. Am J Transpl. 2009;9(1):160–8.

71 Matas AJ, Kandaswamy R, Gillingham KJ, McHugh L, Ibrahim H, Kasiske B, et al. Prednisone-free maintenance immunosuppression - A 5-year experience. Am J

Transplant. 2005;5(10):2473–8.

72 Laftavi MR, Stephan R, Stefanick B, Kohli R, Dagher F, Applegate M, et al. Randomized prospective trial of early steroid withdrawal compared with low-dose steroids in renal transplant recipients using serial protocol biopsies to assess efficacy and safety. Surgery. 2005;137(3):364–71.

73 Meier-Kriesche H-U, Schold JD, Srinivas TR, Kaplan B. Lack of improvement in renal allograft survival despite a marked decrease in acute rejection rates over the most recent era. Am J Transplant. 2004 Mar;4(3):378–83.

74 Hruba P, Tycova I, Krepsova E, Girmanova E, Sekerkova A, Slatinska J, et al. Steroid free immunosuppression is associated with enhanced Th1 transcripts in kidney transplantation. Transpl Immunol. 2017;42:18–23.

75 Sureshkumar KK, Thai NL, Hussain SM, Ko TY, Marcus RJ. Influence of induction modality on the outcome of deceased donor kidney transplant recipients discharged on steroid-free maintenance immunosuppression. Transplantation. 2012 Apr;93(8):799–805.

76 Clesca P, Dirlando M, Park S-I, García R, Ferraz E, Pinheiro-Machado PG, et al. Thymoglobulin and rate of infectious complications after transplantation. Transplant Proc. 2007 Mar;39(2):463–4.

77 Opelz G, Naujokat C, Daniel V, Terness P, Döhler B. Disassociation between risk of graft loss and risk of non-Hodgkin lymphoma with induction agents in renal transplant recipients. Transplantation. 2006 May;81(9):1227–33.

78 Kirk AD, Cherikh WS, Ring M, Burke G, Kaufman D, Knechtle SJ, et al. Dissociation of depletional induction and posttransplant lymphoproliferative disease in kidney recipients treated with alemtuzumab. Am J Transplant. 2007 Nov;7(11):2619–25.

79 Rush D, Nickerson P, Gough J, McKenna R, Grimm P, Cheang M, et al. Beneficial effects of treatment of early subclinical rejection: a randomized study. J Am Soc Nephrol. 1998 Nov;9(11):2129–34.

80 Rush DN, Jeffery JR, Gough J. Sequential protocol biopsies in renal transplant patients. Clinico-pathological correlations using the Banff schema. Transplantation. 1995 Feb;59(4):511–4.

81 Kee TYS, Chapman JR, O'Connell PJ, Fung CLS, Allen RDM, Kable K, et al. Treatment of subclinical rejection diagnosed by protocol biopsy of kidney transplants. Transplantation. 2006;82(1):36–42.

82 Shishido S, Asanuma H, Nakai H, Mori Y, Satoh H, Kamimaki I, et al. The impact of repeated subclinical acute rejection on the progression of chronic allograft nephropathy. J Am Soc Nephrol. 2003;14(4):1046–52.

83 Naesens M, Salvatierra O, Benfield M, Ettenger RB, Dharnidharka V, Harmon W, et al. Subclinical inflammation and chronic renal allograft injury in a randomized trial on steroid avoidance in pediatric kidney transplantation. Am J Transplant. 2012;12(10):2730–43.

84 Kumar MS, Xiao SG, Fyfe B, Sierka D, Heifets M, Moritz MJ, et al. Steroid avoidance in renal transplantation using basiliximab induction, cyclosporine-based immunosuppression and protocol biopsies. Clin Transpl. 2005;19(1):61–9.

85 Vitalone MJ, Naesens M, Sigdel T, Li L, Hseih S, Sarwal MM. The dual role of epithelial-to-mesenchymal transition in chronic allograft injury in pediatric renal transplantation. Transplantation. 2011;92(7):787–95.

86 Hazzan M, Hertig A, Buob D, Copin MC, Noël C, Rondeau E, et al. Epithelial-to-mesenchymal transition predicts cyclosporine nephrotoxicity in renal transplant recipients. J Am Soc Nephrol. 2011;22(7):1375–81.

87 Vitalone MJ, O'Connell PJ, Jimenez-Vera E, Yuksel A, Wavamunno M, Fung CLS, et al. Epithelial-to-mesenchymal transition in early transplant tubulointerstitial damage. J Am Soc Nephrol. 2008;19(8):1571–83.

11. ŽIVOTOPIS

Karlo Mihovilović rođen je 22. ožujka 1983. godine u Splitu. Osnovnoškolsko i srednjoškolsko obrazovanje završava u Splitu. 2007. godine diplomirao je na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Kao pripravnik Kliničke bolnice Merkur je 2009. položio državni stručni ispit. Od 2009. do 2011. god. radi kao znanstveni novak na projektu prof. Mladena Knoteka u Kliničkoj bolnici Merkur. Od 2011. do 2015. godine radi kao specijalizant interne medicine u Kliničkoj bolnici Merkur. Specijalistički ispit iz interne medicine položio je 2015. godine. Od 2015. do 2018. god. radi kao subspecijalizant nefrologije u Švedskoj. 2018. god. je postao subspecijalist nefrologije na Sveučilišnoj bolnici Sahlgrenska, Gothenburg, Švedska. Od 2019. god. radi kao voditelj odjela za hemodijalizu u istoj ustanovi. Koautor je 11 znanstvenih radova.