

Utjecaj odgođene funkcije presatka na progresiju kroničnih histoloških promjena u presađenom bubregu

Maksimović, Bojana

Doctoral thesis / Disertacija

2018

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:527446>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-06-14**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Bojana Maksimović

**Utjecaj odgođene funkcije presatka
na progresiju kroničnih histoloških
promjena u presađenom bubregu**

DISERTACIJA



Zagreb, 2018.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Bojana Maksimović

**Utjecaj odgođene funkcije presatka
na progresiju kroničnih histoloških
promjena u presađenom bubregu**

DISERTACIJA

Zagreb, 2018.

Disertacija je izrađena u Klinici za unutarnje bolesti KB 'Merkur' u Zagrebu i
Kliničkom zavodu za patologiju i citologiju KB 'Dubrava' u Zagrebu.

Mentor | Prof. dr. sc. Mladen Knotek

—
—

ZAHVALA

Velika Hvala mojim roditeljima, sestri i prijateljima na podršci i poticaju za izradu ove disertacije.

S osjećajem dubokog poštovanja zahvaljujem se mojim učiteljima,
Prof. dr. sc. Sabljar Matovinović na pomoći i dragocjenim savjetima, i mom mentoru i prijatelju
Izv. prof. dr. sc. Mladenu Knoteku, na nesebičnom učenju, poticaju i suradnji.

SADRŽAJ

1.	UVOD	1
1.1.	Ishodi transplantacije bubrega	1
1.2.	Uzroci disfunkcije bubrežnog presatka	1
1.3.	Odgođena funkcija presatka	4
1.4.	Imunosupresija	8
1.4.1.	Indukcijska terapija	8
1.4.2.	Pregled imunosupresivnih protokola	9
1.4.3.	Kalcineurinski inhibitori	10
1.4.4.	Antimetaboliti	11
1.4.5.	Kortikosteroidi	12
1.4.6.	mTOR inhibitori	12
1.4.7.	Belatacept	13
1.5.	Akutna i kronična odbacivanja	13
1.5.1.	Definicija i Banff klasifikacija	13
1.5.2.	Odbacivanje posredovano T-limfocitima	14
1.5.3.	Odbacivanje posredovano protutijelima	14
1.5.4.	Terapijske opcije	15
1.5.5.	Donor specifična protutijela (DSA)	16
2.	HIPOTEZA I CILJEVI RADA	17
3.	MATERIJALI I METODE	18
3.1.	Ispitanici	18
3.2.	Protokol studije	18
3.3.	Imunosupresija	18
3.4.	Istraživačke metode	19
3.4.1.	Podaci o darivatelju, primatelju i transplantaciji	19
3.5.	Laboratorijske metode	20
3.6.	HLA tipizacija	20
3.7.	Biopsija presatka	21
3.7.1.	Akutna odbacivanja	22
3.8.	Statističke metode	22

4.	REZULTATI	23
4.1.	Obilježja bolesnika	23
4.2.	Preživljenje bolesnika i bubrega	24
4.3.	Obilježja bolesnika s obzirom na OFP i preživljenje bubrega i bolesnika, ovisno o OFP	26
4.4.	Utjecaj OFP-a na progresiju kroničnih patohistoloških promjena (složeni kronični histološki skor, SKS) presađenog bubrega	28
4.5.	Utjecaj OFP-a na promjenu pojedinih patohistoloških skorova (Δ) tijekom 1. godine nakon transplantacije bubrega	32
4.6.	Utjecaj OFP-a na dugoročnu funkciju (do 5 godina nakon transplantacije) bubrežnog presatka procijenjenu putem eGFR-a	37
4.7.	Utjecaj OFP-a na stopu gubitka eGFR-a (ml/min/1.73 m²) između 6 mjeseci i 5 godina nakon transplantacije	38
4.8.	Učestalost akutnog odbacivanja u bolesnika sa i bez OFP-a	39
5.	RASPRAVA	40
6.	ZAKLJUČCI	46
7.	SAŽETAK	47
8.	SUMMARY	48
9.	POPIS TABLICA I SLIKA	49
10.	LITERATURA	50

—
—

POPIS SKRAĆENICA I SIMBOLA

ABMR	odbacivanje posredovano antitijelima (<i>eng. antibody mediated rejection</i>)
ah	hijalinoza arteriola
AO	akutno odbacivanje
ATG	antitimocitni globulin
ATN	akutna tubularna nekroza
BK	polioma virus, inicijali pacijenta
CAN	kronična nefropatija presatka (<i>eng. chronic allograft nephropathy</i>)
CDC	citotoksičnost ovisna o komplementu (<i>eng. complement-dependent cytotoxicity</i>)
ci	kronične promjene intersticija
CMV	citomegalovirus
CNI	kalcineurinski inhibitor (<i>eng. calcineurin inhibitor</i>)
CsA	ciklosporin A
ct	kronične promjene tubula
cv	kronične promjene krvnih žila
DCD	doniranje nakon srčane smrti (<i>eng. donation after cardiac death</i>)
DSA	donor specifična antitijela (<i>eng. donor specific antibody</i>)
ECD	darivatelji prema proširenim kriterijima (<i>eng. expanded criteria donor</i>)
ECM	izvanstanični matriks (<i>eng. extracellular matrix</i>)
eGFR	procijenjena glomerularna filtracija (<i>eng. estimated glomerular filtration rate</i>)
FDA	<i>eng. Food and Drug Administration</i>
GBM	glomerularna bazalna membrana
HE	hemalaun eozin
HLA	sistem leukocitnih antigena (<i>eng. human leukocyte antigen</i>)
HPLC	tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (<i>eng. high performance liquid chromatography</i>)
IL-2	interleukin-2
IF/TA	intersticijska fibroza i tubularna atrofija
KBB	kronična bubrežna bolest
KDIGO	<i>eng. Kidney Disease Improving Global Outcomes</i>
KNP	kronična nefropatija presatka
MDRD	<i>eng. Modification of Diet in Renal Disease</i>
MFI	intenzitet fluorescencije (<i>eng. mean fluorescence intensity</i>)
MHC	glavni kompleks histokompatibilnosti (<i>eng. major histocompatibility complex</i>)
MM	nepodudarnost (<i>eng. mismatch</i>)
MMF	mikofenolat mofetil
MPA	mikofenolna kiselina (<i>eng. mycophenolic acid</i>)
mTOR	<i>eng. mammalian Target Of-Rapamycin</i>
OFP	odgođena funkcija presatka
PAS	<i>eng. periodic acid shift</i>
SD	standardna devijacija
SCD	darivatelji prema standardnim kriterijima (<i>eng. standard criteria donors</i>)
SFP	spora funkcija presatka
SKS	složeni kronični skor
SPKT	simultana transplantacija bubrega i gušterače (<i>eng. simultaneous pancreas kidney transplant</i>)
Tac	takrolimus
TCMR	odbacivanje posredovano stanicama (<i>eng. T cell mediated rejection</i>)
TG	transplantacijska glomerulopatija
TGFβ	transformirajući čimbenik rasta beta (<i>eng. transforming growth factor beta</i>)

1. UVOD

Transplantacija bubrega je metoda nadomještanja bubrežne funkcije. Za većinu bolesnika ona predstavlja metodu izbora u odnosu na hemodijalizu i peritonejsku dijalizu, kako s aspekta kvalitete života tako i s obzirom na preživljenje bolesnika.

Istraživanja su pokazala značajno smanjenje smrtnosti nakon transplantacije bubrega u usporedbi s dijalizom. Wolfe i autori (1) pokazali su da transplantacija bubrega udvostručuje očekivano trajanje života u odnosu na bolesnike na dijalizi koji su na listi čekanja u SAD-u. Navedeno je potvrđeno i u europskim, australskim i kanadskim studijama (2-5). Unatoč inicijalno većem riziku smrtnog ishoda nakon transplantacije, dugoročno preživljenje značajno je bolje kod transplantiranih bolesnika nego onih na listi čekanja koji ostaju na dijalizi. Prema nekim novijim podacima uspješna transplantacija utrostručuje očekivano preživljenje bolesnika (2). U kontekstu navedenog, iznimno su važni dugoročni ishodi transplantacije bubrega te optimiziranje čimbenika koji mogu utjecati na preživljenje presatka i bolesnika.

1.1. Ishodi transplantacije bubrega

Unatoč rezultatima koji su doveli do poboljšanja jednogodišnjeg preživljenja presatka, stopa kroničnog gubitka ostala je značajna (6).

Istraživanje iz 2004. godine u kojem je analizirana skupina bolesnika transplantiranih između 1995. i 2000. godine, pokazalo je značajno smanjenje stope akutnih odbacivanja, ali ne i poboljšanje dugoročnog preživljenja presatka (7). Noviji podaci pokazuju trend poboljšanja. Prema podacima Američkog registra transplantiranih bolesnika (SRTR) preživljenje presatka, cenzurirano za smrt bolesnika, pokazuje porast u posljednjem desetljeću (8). Prema navedenim rezultatima ukupno desetogodišnje preživljenje presatka, od živih i umrlih donora, iznosi 55 do 60%, u usporedbi s 35 do 40% u prethodnom desetljeću (8).

1.2. Uzroci disfunkcije bubrežnog presatka

Početkom 80-ih godina prošlog stoljeća glavni uzrok gubitka funkcije bubrežnog presatka bilo je akutno stanično odbacivanje. Razvojem učinkovitije immunosupresivne terapije tijekom 80-ih i 90-ih godina prošlog stoljeća značajno je smanjena stopa akutnog odbacivanja i poboljšano rano preživljenje presatka. Prema novijim podacima, danas se smatra da je glavni uzrok gubitka presatka nakon prve godine vjerovatno multifaktorijalan, odnosno da više čimbenika utječe na ishod presatka.

Ranije se koristilo više naziva u opisivanju progresivne disfunkcije presatka, na primjer: kronično odbacivanje, transplantacijska nefropatija, transplantacijska glomerulopatija, kronična ozljeda

presatka ili kronična nefropatija presatka (KNP) (engl. chronic allograft nephropathy, CAN) (9-11). Pojam KNP je prvi puta uveden 1993. godine (12). Naziv je obuhvaćao četiri entiteta koja se nisu uvijek mogla dobro razlikovati na biopsijama (kronično odbacivanje, toksični učinak kalcineurinskih inhibitora, hipertenzivna vaskularna bolest i infekcije).

Banff klasifikacija iz 2005. godine promjenila je naziv KNP u "intersticijska fibroza s tubularnom atrofijom (IF/TA), bez dokaza o nekoj drugoj etiologiji". Iste godine je u klasifikaciju uvedena kategorija "kroničnog aktivnog odbacivanja posredovanog protutijelima", a 2013. uvedena je kategorija C4d negativnog odbacivanja posredovanog protutijelima (13, 14).

Patohistološke promjene objedinjene u pojmu KNP zahvaćaju sve dijelove bubrežnog parenhima: krvne žile, glomerule, intersticij i tubule. Glavna histološka obilježja progresivne disfunkcije presatka su intersticijska fibroza i tubularna atrofija (IF/TA), okluzivne promjene krvnih žila i glomeruloskleroza. IF/TA, uz smrt s presatkom u funkciji, jedan je od glavnih uzroka kasnog gubitka presatka (7, 16-18).

Patofiziološki mehanizmi navedenih promjena nisu sasvim razjašnjeni. Smatra se da navedene promjene nastaju kao posljedica imunoloških i neimunoloških mehanizama. Danas se zna da u većini slučajeva gubitka presatka postoji specifični uzrok koji nije samo idiopatska IF/TA ili toksičnost kalcineurinskih inhibitora (CNI) te da aloimunost predstavlja vodeći mehanizam koji dovodi do gubitka presatka (18, 19). Definirani su klinički čimbenici koji utječu na nastanak i progresiju IF/TA-e, a to su: starija dob donora, HLA nepodudarnost, prethodno akutno odbacivanje te BK virusna nefropatija (20-23). U novijim istraživanjima pokušava se etiološki razjasniti stanja koja dovode do IF/TA-e, odnosno utvrditi pojedinačne dijagnoze kao što su: glomerulopatija presatka (koja je najčešće manifestacija kroničnog odbacivanja posredovanog protutijelima), kalcineurinska toksičnost, kronično aktivno odbacivanje posredovano T-limfocitima, ili povrat osnovne bolesti. U Banff klasifikaciji iz 2007. godine uvedena je dijagnostička kategorija 5, idiopatska intersticijska fibroza i tubularna atrofija, IF/TA u odsutnosti znakova koji bi govorili u prilog specifičnoj etiologiji (13). Banff klasifikacija gradiira jačinu IF/TA-e (13, 14) prema opsežnosti intersticijske fibroze i stupnju atrofije tubula.

- Stadij I – blaga fibroza intersticija (6-25% kortikalnog područja) i blaga atrofija tubula (npr. do 25%)
- Stadij II – umjerena fibroza intersticija (26-50%) i umjerena tubularna atrofija (26-50%)
- Stadij III – jaka intersticijska fibroza (>50% kortikalnog područja) i tubularna atrofija (>50% područja kortikalnih tubula)

Istraživanje Nankivella i suradnika, prvi je puta definiralo prirodni tijek kroničnog oštećenja presatka (21). Istraživanje je provedeno na 120 bolesnika, većinom s presađenim bubregom i gušteračom. Pokazano je da postoje dvije faze kroničnog oštećenja presatka: rana, obilježena IF/TA-om, koja je pripisana imunološkim mehanizmima, teškom akutnom odbacivanju ili perzistentnom supkliničkom odbacivanju i ishemijsko reperfuzijskoj ozljedi te kasna, karakterizirana progresivnom hijalinozom arteriola, ishemijskom glomerulosklerozom i progresijom IF/TA-e, koju su autori povezali s dugoročnom nefrotoksičnošću kalcineurinskih inhibitora. Ovo istraživanje je, međutim, utemeljeno na danas već zastarjelom imunosupresivnom protokolu, i ne mora biti primjenjivo u suvremenim okolnostima. Također, u istraživanje su bili uključeni primatelji bubrega mladih darivatelja, bez značajnih

preegzistentnih kroničnih promjena bubrega. Stegall i suradnici (24) su proveli istraživanje u kojem su promatrane histološke promjene u bolesnika s transplantiranim bubregom (uglavnom od živog darivatelja), 1 i 5 godina nakon transplantacije. Dobili su drukčije rezultate. U tom istraživanju koje je provedeno na ukupno 578 bolesnika, nađena je prevalencija umjerene do teške fibroze u samo 17% bolesnika nakon 5 godina, za razliku od prethodno navedenog istraživanja Nankivella i sur., koji su utvrdili da 66% bolesnika nakon 5 godina razvije umjerenu do tešku intersticijsku fibrozu. U istraživanju Stegalla i sur. pokazano je da umjerena fibroza koja je bila prisutna u biopsijama nakon 1 godine progredira u teži stupanj fibroze nakon 5 godina u samo 23% bolesnika (24). Neovisno o dobivenim različitim rezultatima (istraživanja su učinjena na različitim skupinama bolesnika s obzirom na presađeni organ - gušterača i bubreg ili samo bubreg te nisu uključivale bolesnike s presatkom od darivatelja prema proširenim kriterijima, korišteni su različiti imunosupresijski protokoli) dokazano je postojanje kroničnih progresivnih histoloških promjena u znatnom broju bolesnika s transplantiranim bubregom. Međutim, ostalo je otvoreno pitanje njihovog uzroka i mogućnosti prevencije, odnosno usporavanja njihove progresije.

Važno je izdvojiti i pojasniti pojam transplantacijske glomerulopatije (TG) koji se prvi puta spominje u 70-im godinama prošlog stoljeća. U preglednom članku Cosia i suradnika (11) transplantacijska glomerulopatija definirana je prema preporukama Banff klasifikacije, kao karakteristično dupliranje glomerularne bazalne membrane (GBM) vidljivo na svjetlosnoj mikroskopiji. U protokolarnim biopsijama učinjenim godinu dana nakon transplantacije TG je relativno rijetka histološka lezija u usporedbi s drugima. Cosio i suradnici proveli su istraživanje na biopsijama 292 bolesnika. Biopsije su učinjene u prvoj godini nakon transplantacije. Nađeno je da u 87 bolesnika nije bilo patoloških promjena (30%), u 6 bolesnika nađena je upala (2%), u njih 131 (45%) fibroza, u 53 (18%) fibroza i upala, a u 15 bolesnika (5%) transplantacijska glomerulopatija (25). TG je povezana s lošijim ishodom presatka (11). TG je patohistološki entitet, koji prema Banff klasifikaciji spada u kategoriju kroničnih aktivnih odbacivanja posredovanih protutijelima (14). Povezana je s prisutnošću donor specifičnih antitijela (DSA), pogotovo na antigene razreda II HLA. Ostaje nejasno je li transplantacijska glomerulopatija rezultat perzistirajućeg odbacivanja posredovanog protutijelima (engl. antibody mediated rejection, ABMR), ili je samo posljedica aktivacije i ozljede endotelinih stanica. Za sada nedostaje adekvatna terapija (11, 26).

Novija američka, kanadska i europska istraživanja sugeriraju da su specifične bolesti u podlozi progresivnog zatajivanja presatka. Ta istraživanja pokazala su veliku važnost imunoloških mehanizama oštećenja presatka, tj. odbacivanja posredovanog protutijelima (ABMR) kao i de novo ili rekurentne glomerularne patologije kao uzroka disfunkcije presatka (18, 27, 28, 29).

U istraživanju američke skupine s Mayo klinike na 1317 transplantiranih bolesnika, smrt s presatkom u funkciji i primarna ne funkcija presatka činili su 53% uzroka gubitka presatka, a ostali uzroci bili su različiti, poput glomerularne patologije, povrata ili de novo glomerulonefritisa, sekundarnih uzroka fibroze / atrofije (BK nefropatija, rekurentne urinarne infekcije), zatim internističkih i kirurških komplikacija i akutnih odbacivanja. U samo 7 slučajeva gubitka presatka nije nađen specifičan uzorak gubitka presatka (18).

Istraživanje Naesensa i suradnika (28) na europskoj skupini 1197 transplantiranih bolesnika također je bilo osmišljeno da razjasni relativni utjecaj specifične patohistološke dijagnoze u odnosu na nespecifične patohistološke dijagnoze, na dugoročni ishod presatka. Pokazali su da je uzrok gubitka presatka multifaktorijalan te da su uz specifičnu bolest, kronične histološke promjene ključne u procjeni ishoda presatka. Pokazali su da u odsutnosti značajnih kroničnih histoloških promjena, utjecaj specifične dijagnoze nije odlučujući za ishod, jednako tako, u prisustvu značajnih kroničnih promjena ishod presatka je loš. U 58.2% bolesnika koji su izgubili presadak, u biopsijama učinjenim unutar 2 godine prije gubitka presatka, nađena su stanična odbacivanja, promjene sugestivne za odbacivanje posredovano protutijelima te transplantacijska glomerulopatija.

Na temelju navedenog može se zaključiti da je uzrok gubitka presatka vjerojatno multifaktorijalan te da mu prethode specifična stanja (odbacivanje posredovano protutijelima, BK nefropatija, stanična odbacivanja – engl. T cell mediated rejection, TCMR te glomerulopatije) uz kronične histološke promjene koje dovode do kroničnih histoloških promjena i gubitka presatka.

1.3. Odgođena funkcija presatka

Odgođena funkcija presatka (OFP) je oblik akutne bubrežne ozljede koji je obilježen usporenom uspostavom bubrežne funkcije u ranom postransplantacijskom razdoblju, često praćenom oligurijom (30).

OFP je česta komplikacija u ranom postransplantacijskom razdoblju s učestalošću između 5–50% te iznosi redom 2.8%, 22.6%, 29.0% i 41.0% za žive darivatelje, darivatelje prema standardnim kriterijima (engl. standard criteria donors SCD), darivatelje prema proširenim kriterijima (engl. expanded criteria donors ECD) i darivatelje nakon srčane smrti (engl. donors after cardiac death DCD) (8). OFP je najčešće definirana kao potreba za dijalizom unutar prvih 7 dana nakon transplantacije, a prema metaanalizi Sideleckog i autora (31), iz 2011. godine, tako je definirana u 69% studija objavljenih između 1984. i 2007. Postoje i druge definicije koje su korištene u pojedinim studijama, kao pad kreatinina za manje od 10% u tri uzastopna dana nakon transplantacije ili perzistiranja kreatinina na vrijednosti $>265 \mu\text{mol/l}$ petog dana nakon transplantacije, što se još naziva i sporom funkcijom presatka (SFP)(32)..

U 50% bolesnika s OFP-om bubrežna funkcija oporavi se unutar 10 dana, u 33% između 10–20 dana, a u 10–15% kasnije (30). Najčešći uzrok OFP-a je akutno tubularno oštećenje koje nastaje pri eksplantaciji organa i ishemijsko/reperfuzijskoj ozljedi (30). Smatra se da OFP primarno nastaje kao posljedica dugotrajne hladne ishemije i ishemijsko reperfuzijske ozljede, ali postoje i drugi definirani čimbenici rizika za OFP.

Sam mehanizam nastanka OFP-a uključuje čimbenike vezane uz vrstu darivatelja, neka obilježja primatelja, tehniku čuvanja organa (perfuzijski stroj ili samo hladna pohrana te vrsta otopine) te perioperativni i postoperativni period. Moždana smrt definirana je kao stanje ireverzibilne kome, tj. stanje trajnog nefunkcioniranja mozga, koje se prema zakonu smatra ekvivalentom smrti (33). Opisan je mehanizam ozljede bubrega nakon moždane smrti (34). Ključni događaj

vezan uz moždanu smrt, a koji utječe na kvalitetu presatka prije eksplantacije je stanje upalno-prokoagulantnog sindroma i oslobađanje citokina, koji uzrokuju lokalni upalni odgovor u bubregu. U stanju moždane smrti dolazi do oslobađanja kateholamina (kateholaminska oluja), volumne deplecije te vazokonstrikcije u bubregu, tromboze (oslobađanje tkivnog čimbenika) i upale (citokinska oluja) te posljedično hipoperfuzijsko ishemijske ozljede bubrega (34). Također dolazi do pojačane ekspresije adhezijskih molekula endotelnih stanica, kao i antigena tkivne podudarnosti MHC klase I i II te infiltracije T limfocita, makrofaga i polimorfonukleara u bubrežni parenhim, što rezultira povećanom urođenom imunogeničnošću i posljedično većom aloosjetljivošću potencijalnog primatelja (34). Smatra se da OFP prvenstveno nastaje kao posljedica hladne ishemije i reperfuzije (ishemijsko reperfuzijske ozljede) (35), ali kao što je već rečeno brojni drugi čimbenici, vezani uz darivatelja i primatelja te sam postupak transplantacije, mogu doprinjeti nastanku OFP-a.

Rizik za OFP je 30–40% u ECD i DCD darivatelja (36). U suvremenoj eri transplantacije stopa OFP-a se ne smanjuje, vjerojatno djelomično i zbog učestalijeg prihvaćanja darivatelja prema proširenim kriterijima ili darivatelja nakon srčane smrti. Darivatelji prema proširenim kriterijima uključuju darivatelje nakon moždane smrti koji su stariji od 60 godina ili koji su stariji od 50 godina ukoliko imaju najmanje dva čimbenika rizika: anamnezu hipertenzije sa završnom vrijednosti kreatinina većom od 133 $\mu\text{mol/l}$ ili cerebrovaskularni uzrok smrti (37).

Analizom podataka iz registra bolesnika Irish i suradnici (38) su utvrdili 18 rizičnih čimbenika za nastanak OFP-a. Analizirali su podatke 24337 bolesnika transplantiranih od umrlih darivatelja. Kao najvažnije čimbenike vezane za darivatelja, utvrdili su: povišen završni kreatinin, stariju dob darivatelja, veću tjelesnu težinu, anamnezu hipertenzije, cerebrovaskularni uzrok smrti te doniranje nakon srčane smrti. Čimbenici koje su definirali vezano uz primatelja su: muški spol, crna rasa, šećerna bolest, dugo trajanje dijalize, povišen ITM (indeks tjelesne mase), viši PRA (panel reaktivnih antitijela), retransplantacija, prethodne transfuzije i pretransplantacijska razina fosfata. Izdvojili su i ostale čimbenike koji uključuju dulje vrijeme trajanja hladne ishemije, dulje vrijeme trajanja tople ishemije te veću HLA nepodudarnost. Francuski autori, Chapal i suradnici (39) 2014. godine objavili su rezultate svog istraživanja u skupini 1844 bolesnika te su definirali 5 neovisnih varijabli koje su prediktivne za OFP: vrijeme hladne ishemije, dob darivatelja, serumski kreatinin darivatelja, tjelesna težina primatelja i indukcijska imunosupresivna terapija. Pomoću navedenih varijabli oblikovali su kalkulator za procjenu OFP-a (engl. delayed graft function risk score, DGFS risk score).

U nekim drugim istraživanjima nađeni su drugi čimbenici rizika za OFP: prethodni gubitak presatka, dijalizni status primatelja, doniranje nakon srčane smrti i uzrok smrti darivatelja (40).

Osim kliničkih parametara u procjeni rizika nastanka OFP-a važni su i patohistološki parametri te su u više istraživanja analizirane preimplantacijske biopsije bubrega, tzv. nulte biopsije. Akutna tubularna nekroza (ATN) u preimplantacijskoj biopsiji nije prediktivna za razvoj OFP-a (41). Analiza biopsija 651 presatka prije transplantacije, pokazala je da osobe s dokazanim ATN-om u preimplantacijskoj biopsiji imaju incidenciju OFP-a 45% naspram onih bez ATN-a, u kojih je incidencija bila 39% ($p=\text{NS}$). U multivarijatnoj analizi zapažena je samo umjerena povezanost između ATN-a i OFP-a, i to samo u skupini bubrega od darivatelja nakon srčane smrti (41).

Poznato je da je korištenje bubrega od darivatelja prema proširenim kriterijima čimbenik rizika za nastanak OFP-a (42) te je na temelju tog pokušano definirati histološke parametre koji mogu imati prediktivnu vrijednost za nastanak OFP-a. Više istraživanja (43-45) je analiziralo prediktivnu vrijednost kroničnih histoloških promjena za OFP i za dugoročne ishode presatka te bubrežnu funkciju. Lopes i sur. (44) su analizirali kronične promjene darivatelja bodovane prema Banff klasifikaciji (13) morfometrijskim tehnikama kako bi procijenili njihovu prediktivnu vrijednost za OFP. Retrospektivno su analizirali biopsije 77 umrlih darivatelja. Razmatrali su povezanost histoloških lezija s OFP-om i eGFR-om (engl. estimated glomerular filtration rate, eGFR) 3 mjeseca nakon transplantacije te sa preživljenjem presatka cenzuriranim za smrt bolesnika. Multivarijatna regresijska analiza pokazala je da je OFP povezana s kroničnim vaskularnim skorom (cv skor) (engl. cv score) (relativni rizik (RR) 4.2 i 95% CI 1.1 to 16.0) i glomerulosklerozom, (cg skor) (engl. cg score) (RR 1.06 i 95% CI 1.01 to 1.13). Glomeruloskleroza (cg), cv rezultat i intersticijska fibroza (ci skor) (engl. ci score), bili su neovisni čimbenici za eGFR 3 mjeseca nakon transplantacije (R=0.64, P=0.0001). Temeljem rezultata analize kao relevantne za procjenu ishoda presatka izdvojili su glomerulosklerozu, kronične promjene krvnih žila i intersticijske promjene prema Banff kriterijima.

Većina studija koristila je pojedinačne histološke promjene za procjenu rizika od OFP-a i za procjenu ishoda presatka, a neke su koristile složene kronične skorove (engl. chronic histological score) (43-47). U većini navedenih istraživanja korišteni su složeni sustavi bodovanja, složeni skorovi, koji su se uglavnom sastojali od zbroja pojedinačnih Banff skorova.

U svom istraživanju, Snoejis i suradnici su koristili složeni skor (nazvali su ga ukupni engl. Banff score) koji je sadržavao ci, ct (tubularna atrofija, engl. ct score), ah (hijalinoza arteriola, engl. ah score), cv i cg (45), a u novije istraživanje Balaza i suradnika (43) primjenjen je složeni kronični skor koji se sastoji od cv i ci (nazvan engl. CIV skor) za procjenu rizika i povezanosti s OFP-om. Studija Balaza i suradnika provedena je na 344 transplantirana bolesnika u kojih je učinjena klinasta biopsija presatka prije transplantacije. Kod darivatelja prema proširenim kriterijima, kombinirali su kliničke varijable s histološkim i utvrdili su da su jedino intersticijska fibroza i promjene krvnih žila neovisno povezane s OFP-om, a od kliničkih varijabli dob darivatelja i anoksična moždana ozljeda. Dodatno su utvrdili da je prediktivna vrijednost CIV (engl. CIV score) jednaka za darivatelje prema proširenim i standardnim kriterijima. To je ujedno i jedino istraživanje koje je pokazalo neovisnu povezanost histoloških rezultata s rizikom od nastanka OFP-a. (43).

Anglicheau i suradnici (48) pokazali su da složeni kliničko-histopatološki rezultat koji se temelji na vrijednosti kreatinina darivatelja, anamnezi hipertenzije i postotku glomeruloskleroze ima bolju prediktivnu vrijednost za OFP nego samo klinički parametri. Kronične histološke promjene evaluirane su ne samo u kontekstu OFP-a, nego češće za procjenu darivatelja i alokaciju. U dva novija pregledna članka (49, 50) učinjena je detaljna analiza objavljenih studija o važnosti preimplantacijskih biopsija i njihove uloge u procjeni dugoročnih ishoda presatka. U SAD-u se preimplantacijske biopsije rade u 50% svih slučajeva te u gotovo 85% bubrega od darivatelja prema proširenim kriterijima (51). Gaber i suradnici (52) prvi su 1995. godine definirali postotak glomeruloskleroze kao važan čimbenik rizika, odnosno da je postotak glomeruloskleroze >20% povezan s manjim preživljenjem presatka. Wang i suradnici (49) u svom su preglednom članku analizirali sva objavljena istraživanja o biopsijama učinjenim prilikom eksplantacije organa

ili neposredno prije transplantacije te utvrdili da nema konzistentnih dokaza za povezanost histoloških promjena donora s ishodom presatka. Nijedno od analiziranih istraživanja nije utvrdilo povezanost glomeruloskleroze s OFP-om. Jednako tako nisu nađeni čvrsti dokazi o povezanosti tubulointersticijskih oštećenja s OFP-om i dugoročnim ishodima presatka. Prema rezultatima dva istraživanja arteriolarna hijalinoza bila je povezana s OFP-om (53, 54), a samo istraživanje Lopesa i sur. (44) utvrdilo je povezanost cv-a s OFP-om.

Naesens je (50) u zadnjem preglednom članku iz 2015. godine evaluirao praktičnu vrijednost nultih biopsija te prediktivnu vrijednost pojedinačnih histoloških promjena i složenih histoloških skorova. Kao i u studiji Wanga i suradnika zaključak je da je njihova prediktivna vrijednost umjerena. Naesens smatra da se nalaz histoloških promjena u nultoj biopsije ne može koristiti kao jedini parametar u alokaciji ili odbijanju organa.

Iz svega navedenog vidljivo je da se ulažu značajni napor u smanjenju incidencije OFP-a jer se prema objavljenim istraživanjima smatra da je OFP povezan s lošijim dugoročnim ishodima presatka, iako je teško utvrditi njihovu uzročnu posljedičnu povezanost.

Važan čimbenik rizika je i vrijeme hladne ishemije, a prema istraživanju Debouta i suradnika pokazano je da vrijeme hladne ishemije povećava rizik gubitka presatka i smrtnosti (55). Povezanost odgođene funkcije presatka s dugoročnim preživljenjem presatka i rizikom od odbacivanja istražuje se već duže vrijeme, ali ipak, prema rezultatima dosadašnjih istraživanja, rezultati su prijeporni. Neka istraživanja pokazala su povezanost OFP-a s rizikom gubitka presatka (42, 56, 57), dok druga nisu (40, 58). Također, prema nekim istraživanjima postoji povezanost između OFP-a i rizika od akutnog odbacivanja (40, 42, 59). U ranijim retrospektivnim istraživanjima (60-62) pokazano je da OFP nije neovisan čimbenik rizika za dugoročno preživljenje presatka, ali OFP u kombinaciji s akutnim odbacivanjem dovodi do povišenog rizika gubitka presatka. Druga istraživanja pokazala su da OFP nije neovisni čimbenik rizika za dugoročni ishod presatka ali da je najvažniji prediktivni čimbenik funkcije presatka 3 mjeseca nakon transplantacije (62). Nedavna statistička analiza ishoda 80690 transplantiranih bolesnika od umrlih darivatelja, od 1997 – 2010. godine pokazala je povećan rizik gubitka presatka jednu i pet godina nakon transplantacije (13.5% i 16.2%, $P=0.001$) i smrtnosti (7.1% i 11.0%, $P=0.001$) koja bi mogla biti povezana s OFP-om (56). Niti u jednoj od navedenih studija nije istraživana dinamika kroničnih histoloških promjena nakon transplantacije bubrega, u ovisnosti o prisutnosti OFP-a, a prema dostupnoj literaturi postoji tek jedna nova studija kojom je analiziran utjecaj OFP-a na progresiju fibroze presatka (63). Stoga bi, prema našem znanju, ovo istraživanje bilo drugo koje se temelji na protokolnim biopsijama, a pridonijelo bi boljem razumijevanju patofiziološkog mehanizma i dugoročnog kliničkog značenja odgođene funkcije presatka. Prema dostupnim podacima nije jasno predstavlja li odgođena funkcija presatka rizik za brže napredovanje kroničnih histoloških promjena transplantiranog bubrega.

1.4. Imunosupresija

Imunosupresivna terapija u bolesnika s transplantiranim bubregom podrazumijeva uvodnu ili indukcijsku terapiju, terapiju održavanja i terapiju odbacivanja. Do 80-ih godina prošlog stoljeća koristio se azatioprin uz kortikosteroide. Uz takvu terapiju jednogodišnje preživljenje presatka bilo je 50% (64), a nakon uvođenja ciklosporina, u kasnim 80-im godinama preživljenje se značajno poboljšalo. Danas je u uporabi više vrsta imunosupresivnih lijekova koji se razlikuju prema mehanizmu djelovanja i profilu nuspojava. Najčešće se kombinira više vrsta imunosupresiva kako bi se poboljšala njihova učinkovitost i podnošljivost. Prema podacima američkog registra iz 2012. godine (objavljeni 2014.) standardna terapiju održavanja, u 90% bolesnika je takrolimus i mikofenolat godinu dana nakon transplantacije. Otprilike 1/3 bolesnika ima terapiju održavanja bez kortikosteroida, a m-TOR inhibitori su u uporabi u 6% bolesnika (8).

1.4.1. Indukcijska terapija

U indukciji se, uz kortikosteroide, u visokoj dozi često primjenjuju i protutijela. Prema načinu djelovanja protutijela se mogu podijeliti na deplecijska i nedeplecijska, a prema epitopskoj specifičnosti na poliklonska i monoklonska. Poliklonska protutijela, kao antitimocitni globulin (ATG) uzrokuju depleciju T limfocita, NK stanica, i u manjoj mjeri plazma stanica. Monoklonsko protutijelo, baziliksimumab (nedeplecijsko protutijelo na biljeg CD25-IL 2 receptor T limfocita), sprečava aktivaciju T limfocita nakon stimulacije antigenom. U indukciji imunosupresije koriste se i rituksimumab (monoklonsko protutijelo na CD20, koje dovodi do deplecije B limfocita) i alemtuzumab (deplecijsko monoklonsko protutijelo na CD52, koje uzrokuje depleciju T limfocita, B limfocita i NK stanica). Odabir indukcijske terapije ovisi o imunološkom riziku pojedinog bolesnika. Prema podacima iz američkog registra (engl.scientific registry of transplant recipients, SRTR) antitimocitni globulin (ATG) ili alemtuzumab u primjeni su u SAD u 64% primatelja, a antagonisti IL-2 receptora u 23% primatelja (8).

Više studija pokušalo je definirati prednosti određene indukcijske terapije u odnosu na drugu u određenoj populaciji. Studija na 128 bolesnika, iz jednog centra, uspoređivala je tri skupine bolesnika s različitim indukcijskim terapijom. Jedna skupina primala je ATG, druga alemtuzumab, a treća daklizumab, uz standardnu terapiju održavanja (takrolimus, mikofenolat, prednizon). U skupini s alemtuzumabom korištena je niža ukupna imunosupresivna terapija održavanja. Utvrdili su podjednaku učinkovitost ATG i daklizumaba u stopi akutnih odbacivanja, gubitku presatka i bubrežnoj funkciji (glomerularna filtracija, eGFR), a lošiju učinkovitost alemtuzumaba (65). Najveće objavljeno istraživanje o indukcijskoj (uvodnoj) imunosupresivnoj terapiji, 3 C study, uspoređivalo je primjenu alemtuzumaba u protokolu s ranim ukidanjem steroida s baziliksimumabom u protokolu s terapijom održavanja uz steroide. Istraživanje je učinjeno u skupini 852 bolesnika (66). Prema rezultatima stopa akutnog odbacivanja nakon 6 mjeseci, bila je niža u skupini s alemtuzumabom (7%) nego u skupini kod koje je primjenjen baziliksimumab sa kortikosteroidima (16%, HR 0.42, 95% CI, 0.28–0.64) bez statistički značajne razlike u infekcijama, gubitku presatka ili smrtnom ishodu. Drugo veliko istraživanje (67) uspoređivalo je primjenu alemtuzumaba sa standardom indukcijskom terapijom (baziliksimumab

ili antitimocitni globulin). Primarna mjera ishoda bila je stopa biopsijom potvrđenog akutnog odbacivanja na 6 i 12 mjeseci. Stopa biopsijom potvrđenog akutnog odbacivanja bila je značajno niža u skupini s alemtuzumabom u odnosu na konvencionalnu terapiju, 6 i 12 mjeseci od transplantacije, (3% vs. 15%, $P < 0.001$) i 12 mjeseci (5% vs. 17%, $P < 0.001$). Tri godine nakon transplantacije stopa biopsijom dokazanog akutnog odbacivanja u skupini bolesnika niskog imunološkog rizika bila je niža nego u skupini s baziliksimumabom, ali u skupini s visokim imunološkim rizikom nije bilo statistički značajne razlike između skupine s alemtuzumabom i skupine s antitimocitnim globulinom. Najnovije istraživanje objavljeno 2016. godine (68) uspoređivalo je primjenu antitimocitnog globulina i baziliksimumaba u protokolima s ranim ukidanjem steroida u skupini bolesnika niskog imunološkog rizika. Prema rezultatima, ATG se nije pokazao superiornijim u odnosu na baziliksimumab u prevenciji biopsijom dokazanog akutnog odbacivanja u prvoj godini nakon transplantacije.

Predmet istraživanja je i siguronosni profil indukcijske terapije. Podaci iz registra na 111857 transplantiranih bolesnika od 1987 – 2009. godine pokazali su veću stopu Non-Hodgkin limfoma, kolorektalnog karcinoma i karcinoma štitnjače povezanih s primjenom alemtuzumaba te višu stopu melanoma povezanu s primjenom antitimocitnog globulina (69).

1.4.2. Pregled imunosupresivnih protokola

U protokolima održavanja imunosupresije u različitim međusobnim kombinacijama primjenjuju se lijekovi iz skupine kalcineurinskih inhibitora (CNI), takrolimus i ciklosporin, zatim antimetaboliti, mikofenolat mofetil, mikofenolat natrij i azatioprin, inhibitori proliferacijskog signala (m-TOR inhibitori) everolimus, sirolimus i kortikosteroidi. Postoje i noviji imunosupresivni lijekovi poput belatacepta (selektivni kostimulacijski T stanični blokator) koji za sada nije u široj rutinskoj uporabi.

Odabir i intenzitet imunosupresivne terapije određuje više čimbenika, poput vremena nakon transplantacije (rano ili kasno), vrste primjenjene indukcijske terapije (ATG ili monoklonska protutijela), HLA podudarnost, broj akutnih odbacivanja i infektivnih komplikacija. Nadalje, važan je podatak radi li se o prvoj transplantaciji ili retransplantaciji te je li funkcija presatka uspostavljena neposredno nakon transplantacije ili je postojala odgođena funkcija s potrebom provođenja dijalize. Svi ovi čimbenici nam govore o ukupnom imunološkom riziku pojedinog bolesnika. Oni bolesnici koji imaju viši imunološki rizik dugoročno zahtjevaju višu razinu imunosupresivne terapije kako bi se minimalizirao rizik odbacivanja i gubitka presatka. Istovremeno, važno je uravnotežiti rizik od imunoloških komplikacija s rizicima od infektivnih komplikacija ili malignih bolesti koje mogu biti povezane s dugotrajnom imunosupresivnom terapijom. Dodatno, odabir terapije ovisi o posebitostima svakog pojedinog bolesnika, kao što su dob, etnička skupina, debljina, dislipidemija ili osnovna bolest koja je dovela do završnog stupnja kronične bubrežne bolesti nativnih bubrega.

S obzirom na različitosti bolesnika, s više aspekata koji su gore navedeni, mogu se tek načelno dati opće smjernice liječenja i titriranja doze imunosupresiva.

Jedno od glavnih načela liječenja podrazumijeva primjenu viših doza imunosupresiva u ranom postransplantacijskom razdoblju, kako bi se što učinkovitije smanjio rizik od akutnog odbacivanja i gubitka presatka, a postupno se u kasnijem razdoblju te doze smanjuju da bi se umanjio ukupni rizik infekcija i malignih bolesti kao i rizik od nastanka kronične disfunkcije presatka.

U praksi se terapija vodi uz pomoć određivanja koncentracije lijeka u plazmi ili punoj krvi bolesnika. U rutinskoj praksi određuju se koncentracije takrolimusa, ciklosporina, everolimusa i sirolimusa. Određuje se takozvana najniža razina trough level (C0), 12–24 sata nakon uzimanja lijeka. U slučaju ciklosporina koncentracija se može određivati i dva sata nakon primjene lijeka, takozvana najviša razina peak level (C2). Većina centara terapiju titrira prema C0 koncentracijama. Određivanje C0 razine mikofenolat mofetila rutinski se ne primjenjuje jer razina lijeka ne korelira dobro sa stvarnom izloženosti lijeku, i u većini studija nije koreliralo s rizikom od odbacivanja.

1.4.3. Kalcineurinski inhibitori

Osnovu suvremene imunosupresivne terapije čine lijekovi iz skupine kalcineurinskih inhibitora, ciklosporin (standardna formulacija ili mikroemulzija) i takrolimus (standardna formulacija ili formulacija takrolimusa s produljenim otpuštanjem). U SAD-u je terapija takrolimusom zastupljena u >90% bolesnika u prvoj godini nakon transplantacije, a ciklosporina u <3% bolesnika (8).

Takrolimus se preferira u odnosu na ciklosporin zbog rezultata studija kojima je pokazano da je terapija takrolimusom povezana s manje akutnih odbacivanja u odnosu na terapiju ciklosporinom. Zbirni rezultati objavljeni su 2005. godine u metaanalizi 30 istraživanja. Pokazano je da je uz terapiju takrolimusom bilo manje akutnih odbacivanja, ali je istovremeno bilo veće incidencije novootkrivene šećerne bolesti ovisne o inzulinu (70). 2009. su objavljeni rezultati istraživanja koji nisu pokazali veću učestalost novonastale šećerne bolesti u skupini bolesnika liječenih takrolimusom u niskoj dozi (71).

Ključna studija kojom je definirana suvremena imunosupresivna terapija je Symphony studija objavljena 2007. godine kojom je evaluirana minimizacija imunosupresivnih protokola. Rezultati te studije pokazali su da je primjena nižih doza takrolimusa u kombinaciji s mikofenolat mofetilom i prednisonom, najučinkovitija u prevenciji akutnih odbacivanja te da ima najpovoljniji učinak na bubrežnu funkciju u odnosu na primjenu standardnih doza ciklosporina, niskih doza ciklosporina ili niskih doza sirolimusa (72). Danas se u praksi koristi i formulacija takrolimusa s produljenim oslobađanjem. Prema rezultatima do sada objavljenih istraživanja postoje naznake da takva formulacija ima jednako povoljan ili povoljniji učinak na funkciju presatka (73-75).

Oba lijeka iz skupine CNI kao ključnu nuspojavu imaju nefrotoksični učinak zbog čega je više studija evaluiralo njihovu minimizaciju (Symphony, Asset i Opticcept) (72, 76, 77) ili ukidanje CNI-ja (Caesar, Convert i Zeus) (78-80). Jedna od značajnijih studija je Caesar studija, koja je evaluirala mogućnost ranog ukidanja ciklosporina (78). Prema rezultatima je zaključeno da rano ukidanje CNI dovodi do značajnog povećanja stope akutnog odbacivanja. Ostaje otvoreno pitanje koja je adekvatna doza, tj. ekspozicija kalcineurinskim inhibitorima.

Prema rezultatima istraživanja koje je obuhvatilo podatke iz triju randomiziranih istraživanja, nije nađena povezanost između koncentracije takrolimusa (najniža koncentracija, engl. trough level) i incidencije akutnog odbacivanja u prvoj godini nakon transplantacije (81).

1.4.4. Antimetaboliti

Kao što je već ranije spomenuto, antimetaboliti, uz terapiju CNI-jom i kortikosteroidima, čine osnovu imunosupresivne terapije održavanja. Derivati mikofenolne kiseline u značajno su većoj uporabi u odnosu na azatioprin. U SAD-u 87% bolesnika kod otpusta ima terapiju mikofenolatom u odnosu na samo 0.6% onih na terapiji azatioprinom (8). Terapija azatioprinom, u kombinaciji s CNI-jom indicirana je u trudnica ili pri nepodnošenju preparata mikofenolne kiseline.

Preporučene doze MMF-a u ranom postransplantacijskom razdoblju su između 2000–3000 mg na dan, podjeljeno u dvije doze, a mikofenolat natrija 1440 mg u dvije doze. Ukoliko se primjenjuje azatioprin uobičajena doza je 1.5–2 mg/kg podjeljeno u dvije do tri doze. U praksi se ne određuju koncentracije mikofenolata. U metaanalizi Wang i suradnika (82) četiri randomizirane kontrolirane studije s ukupno 1755 de novo transplantiranih bolesnika, nije nađeno razlike u efikasnosti, gastrointestinalnim nuspojavama, leukopenijama i trombocitopenijama u skupini bolesnika s kontroliranom koncentracijom u odnosu na skupinu liječenu fiksnim dozama mikofenolata. Prema literaturi nema dokaza o potrebi terapijskog monitoriranja bilo koje formulacije mikofenolata.

1.4.5. Kortikosteroidi

Preporučena je doza kortikosteroida u terapiji održavanja 5 mg prednizona, ukoliko je bolesnik na protokolu koji podrazumijeva dugotrajnu primjenu kortikosteroida. Postoje kontroverze oko sigurnosti i/ili prednosti protokola s ranim ukidanjem kortikosteroida (83). Prema KDIGO smjernicama (84) u bolesnika niskog imunološkog rizika, koji su primili indukcijsku terapiju, terapija prednizonom treba biti prekinuta u prvom tjednu nakon transplantacije. Europska studija (85), objavljena 2014. godine usporedila je dvije skupine bolesnika koji su primili indukciju ATG-om uz kasniju terapiju održavanja s mikofenolnom kiselinom i ciklosporinom. U prvoj skupini postupno su ukidani kortikosteroidi tijekom 6 mjeseci, a druga skupina bila je bez steroida odmah nakon transplantacije. U skupini s kasnim ukidanjem steroida bila je veća stopa akutnih odbacivanja kao i veća stopa gubitka presatka u onih koji su imali odbacivanja (5-godišnje preživljenje presatka, 55.6% vs. 92%). Već spomenuta novija studija (68) objavljena 2016. godine prikazala je jednaku učinkovitost baziliksimaba i rATG-a u prevenciji akutnih odbacivanja s protokolima s ranim ukidanjem steroida.

1.4.6. mTOR inhibitori

mTOR inhibitori mogu se koristiti u kombinaciji s malom dozom CNI-ja ili mikofenolata. Njihova uporaba limitirana je profilom nuspojava unatoč dokazanim antineoplastičkim učincima (79). Provedena su istraživanja u kojima je evaluirana mogućnost eliminacije CNI-ja uz ranu ili kasnu konverziju na mTOR inhibitore. Studije Convert (86) (kasna konverzija CNI u sirolimus) i Zeus (80) (rana konverzija CNI u everolimus) pokazale su da uz konverziju mTOR inhibitorima postoji veći rizik od akutnog odbacivanja. Studija "Spare the Nephron" (87) (sirolimus) pokazala je jednaku učinkovitost sirolimusa u usporedbi s takrolimusom u prevenciji akutnih odbacivanja. Sve navedene studije pokazale su statistički značajno poboljšanje eGFR-a. Ishodi Zeus studije nakon 5-godišnjeg praćenja potvrđuju bolju bubrežnu funkciju nakon 5 godina u skupini bolesnika na everolimusu (razlika u eGFR 5.3 ml/min, P 0.001) unatoč višoj stopi ranih odbacivanja (88) i većoj učestalosti DSA-e u skupini s everolimusom.

U novijoj metaanalizi 29 randomiziranih kontroliranih studija, Lim i autori prikazuju veću eGFR i manju incidenciju karcinoma kože i CMV-a u bolesnika konvertiranih sa CNI (kalicineurinskih inhibitora) u m-TOR inhibitore, ali uz veću stopu akutnih odbacivanja i veću stopu prekidanja terapije zbog nuspojava (89). Kao što je već istaknuto uporaba m-TOR inhibitora smanjila se s 19% na 6% u zadnjem desetljeću (8). U puno centara m-TOR inhibitori koriste se u određenih bolesnika u kojih postoje izraženi znakovi toksičnosti CNI ili u bolesnika s malignim bolestima, ili BK nefropatijom.

1.4.7. Belatacept

Belatacept je po svojoj strukturi protein koji inhibira T staničnu kostimulaciju. Odobren je od strane američkog FDA-a 2011. godine kao alternativa ciklosporinu. Prema podacima registra iz 2012. godine 1.4% bolesnika stavljeno je na terapiju belataceptom (8). Rezultati studija BENEFIT i BENEFIT-EXT pokazali su podjednako preživljenje bolesnika liječenih belataceptom u odnosu na one liječene ciklosporinom te bolju bubrežnu funkciju onih na belataceptu. U BENEFIT studiji bilo je 686 primatelja bubrega od živih darivatelja i umrlih darivatelja prema standardnim kriterijima koji su randomizirani na terapiju intenzivnijim dozama belatacepta, manje intenzivnim dozama belatacepta ili ciklosporin uz terapiju mikofenolat mofetilom i prednisonom. Svi bolesnici primili su indukcijsku terapiju baziliksimumabom. Nakon 12 mjeseci bolesnici liječeni belataceptom imali su veću incidenciju i stupanj akutnih odbacivanja, ali bolju bubrežnu funkciju. Takav rezultat održan je i nakon sedam godina praćenja, a dodatno je stopa gubitka presatka ili smrtnog ishoda bila značajno manja u skupini liječenom belataceptom. Učestalost PTLD-a (engl. posttransplant lymphoproliferative disease) bila je veća u skupini s belataceptom, pogotovo kod EBV seronegativnih bolesnika (90, 91).

Istraživanje BENEFIT-EXT (91-93) također je uspoređivalo učinkovitost i sigurnost belatacepta u usporedbi sa ciklosporinom, ali u skupini primatelja bubrega od darivatelja prema proširenim kriterijima. Plan istraživanja bio je isti kao u BENEFIT studiji. Nakon 12 mjeseci stopa akutnih odbacivanja bila je podjednaka u sve tri skupine, ali su bolesnici liječeni belataceptom imali su bolju bubrežnu funkciju nakon jedne, dvije, pet i sedam godina. Stopa PTLD također je bila veća u bolesnika liječenih belataceptom.

Primjena belatacepta ima puno ograničenja. Neki od nedostataka su, njegova intravenska primjena te nedostatak studija koje su uspoređivale primjenu belatacepta sa suvremenom imunosupresijom, utemeljenom na upotrebi takrolimusa.

1.5. Akutna i kronična odbacivanja

1.5.1. Definicija i Banff klasifikacija

Imunosupresivna terapija u ranim 60-im godinama prošlog stoljeća temeljena je na terapiji azatioprinom i kortikosteroidima. Učestalost akutnog odbacivanja praćenog temperaturom i bolnošću presatka tada je bila visoka. U vremenu moderne imunosupresivne terapije ne vidimo takvu kliničku sliku. Učestalost akutnih odbacivanja u prvoj godini nakon transplantacije je <15% (7), a manifestiraju se porastom kreatinina i disfunkcijom presatka. Nekada su odbacivanja subklinička, odnosno vidljiva samo na biopsiji. Odbacivanja mogu biti hiperakutna (unutar nekoliko minuta nakon transplantacije), akutna (unutar nekoliko dana do nekoliko tjedana nakon transplantacije), kasna akutna (nakon tri mjeseca) ili kronična (više mjeseci ili godina nakon transplantacije). Mogu se dodatno klasificirati prema patohistološkim promjenama koje impliciraju različitu patogenezu, jačinu [intenzitet histološke upale i ozljede graduiran prema Banff klasifikaciji (13, 14), odgovoru na terapiju (rezistentna na steroide), prisustvo ili

odsustvo manifestne disfunkcije presatka (klinička, supklinička) te imunološkim mehanizmom. Imunološka zbivanja koja predstavljaju prijetnju bubrežnom presatku započinju već s učincima moždane smrti donora i ishemijsko-reperfuzijske ozljede koja pojačava ekspresiju HLA-a (94). Definicija T stanično posredovanih odbacivanja nije se značajnije mijenjala u zadnjih 15-ak godina, dok je definicija odbacivanja posredovanih protutijelima doživjela značajne promjene (14). S napretkom dijagnostike došlo se do spoznaje da su mikrocirkulacijske ozljede i ono što je prije obuhvaćao pojam kronične nefropatije presatka često povezani s aloimunom ozljedom.

1.5.2. Odbacivanje posredovano T-limfocitima

Prema Banff klasifikaciji iz 1997. godine (13) definirani su stupnjevi T-staničnog odbacivanja koji se nisu značajnije mjenjali u Banff klasifikaciji iz 2013. (14) i najnovijoj dopuni iz 2015. godine (95):

Akutno T stanično odbacivanje (vrsta/stupanj)

- _ IA. značajna infiltracija intersticija (>25% zahvaćenog parenhima, i2 ili i3) i umjereni tubulitis (t2)
- _ IB. značajna infiltracija intersticija (>25% zahvaćenog parenhima, i2 ili i3) i teški tubulitis (t3)
- _ IIA. blagi do umjereni intimalni arteritis (v1)
- _ IIB. teški arteritis >25% površine lumena (v2)
- _ III. transmuralni arteritis i/ili fibrinoidna nekroza glatkih mišićnih stanica medije s limfocitnom infiltracijom (v3)

Kronično aktivno T-stanično odbacivanje

- _ "Kronična arteriopatija presatka" (fibroza intime arterija s infiltracijom mononukleara, formiranje neo-intime). U zadnjoj klasifikaciji iz 2017. godine dodana je samo rečenica da opisane lezije mogu biti reprezentativne za kronično, aktivno ABMR, kao i za TCMR, a koje se očituju u tubulointersticijalnom dijelu.
-

1.5.3. Odbacivanje posredovano protutijelima

U ovom dijelu nastale su najveće promjene u klasifikaciji iz 2013. godine (14) kada je uvedena definicija C4d negativnog odbacivanja posredovanog protutijelima. Fokus rasprave na Banff 2015. sastanku bila su ABMR, TCMR i miješana odbacivanja, s naglaskom na heterogenost kliničke prezentacije ABMR-a s posljedičnim poteškoćama prilikom postavljanja dijagnoze. Raspravljano je o subkliničkim ABMR-ima kod nesenzitiziranih bolesnika s de novo DSA (96) te o heterogenosti DSA. Postoji sve više dokaza da sva DSA nisu ekvivalentna te da su njihove osobitosti (poput mogućnosti vezanja komplementa ili IgG subklase) povezana s različitim ishodima i fenotipovima ozljeda (97, 98). Također, postaje dokazi o važnosti ne-HLA protutijela (99). 2015. godine (95) raspravljano je o tome je li nužan preduvjet da moraju postojati DSA za postavljanje dijagnoze ABMR-a (s obzirom da postoje i druga protutijela koja se u većini laboratorija ne mogu određivati, npr. protutijela na HLA DP ili ne-HLA protutijela), ili bi mogao biti dovoljan samo histološki dokaz odbacivanja posredovanog protutijelima, definiran prema kriteriju 1 i 2, uz C4d u peritubularnim kapilarama. Od navedenog se ipak odustalo te je dodana

napomena da biopsije koje pokazuju histološka obilježja s C4d ili DSA, ali ne oba, moraju biti označene kao suspektne na akutno/aktivno ABMR.

Banff 2013. uz dopunu iz 2015. godine.

Akutno/aktivno odbacivanje posredovano protutijelima (sva tri kriterija moraju biti prisutna). Biopsije koje pokazuju histološka obilježja s pozitivnim C4d ili DSA, ali ne oboje, moraju biti označene kao suspektne za akutno/aktivno ABMR. Lezije mogu biti klinički akutne ili supkliničke te se mora naglasiti da li je lezija C4d pozitivna ili negativna.

- Histološki dokaz akutne tkivne ozljede koji uključuje jedno ili više od slijedećeg:
 - mikrovaskularna upala ($g > 0$ i/ili $ptc > 0$)
 - Intimalni ili transmuralni arteritis ($v > 0$)
 - Akutna trombotska mikroangiopatija, u odsutstvu drugih uzroka
 - Akutna tubularna ozljeda u odsutstvu drugih uzroka
- Dokaz svježe interakcije protutijela s vaskularnim endotelom, uključujući jedno od slijedećeg:
 - linearno C4d bojanje u peritubularnim kapilarama (C4d 2 ili C4d3- IF u smrznutim sekcijama ili C4d > 0 na parafinskim sekcijama), barem umjerena mikrovaskularna upala, povećana ekspresija transkriptata gena u tkivnim biopsijama indikativna za endotelijalnu ozljedu
- serološki dokaz donor specifičnih protutijela – DSA (HLA ili drugih), u slučaju sumnje na ABMR prema kriterijima iz točke 1. i 2. mora se učiniti promptno testiranje na DSA.

Kronično aktivno odbacivanje posredovano protutijelima (sva tri kriterija moraju biti prisutna) Biopsije koje pokazuju histološka obilježja s C4d ili DSA, ali ne oboje moraju biti označene kao suspektne za kronično/aktivno ABMR i mora biti naznačeno da li je lezija C4d pozitivna ili C4d negativna

- Morfološki dokaz o kroničnoj tkivnoj ozljedi koji uključuje jedno ili više od navedenog:
 - transplantacijska glomerulopatija (TG) ($cg > 0$), izraženo multilameliranje bazalnih membrana peritubularnih kapilara (na elektronskoj mikroskopiji), fibroza intime arterija koja isključuje druge uzroke
- Dokaz recentne interakcije protutijela s vaskularnim endotelom, uključujući jedno od slijedećeg:
 - linearno C4d bojanje u peritubularnim kapilarama (C4d 2 ili C4d3-IF u smrznutim sekcijama ili C4d > 0 na parafinskim sekcijama) barem umjerena mikrovaskularna upala
- Serološki dokaz donor specifičnih protutijela (DSA)(HLA ili drugih) u slučaju sumnje na ABMR prema kriterijima iz točke 1. i 2. mora se učiniti promptno testiranje na DSA.

1.5.4. Terapijske opcije

Terapija T stanično posredovanog odbacivanja podrazumjeva primjenu pulseve korikosteroida ili antitimocitni globulin kao osnovnu terapiju. Kao alternativa ATG-u može se koristiti alemtuzumab. Skupina nizozemskih autora (100) objavila je rezultate istraživanja liječenja TCMR rezistentnog na terapiju kortikosteroidima. Usporedili su skupinu od 11 bolesnika sa akutnim odbacivanjem rezistentnim na steroide liječenim dvodnevnom primjenom alemtuzumaba sa skupinom od 20 bolesnika liječenih s 10–14-dnevnom primjenom ATG-a. Stopa terapijskog neuspjeha bila je podjednaka u obje skupine, 3 bolesnika liječena alemtuzumabom (27%) u usporedbi sa 8 bolesnika liječenih ATG-om (40%) ($p = 0.70$), ali su nuspojave vezane za primjenu

ATG-a kao i cijena terapije bili značajno viši u skupini s ATG-om. Između dvije skupine nije bilo razlike u incidenciji infekcija, ali je bilo statistički značajno više nuspojava vezano za primjenu lijeka, u skupini liječenoj ATG-om (85%) u usporedbi sa skupinom liječenom alemtuzumabom (27%), $p=0.013$.

Terapija akutnog odbacivanja posredovanog protutijelima najčešće podrazumijeva primjenu plazmafereze, intravenskih imunoglobulina sa ili bez primjene B staničnih monoklonskih protutijela (rituximab) ili inhibitora proteazoma (bortezomib).

Prema rezultatima istraživanja Gupte i suradnika (101) liječenje kasnih akutnih odbacivanja posredovanih protutijelima ne daje dobre rezultate. Pokazali su podatke 23 bolesnika iz jednog centra, liječenih različitim kombinacijama terapije. Kasno ABMR su definirali kao ono koje nastaje 6 mjeseci nakon transplantacije. Prema protokolima njihovog centra bolesnici su liječeni kombinacijom plazmafereza, rituksimaba, intravenskih imunoglobulina i bortezomiba. Inicijalno je postignuto poboljšanje vrijednosti serumskog kreatinina, koje se nije održalo do kraja perioda praćenja. U 48% bolesnika nije postignuta histološka rezolucija lezija u kontrolnim, follow up biopsijama.

Ostaje otvoreno i pitanje treba li i kada liječiti kronično humoralno odbacivanje i promjene transplantacijske glomerulopatije koja je loš prognostički čimbenik za dugoročni ishod presatka (102). Kahwaji i suradnici (103) pokazali su podatke liječenja u maloj skupini bolesnika. Oni koji su imali aktivne mikrovaskularne promjene (glomerulitis, peritubularni kapilaritis) bolje su odgovorili na terapiju rituksimabom i intravenskim globulinima, nego oni bez aktivnih mikrovaskularnih promjena.

Kao novija terapijska opcija za liječenje humoralnog odbacivanja u literaturi spominje se i ekulizumab, rekombinirano monoklonsko protutijelo na faktor 5 komplementa, C5 (104, 105).

1.5.5. Donor specifična protutijela (DSA)

Donor specifična protutijela (DSA) mogu nastati prije transplantacije ili de novo, nakon transplantacije. Senzibilizirani bolesnici su ona skupina u čijem serumu se nalaze protutijela na najčešće antigene neke populacije stavljene na panel (engl. panel reactive antibodies, PRA). PRA predstavlja vjerojatnost pozitivne križne probe (engl. crossmatch) sa potencijalnim darivateljem i iskazuje se postotkom (106). Senzibilizacija se može javiti kod bolesnika koji su već bili izloženi stranim HLA antigenima; kod onih koji su prethodno transplantirani, kod žena koje su bile trudne te kod bolesnika koji su primali transfuzije krvi (107).

Uz današnju tehnologiju moguće je detektirati DSA, specifična protutijela na pojedinog darivatelja, kako ona formirana prije transplantacije tako i ona nastala de novo.

Razlikujemo DSA na klasu I (A, B i C) i na klasu II antigena (DR, DQ i DP). Klasa I je izražena na svim stanicama sa jezgrom, a klasa II samo na stanicama koje prezentiraju antigene (makrofazi, dendritičke stanice, B limfociti) (108). Danas se zna da DSA predstavljaju važan prediktor i biomarker za povećanu incidenciju ABMR, disfunkciju presatka i lošiji ishod presatka (109, 110). Javljaju se u 13–30% prethodno nesenzibiliziranih bolesnika (108). Rizike za nastanak de novo DSA predstavljaju; visoka HLA nepodudarnost, neadekvatna imunosupresija ili nesuradljivost

bolesnika te upala u presatku, različite etiologije (stanično odbacivanje, virusna upala, ishemijska ozljeda) (111). Važno je napomenuti da sva DSA nemaju isti patogeni potencijal za presadak, odnosno neka DSA ne predstavljaju rizik za ishod presatka (112). Neka od njih su dobroćudna i ne uzrokuju nikakvu ozljedu dok druga mogu izazvati indolentno, progresivno ili čak fulminantno akutno odbacivanje posredovano protutijelima.

Većina de novo DSA koja nastaju nakon transplantaciju spadaju u protutijela na klasu II antigena, poglavito na DQ. Uglavnom nastaju kasnije nakon transplantacije i spadaju u subklasu IgG2 ili IgG4 koja ne vezuju komplement (108). De novo DSA koja nastaju u prethodno ne senzibiliziranih bolesnika, povezana su sa kasnim akutnim ABMR ili kroničnim ABMR (113).

Napredak u tehnikama određivanja DSA je značajno unaprijedio naše mogućnosti anticipiranja fenotipova ABMR. U istraživanju Loupy-a i suradnika, pokazano je da su DSA koja vezuju komplement, C1q, povezana sa značajno većim rizikom ABMR i gubitka presatka u odnosu na DSA koja ne vezuju komplement (97).

Snaga DSA se određuje intenzitetom fluorescencije (MFI, mean fluorescence intensity). Danas se zna da snaga DSA nužno ne korelira sa kliničkim ishodom (108). U fokusu današnjih interesa je rutinsko određivanje karakteristika DSA kako bi se što bolje odredili potencijalni fenotipovi akutnih ABMR te odredile specifične terapijske strategije.

—
—

2. HIPOTEZA I CILJEVI RADA

Osnovna hipoteza ovog rada bila je da odgođena funkcija presatka (OFP) nije neovisni negativni čimbenik rizika za progresiju kroničnih histoloških promjena presađenog bubrega.

Osnovni cilj bio je utvrditi utjecaj OFP-a na progresiju kroničnih patohistoloških promjena u bubrežnom presatku tijekom godinu dana nakon transplantacije.

Specifični ciljevi bili su:

- 1/ Utvrditi utjecaj OFP-a na progresiju pojedinih patohistoloških skorova godinu dana nakon transplantacije bubrega
- 2/ Utvrditi utjecaj OFP-a na dugoročnu funkciju (do 5 godina nakon transplantacije) bubrežnog presatka procijenjenu putem eGFR-a
- 3/ Utvrditi ovisnost interakcije imunosupresije i OFP-a s histologijom transplantiranog bubrega godinu dana nakon transplantacije
- 4/ Utvrditi učestalost akutnog odbacivanja u bolesnika sa i bez OFP-a

—
—

3. MATERIJALI I METODE

3.1. Ispitanici

Istraživanje je provedeno u obliku retrospektivne studije u Kliničkoj bolnici Merkur na skupini od 163 konsektivna bolesnika, u kojih je u KB Merkur izvršena transplantacija bubrega ili bubrega i gušterače u razdoblju od 2007. do 2014. godine.

Istraživanje se provodilo uz odobrenje Etičkog povjerenstva KB Merkur i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu uz poštivanje etičkih načela i bioetičkih principa koji su u skladu s Deklaracijom iz Helsinkija i Deklaracijom iz Istanbula.

S obzirom da je istraživanje bilo retrospektivno, nije traženo potpisivanje posebnog Informiranog pristanka. Svi bolesnici potpisali su informirani pristanak u trenutku stavljanja na listu čekanja za transplantaciju bubrega, u kojem pristaju na korištenje podataka prikupljenih prilikom standardnih medicinskih postupaka, a u svrhu istraživanja i analize.

3.2. Protokol studije

Uključni kriteriji za ovu studiju bili su:

- 1/ Bolesnici s transplantiranim bubregom ili bubregom i gušteračom neovisno o OFP-u. OFP je definirana kao potreba za dijalizom unutar tjedan dana od transplantacije.
- 2/ Peritransplantacijska biopsija i biopsija 12 mjeseci nakon transplantacije.

Isključni kriteriji su:

- 1/ Bolesnici s praćenjem kraćim od 1 godine
 - 2/ Bolesnici u kojih nisu učinjene preimplantacijska biopsija i biopsija 12 mjeseci nakon transplantacije ili oni s neadekvatnim uzorcima bioptata presatka. Kao kriterij za adekvatnost uzorka korištena je Banff klasifikacija (minimalno 10 glomerula po uzorku) tj. korišteni su oni uzorci na kojima je mogao biti određen Banff skor.
-

3.3. Imunosupresija

U terapiji indukcije korištena su anti-CD 25 antitijela (baziliksimumab ili daklizumab), ili poliklonska deplecijska antitijela (ATG-F ili Timoglobulin). Svi bolesnici primili su kortikosteroide u indukcijskoj terapiji, prema shemi 500 mg i.v. 0-ti dan, potom 250 mg, 125 mg, 80 mg i 40 mg i.v. od prvog do četvrtog dana. Nakon toga je kod bolesnika niskog imunološkog rizika nastavljena terapija bez kortikosteroida. Niski imunološki rizik bio je definiran s CDC (engl. Complement dependent cytotoxicity) PRA (panel reaktivnih antitijela) i virtualnim PRA <20% određenim Luminex-om, bez OFP-a i bez epizode akutnog odbacivanja u prvih 5 dana nakon transplantacije. Terapija održavanja sastojala se od takrolimusa (Prograf, Astellas), mikofenolat

mofetila (Cell Cept, Roche) ili mikofenolat natrija (Myfortic, Novartis). Za statističku analizu doze mikofenolat natrija prikazane su kao ekvivalent mikofenolat mofetila, pod pretpostavkom da 720 mg mikofenolat natrija odgovara 1 g mikofenolat mofetila. Doza takrolimusa prilagođavana je prema C0. Ciljna koncentracija takrolimusa bila je 8-10 ng/ml u prvih mjesec dana nakon transplantacije, potom 6–8 ng/ml do kraja prve godine. Ciljna doza mikofenolata u prvoj godini nakon transplantacije bila je 3 g. Svi su bolesnici primali trimetoprim – sulfametaksazol, u prvoj godini nakon transplantacije, flukonazol, oralnu suspenziju, valganciklovir tijekom 6 mjeseci nakon transplantacije. Bolesnici su također primali diltiazem 30-90 mg, 2 puta na dan tijekom cijelog postransplantacijskog razdoblja.

3.4. Istraživačke metode

3.4.1. Podaci o darivatelju, primatelju i transplantaciji

Podaci o darivatelju, primatelju i transplantaciji prikupljeni su iz baze podataka transplantacijskog centra KB Merkur, odnosno Eurotransplanta.

Podaci vezani za darivatelja:

- dob
- spol
- vrsta / živi ili umrli darivatelj.

Podaci vezani za primatelja:

- dob
- spol
- osnovna bubrežna bolest
- šećerna bolest prije transplantacije
- HLA tipizacija
- PRA

Podaci vezani za transplantaciju:

- godina transplantacije
- vrsta transplantacije, bubreg ili bubreg i gušterača
- HLA nepodudarnost (miss match, MM) darivatelja i primatelja
- spolna nepodudarnost darivatelja i primatelja
- indukcijska terapija
- terapija održavanja s ili bez kortikosteroida
- OFP, da ili ne
- trajanje OFP
- vrijednosti kreatinina izražene u $\mu\text{mol/l}$ u definiranim periodima nakon transplantacije (1, 3, 6 i 12 mjeseci te potom nakon svake godine praćenja)
- eGFR procijenjena prema MDRD u definiranim periodima nakon transplantacije (1, 3, 6 i 12 mjeseci te potom nakon svake godine praćenja)
- koncentracije takrolimusa u definiranim periodima nakon transplantacije (1, 3, 6 i 12 mjeseci

- nakon transplantacije te potom nakon svake godine praćenja)
- doza mikofenolat mofetila ili mikofenolat natrija u definiranim periodima nakon transplantacije (1, 3, 6 i 12 mjeseci)
- protokolarne biopsije, 0 dan i nakon 12 mjeseci
- kronični skorovi ci, ct, cg, mm, cv, ah, ti (na 0-toj biopsiji i biopsiji nakon 12 mjeseci)
- patohistološki nalaz biopsije (T stanično odbacivanje, odbacivanje posredovano protutijelima, BK virusna nefropatija, normalno).

3.5. Laboratorijske metode

Svi uzorci krvi uzimani su ujutro natašte. Pri određivanju vrijednosti biokemijskih parametara korištene su standardne laboratorijske metode i komercijalni dijagnostički testovi koji su u uporabi u laboratoriju KB Merkur. Glomerulska filtracija procijenjena je iz vrijednosti serumskog kreatinina pomoću MDRD formule sa 4 varijable, uz izraženi rezultat u ml/min/1.73 m². Izloženost takrolimusu procijenjena je prema C₀ koncentraciji, odnosno najnižoj koncentraciji mjerenoj 12 ili 24 sata nakon zadnjeg uzimanja lijeka. Izloženost mikofenolnoj kiselini nije određivana.

3.6. HLA tipizacija

Tipizacija HLA primatelja i darivatelja učinjena je u Referentnom centru Ministarstva zdravstva za tipizaciju tkiva, Odjelu za tipizaciju tkiva, KBC Zagreb.

Sukladno standardnim operativnim protokolima u transplantaciji bubrega, provedena je minimalno tipizacija gena razreda I za lokuse HLA-A i -B te razreda II, za lokus HLA-DRB1. Testiranje je provedeno molekularnom metodom temeljenoj na lančanoj reakciji polimerazom, korištenjem HLA specifičnih početnica (metoda PCR-SSP) ili HLA specifičnih oligonukleotidnih proba (metoda PCR-SSO).

HLA genetički međuodnos primatelja i darivatelja određen je sukladno pravilima Eurotransplanta, određujući nepodudarnost (engl. Mismatch, MM) za lokuse HLA-A i -B na razini širokih antigenskih specifičnosti. Na svakom lokusu broj mogućih nepodudarnosti iznosio je 0–2, dajući ukupni zbir mogućih HLA-A, B, DR nepodudarnosti u rasponu 0–6.

3.7. Biopsija presatka

Biopsije su učinjene prema uobičajenom postupku pod kontrolom ultrazvuka i uporabom automatskog bioptičkog uređaja s iglom od 16 ili 18 gaugea. Uzorci su pripremljeni i obojani prema standardnim metodama pripreme histološkog preparata za dijagnostiku svjetlosnim mikroskopom, imunofluorescencijom i elektronskim mikroskopom.

Cilindri bubrežnog parenhima za patohistološku analizu stavljeni su u izotoničku fiziološku otopinu i odmah transportirani do nefropatološkog laboratorija. U laboratoriju su uzorci pod disekcijskim mikroskopom podijeljeni na 3 dijela: za svjetlosnu, imunofluorescentnu i elektronsku mikroskopiju. Uzorci za svjetlosnu mikroskopiju fiksirani su u 4% neutralnom puferiranom formaldehidu (pH 7.2–7.4), a za elektronsku mikroskopiju u 3% glutaraldehidu. Za imunofluorescentnu mikroskopiju uzorci su odmah smrznuti na -20°C i smrznuti rezani te je na njima isti ili sljedeći dan učinjena daljnja obrada s primarnim protutijelima obilježenim fluorosceinom.

Daljnja obrada uzoraka za svjetlosnu mikroskopiju provedena je standardnim postupkom koji uključuje ispiranje, dehidraciju, uklapanje u parafin i sušenje. Rotacijskim mikrotomom serijski su izrezani rezovi debljine 4 µm koji su bojeni četirima standardnim metodama bojenja u nefropatologiji: hemalaun-eozinom (HE), PAS (engl. periodic acid Schiff), Massom trikromnim bojenjem i Jones bojenjem.

Kod svih uzoraka učinjena je direktna imunoflorescentna analiza koristeći protutijelo za C4d, a kod biopsija nakon 12 mjeseci i protutijela za: imunoglobulin G (IgG), imunoglobulin A (IgA), imunoglobulin M (IgM), komponentu komplementa 3 (C3), komponentu komplementa 1q (C1q), fibrinogen, albumin te kapa (κ)- i lambda (λ)-lake lance. Također je kod postojanja upalnog infiltrata učinjeno imunohistokemijsko bojanje na BK virus.

U "nultim biopsijama" i svim biopsijama nakon 12 mjeseci, učinjena je analiza elektronskim mikroskopom. Nakon fiksacije u glutaraldehidu tkivo je kontrastirano osmijevim tetroksidom, dehidrirano i uklopljeno u sintetsku smolu (Epon) te rezano na ultramikrotomu, najprije na polutanke rezove debljine 2 µm koji su bojeni toluidinom. Ukoliko je na polutankim rezovima bio prisutan glomerul učinjeni su ultratanki rezovi debljine 70–100 nm. Ovi rezovi stavljeni su na bakrene mrežice, kontrastirani uranil acetatom i olovnim citratom te mikroskopirani elektronskim mikroskopom JEOL 1400. Preparati su očitani od strane iskusnih patologa (DGLJ ili SB). Skorovi akutnih i kroničnih promjena analizirani su prema Banff klasifikaciji (13) – IF/TA, stupanj I – blaga intersticijalna fibroza i tubularna atrofija (<25% kortikalnog područja), stupanj II – umjerena IF/TA (26–50%), stupanj III – teška IF/TA (>50%). Određivani su kronični skorovi tubula (ct 0–3), intersticija (ci 0–3), hijalinoza arteriola (ah 0–3), arterioloskleroza (cv 0–3) i glomerulopatija (cg 0–3). Viši skor znači izraženije promjene.

U našem centru rade se protokolarne biopsije bubrega nakon 1, 3, 6 i 12 mjeseci ovisno o preferencijama bolesnika, a nakon informiranja o samom postupku. Indikacijske biopsije rade se u slučaju OFP-a koji traje duže od 7 dana ili u slučaju nejasnog porasta kreatinina i/ili proteinurije.

3.7.1. Akutna odbacivanja

Sve epizode odbacivanja bile su dokazane biopsijom. Uključili smo sva subklinička i klinička odbacivanja koja su stupnjem viša od stupnja graničnih. Sve epizode T staničnog odbacivanja stupnja IA i IB liječene su pulsevima metilprednizolona (500 mg i.v. tijekom 3 uzastopna dana). T stanična odbacivanja > IIA stupnja kao i odbacivanja rezistentna na steroide, liječeni su primjenom antitimocitnih imunoglobulina (ATG-F, Freseinus ili Thymoglobuline, Genzyme). Odbacivanja posredovana antitijelima liječena su primjenom bolusa metilprednizolona i plazmaferezama, sa ili bez rituksimaba.

3.8. Statističke metode

Numeričke varijable testirane su na normalnost raspodjele Shapiro-Wilksovim testom. Numeričke vrijednosti prikazane su kao srednja vrijednost i standardna devijacija, odnosno kao medijan s interkvartilnim rasponom, ovisno o distribuciji. Za testiranje razlika numeričkih varijabli između grupa korišteni su parametrijski testovi (t-test i ANOVA s post hoc Bonferronijevim testom) u slučaju normalne raspodjele, a u slučaju odstupanja od normalne raspodjele koristili su se neparametrijski testovi (Kolmogorov-Smirnov test ili Kruskal-Walis test). Za usporedbu grupa prema nominalnim kategorijskim varijablama korišten je χ^2 test. Korelacije između dvije kontinuirane varijable analizirane su Pearsonovom ili Spearmanovom korelacijom, ovisno o distribuciji. Neovisna povezanost jedne kontinuirane varijable s drugim kontinuiranim ili kategorijskim varijablama analizirana je multiplom regresijom. Neovisna povezanost jedne kategorijske binarne varijable s drugim kontinuiranim ili kategorijskim varijablama analizirana je multiplom logističkom regresijom. Preživljenja presatka i transplantiranog pacijenta analizirana su pomoću Kaplan-Meierove metode. Razina statističke značajnosti određena je na $p < 0.05$. Za obradu podataka korišten je programski paket Statistica 13 (Dell Software, SAD).

4. REZULTATI

4.1. Obilježja bolesnika

U tablici 1 prikazani su podaci o primateljima, darivateljima i transplantaciji. Ukupno je bilo 163 konsekutivnih bolesnika kod kojih su učinjene adekvatne biopsije, periimplantacijski i nakon 12 mjeseci.

Prosječna dob primatelja bila je 47.8 ± 12.1 godina. Većina bolesnika u ovoj skupini bila je primatelj samo bubrega od umrlog darivatelja, a manji postotak bili su primatelji bubrega i gušterače od umrlog darivatelja. Kod većine bolesnika primijenjena je indukcijska terapija s anti IL2 antitijelima, a 40% bolesnika bilo je na terapiji održavanja prema protokolu s ranim ukidanjem steroida. Ukupno 36.8% bolesnika imalo je odgođenu funkciju presatka.

Tablica 1 — Obilježja primatelja, darivatelja i transplantacija

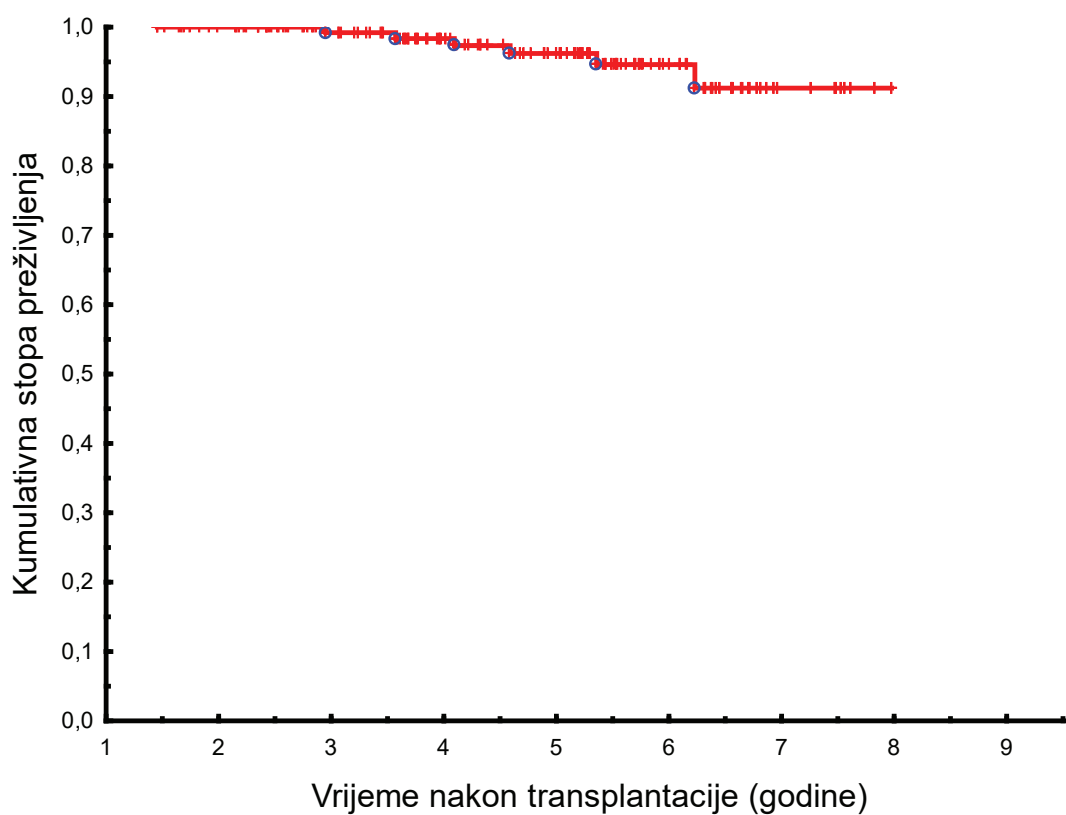
Primatelji	
Dob (godine)	47.8 ± 12.1
Spol (ž/m)	49/114
Primarna bolest bubrega, n (%)	
Glomerulonefritis/vaskulitis	47 (29)
Dijabetička nefropatija	40 (25)
ADPKD	18 (11)
Arterijska hipertenzija	9 (5)
Drugo/nepoznato	49 (30)
Darivatelji	
Tip darivatelja (živi/umrli)	25/138
Dob darivatelja	45.9 ± 15.1
HLA nepodudarnost	
A	1.0 ± 0.7
B	1.4 ± 0.6
DR	1.1 ± 0.7
Transplantacija	
Organ (bubreg/SPKT)	137/26
Odgođena funkcija presatka (da/ne)	60/103
Indukcijska antitijela, n (%)	
Anti-IL2	141 (96)
ATG	5 (3)
Rituksimab	2 (1)
Bez steroida (da/ne)	65/98
Akutno odbacivanje u prvoj godini, n (%)	
Bez odbacivanja	113 (69)
T-stanično akutno odbacivanje	44 (27)
Akutno odbacivanje posredovano antitijelima	1(0.6)
Miješano T-stanično i posredovano antitijelima	5 (3)
BK virus nefropatija, n (%)	12 (7)

Tablica 2 — Vrijeme praćenja bolesnika

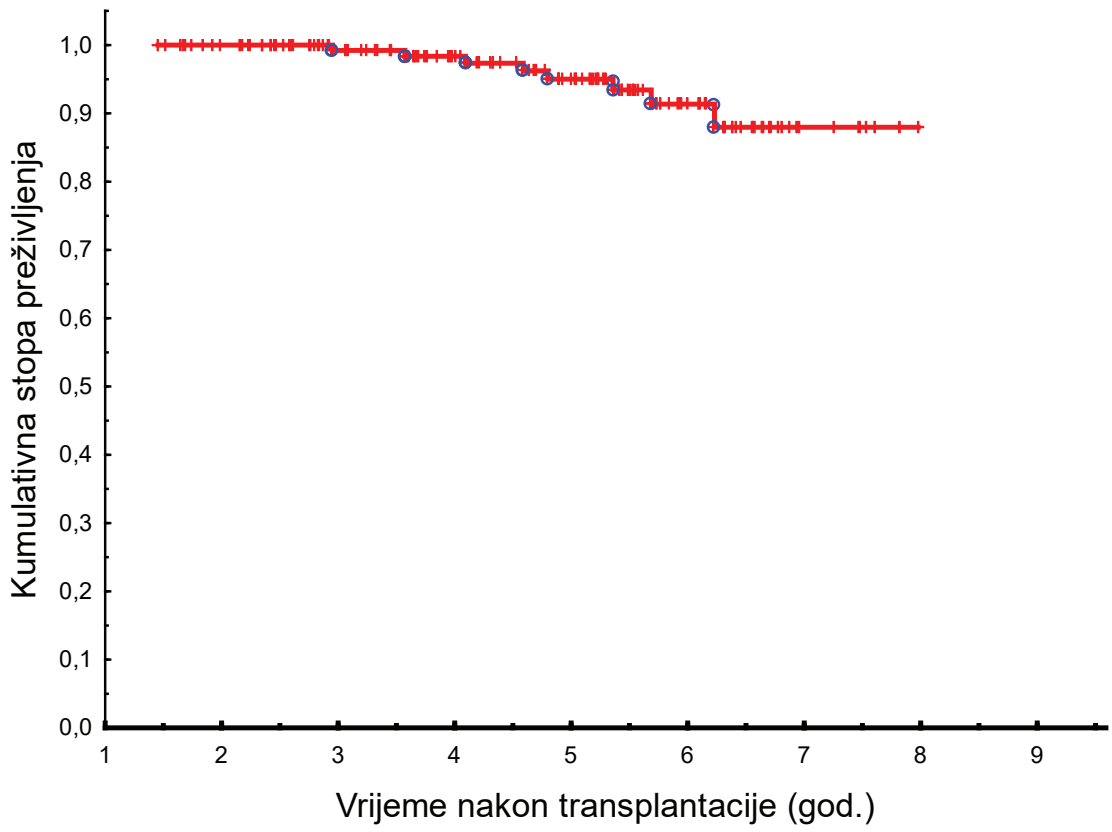
	N	Srednja vrijednost ± SD
Dužina praćenja bolesnika (dani)	163	1665.8 ± 590.8

4.2. Preživljenje bolesnika i bubrega

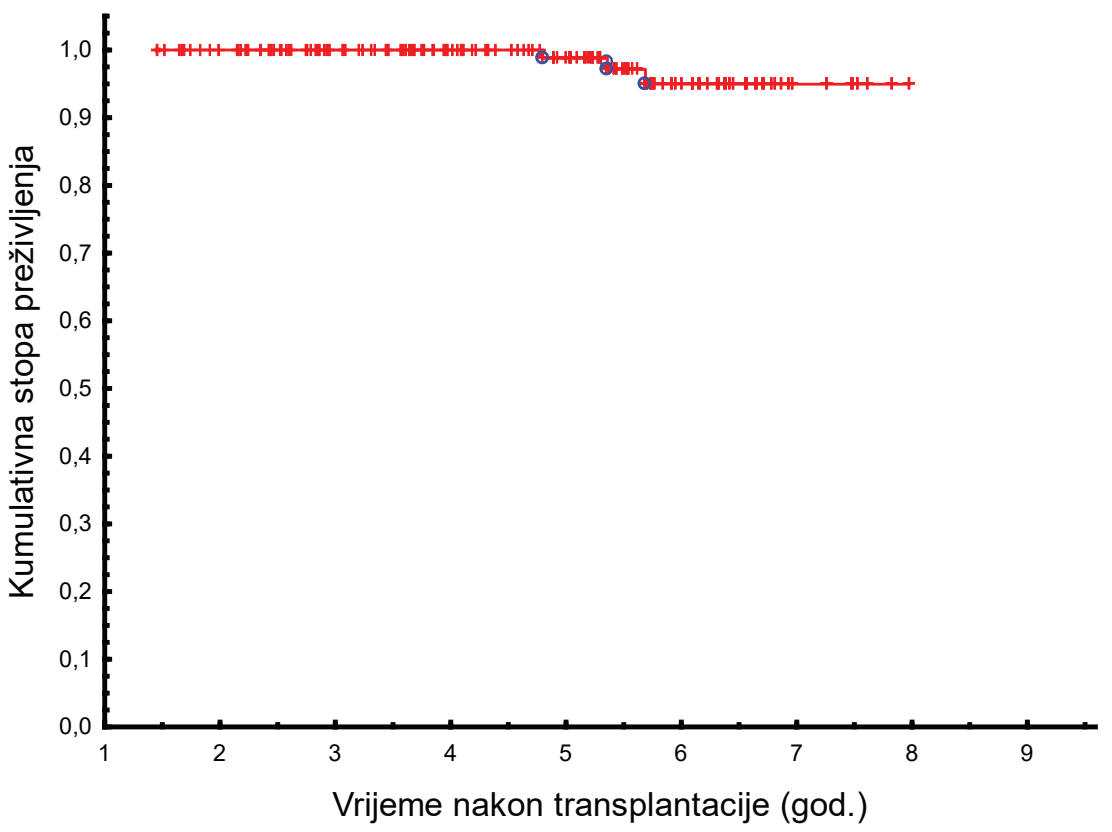
Ukupno preživljenje bolesnika bilo je 99% nakon 3 godine praćenja (slika 1 i slika 2), a preživljenje bubrega cenzurirano za smrt bolesnika bilo je 100% nakon 3 godine praćenja (slika 3).



Slika 1 — Ukupno preživljenje bolesnika



Slika 2 — Ukupno preživljenje bubrega



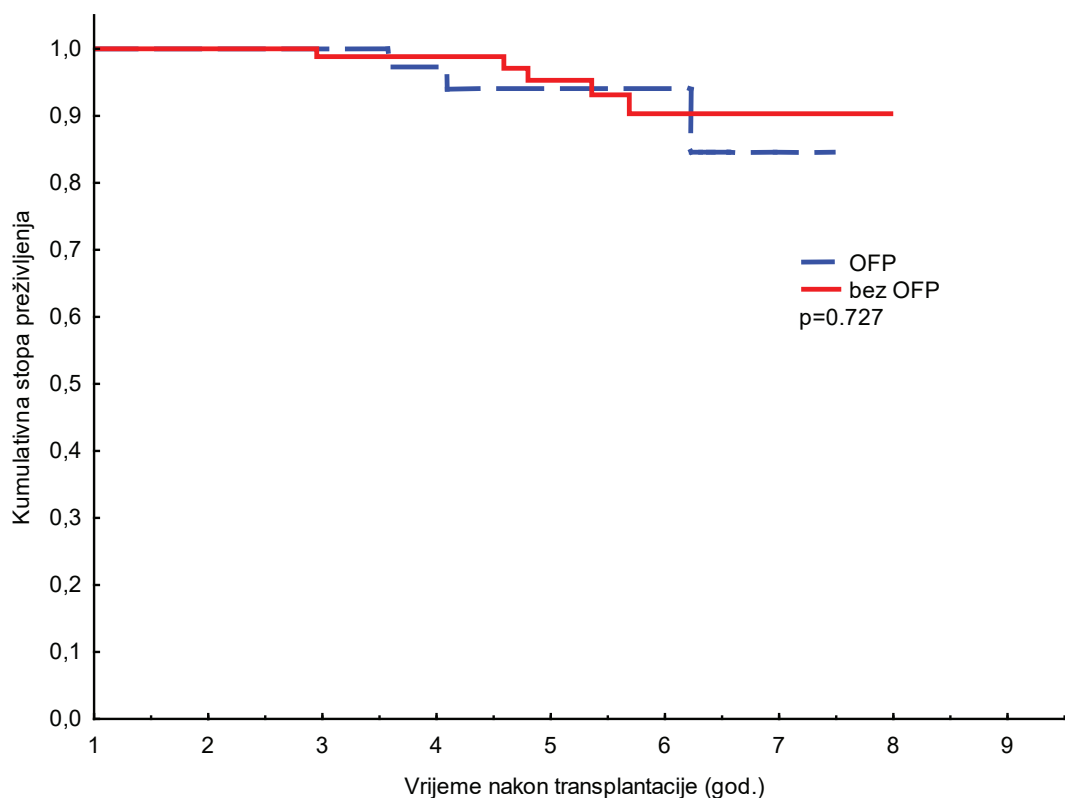
Slika 3 — Preživljenje bubrega cenzurirano za smrt bolesnika

4.3. Obilježja bolesnika s obzirom na OFP i preživljenje bubrega i bolesnika, ovisno o OFP

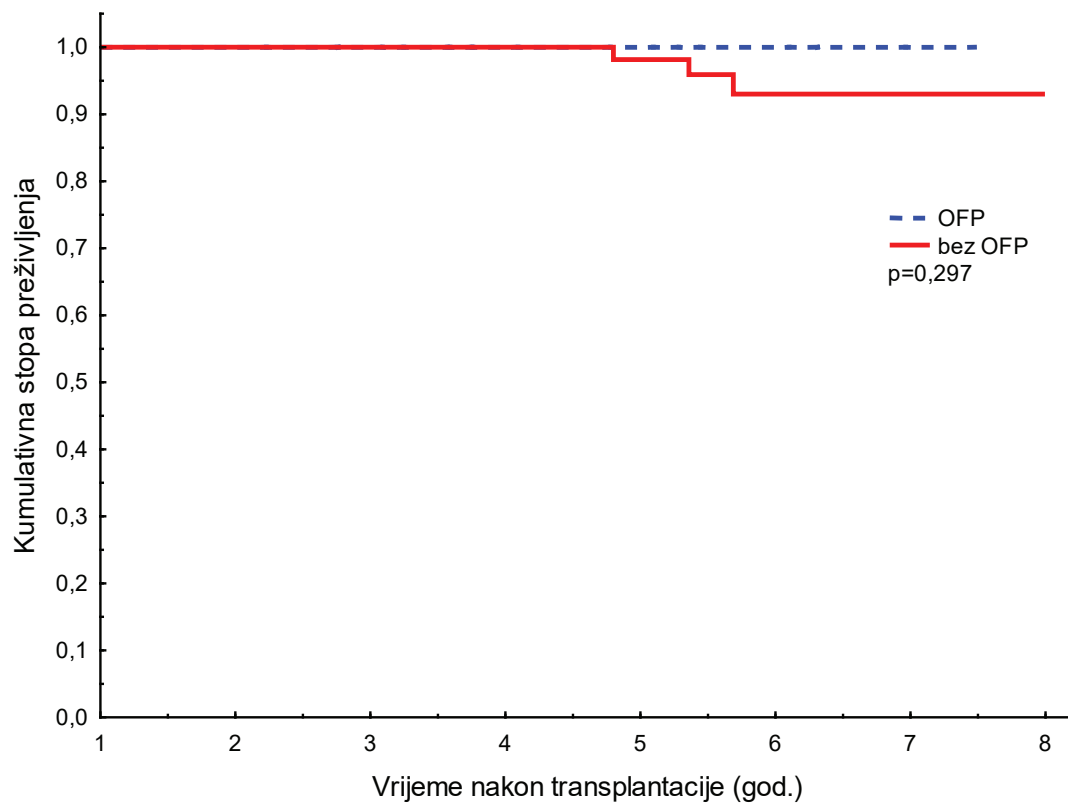
Učestalost OFP-a u našoj skupini bolesnika bila je 36,8 %. U skupinama bolesnika podijeljenim s obzirom na OFP postojala je statistički značajna razlika u dobi primatelja i darivatelja. Oni u skupini s OFP bili su stariji. Također, postojala je značajna razlika u vrsti transplantacije u skupini s OFP u usporedbi sa skupinom bez OFP. U skupini s OFP bilo je značajno više bolesnika transplantiranih od umrlog darivatelja. Dodatno u skupini bolesnika sa simultanom transplantacijom bubrega i gušterače bilo je značajno manje OFP ($p=0,013$). Prema našim rezultatima ne postoji statistički značajna razlika u preživljenju bubrega i bolesnika nakon prve godine, ovisno o OFP (slika 4,5 i 6).

Tablica 3 — Demografski podaci

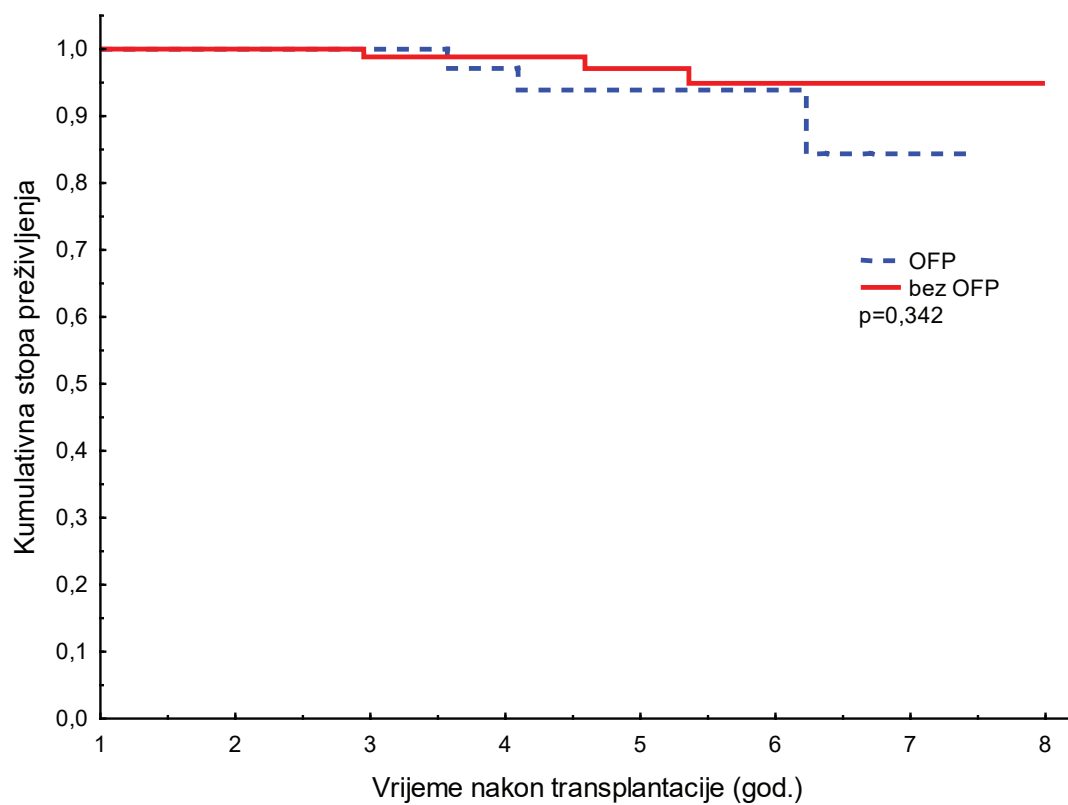
	OFP	bez OFP	p
Primatelji			
Dob (god.)	51.97 ± 11.31	45.43 ± 11.97	0.001
Spol (m/ž)	45/15	69/34	0.282
Darivatelji			
Dob (god.)	49.12 ± 12.21	44.05 ± 16.33	0.001
Spol (m/ž)	31/29	58/44	0.521
Tip (živi/umrli)	1/59	24/79	0.001
HLA MM	3.46 ± 1.56	3.62 ± 1.56	0.480
Vrsta transplantacije (bubreg/SPKT)	56/4	81/22	0.013



Slika 4 — Preživljenje bubrega ovisno o OFP



Slika 5 — Preživljenje bubrega cenzurirano za smrt bolesnika ovisno o OFP



Slika 6 — Preživljenje bolesnika ovisno o OFP

4.4. Utjecaj OFP-a na progresiju kroničnih patohistoloških promjena (složeni kronični histološki skor, SKS) presađenog bubrega

Kod definiranja osnovnog cilja koristili smo složeni kronični histološki skor (SKS) kao mjeru kroničnih histoloških promjena u presatku. SKS se sastojao od zbroja skorova ci, ct, cv i ah u "nultoj" biopsiji te zbroja istih skorova na biopsiji učinjenoj 12 mjeseci nakon transplantacije. Vrijednosti SKS prikazane su u tablici 4. Promjena skorova (Δ) razmatrana je kao kontinuirana varijabla (tablica 4) i kao binarni kod (progresija/bez progresije – tablica 5).

Tablica 4 — Promjena SKS tijekom prve godine nakon transplantacije

	N	Srednja vrijednosti	SD	p
SKS "0"	162	1.92	2.16	<0.001
SKS "12"	162	3.56	2.93	
promjena SKS (Δ)	162	1.64	2.94	

Iz rezultata prikazanih u tablici 4 razvidno je da je SKS, u prvoj godini nakon transplantacije, statistički značajno viši od SKS pri transplantaciji. Kronične histološke promjene napreduju u 60% primatelja bubrega u prvoj godini nakon transplantacije.

Tablica 5 — Udio bolesnika s promjenom SKS u prvoj godini nakon transplantacije

Kategorija	N	%
0	64	39.5
1	98	60.5

0 bez progresije, 1 s progresijom

Varijable povezane sa složenim kroničnim histološkim skorom – univarijatna analiza

U univarijatnoj analizi odgođena funkcija presatka je bila povezana sa SKS u "nultoj" biopsiji i biopsiji 12 mjeseci nakon transplantacije i njegovom promjenom (Δ) (prikazano u tablicama 6 i 7). SKS nisu bili povezani sa spolom darivatelja i primatelja (nije prikazano u tablici), ali su bili povezani s akutnim odbacivanjem (tablica 8).

Tablica 6 — Povezanost OFP sa SKS

	OFP	bez OFP	p
SKS "0"	2.53 \pm 2.57	1.56 \pm 1.79	0.05
SKS "12"	5.13 \pm 3.28	2.65 \pm 2.25	<0.001

Tablica 7 — Povezanost OFP-a s promjenom (Δ) SKS

Varijabla	N	OFP	N	bez OFP	p
promjena SKS (Δ)	60	2.60 \pm 3.51	102	1.08 \pm 2.40	0.001

Tablica 8 — Povezanost akutnog odbacivanja sa SKS 12 mjeseci nakon transplantacije i njegovom promjenom

Varijabla	N	bez AO	N	AO	p
SKS "12"	111	3.04 \pm 2.60	52	4.69 \pm 3.26	<0.001
promjena SKS (Δ)	110	1.12 \pm 2.58	52	2.75 \pm 3.36	<0.001

Iz tablice 8. je razvidno da postoji statistički značajna povezanost SKS i (Δ) SKS sa akutnim odbacivanjem. Bolesnici koji su imali akutno odbacivanje imaju veći SKS 12 mjeseci nakon transplantacije i veću promjenu (Δ) SKS u odnosu na bolesnike koji nisu imali epizodu akutnog odbacivanja.

Tablica 9 — Povezanost složenih kroničnih histoloških skorova s HLA i dobi darivatelja i primatelja.

Varijabla	Dob primatelja	Dob darivatelja	HLA A	HLA B	HLADR	HLA UK. MM	Složeni kronični skor 0
SKS "0"	,2417 N=162 p=0.002	,4197 N=161 p<0.001	-----	-----	-----	-----	-----
SKS "12"	,1553 N=163 P=0.048	,3706 N=162 P<0.001	-,0771 N=160 P=,332	,0709 N=160 P=,373	-,1026 N=160 P=,197	-,0451 N=160 P=,571	,3622 N=162 P<0.001
promjena SKS (Δ)	-,0220 N=162 P=,781	,0627 N=161 P=,429	,0517 N=159 P=,518	,1232 N=159 P=,122	-,0037 N=159 P=,963	,0283 N=159 P=,723	0.3719 N=162 P<0.001

Povezanost dviju varijabli prikazana je Spearmanovim koeficijentom korelacije

Prema rezultatima prikazanim u tablici 9. utvrđena je povezanost SKS-a prilikom transplantacije i nakon jedne godine s dobi darivatelja i primatelja. Viša dob primatelja i darivatelja pozitivno je korelirala sa SKS prilikom transplantacije i 12 mjeseci nakon transplantacije, ali ne i s promjenom, (Δ) navedenih skorova u danom intervalu od 12 mjeseci. HLA nepodudarnost nije korelirala sa složenim skorovima niti s njihovom promjenom (Δ).

Tablica 10 — Povezanost imunosupresije sa SKS

Varijabla	Prosječna doza MMF-a u 1. godini	Prosječna konc. takrolimusa u 1. godini
SKS "12"	-0.255 N=162 P=0.001	-,161 N=158 P=0.043
Δ SKS	-0.254 N=162 P=0.001	-0.021 N=157 P=0.794

Povezanost dviju varijabli prikazana je Spearmanovim koeficijentom korelacije

Iz tablice 10 je razvidno da je u univarijatnoj analizi utvrđena je negativna povezanost prosječne doze MMF-a sa SKS 12 mjeseci nakon transplantacije i s promjenom SKS (Δ). Bolesnici koji s bili izloženi većim dozama MMF-a, imali su manji SKS 12 mjeseci nakon transplantacije i manju promjenu SKS. Također je utvrđena negativna povezanost koncentracije takrolimusa sa SKS 12 mjeseci nakon transplantacije, ali ne i s njegovom promjenom.

Tablica 11 — Povezanost složenih kroničnih histoloških skorova s prisutnošću kortikosteroida u imunosupresiji održavanja

Varijabla	Srednja vrijednost s kortikosteroidima	Srednja vrijednost bez kortikosteroida	p
SKS "0"	2.18 ± 2.29	1.54 ± 1.89	0.11
SKS "12"	4.31 ± 3.12	2.45 ± 2.19	0.03
Δ SKS	2.13 ± 2.49	0.91 ± 1.57	0.05

Postojala je i statistički značajna razlika u SKS-u 12 mjeseci nakon transplantacije i u promjeni (Δ) skorova u ovisnosti o imunosupresiji održavanja sa ili bez kortikosteroida, niži SKS i manja promjena (Δ) bila je u bolesnika koji nisu imali steroide u terapiji održavanja (tablica 11).

U univarijatnoj analizi je utvrđen statistički granično značajna razlika u SKS i promjeni (Δ) SKS ovisno o vrsti darivatelja (živi ili umrli darivatelj). Međutim, nađena je statistički značajna razlika u SKS-u prilikom "nulte biopsije" i 12 mjeseci nakon transplantacije u ovisnosti o tipu transplantacije (bubreg ili bubreg i gušterača). U skupini bolesnika s transplantiranim bubregom i gušteračom zabilježeni su niži složeni kronični skorovi u odnosu na skupinu bolesnika kod kojih je transplantiran samo bubreg ($p < 0.001$ na 0 i 12 mjeseci (rezultati nisu tablično prikazani). Nije postojala statistički značajna razlika u SKS prilikom nulte biopsije i 12 mjeseci nakon transplantacije niti u Δ skorova, ovisno o šećernoj bolesti (rezultati nisu prikazani).

Multivarijatna analiza

Povezanost vrijednosti SKS 12 mjeseci nakon transplantacije s obilježjima darivatelja, primatelja i transplantacije te imunosupresije istražena je multivarijatnom analizom (tablica 12.)

Tablica 12 — Povezanost vrijednosti SKS 12 mjeseci nakon transplantacije s obilježjima darivatelja, primatelja, transplantacije i imunosupresije

	Razina učinka	Složeni kronični skor na 12 mj. Beta (β)	Interval pouzdanosti		p vrijednost
			-95.00%	+95.00%	
presjek					0.036
dob pimatelja		-0.100	-0.246	0.045	0.175
dob darivatelja		0.273	0.0916	0.455	0.003
prosječna doza MMF-a u 1. god.		-0.138	-0.272	-0.004	0.043
prosječna konc. takrolimusa u 1. god.		-0.036	-0.170	0.098	0.597
SKS "0"		0.191	0.047	0.334	0.009
OFP	da	0.076	-0.108	0.259	0.417
akutno odbacivanje	sa	0.218	0.089	0.346	0.001
vrsta transplantacije	bubreg	0.112	-0.059	0.282	0.197
tip donora	umrli donor	0.178	0.025	0.331	0.023
steroidi	da	0.210	0.043	0.378	0.014

Multivarijatnom analizom pokazano je da je s povećanom vrijednošću SKS 12 mjeseci nakon transplantacije neovisno povezana starija dob darivatelja, veći SKS prilikom transplantacije, transplantacija s umrlog darivatelja, prisutnost steroida u imunosupresivnom protokolu te akutno odbacivanje. Pacijenti koji su imali epizodu akutnog odbacivanja imali su veću razinu SKS 12 mjeseci nakon transplantacije. Veća prosječna doza MMF-a bila je povezana s manjom vrijednošću SKS 12 mjeseci nakon transplantacije. Koncentracija takrolimusa nije bila statistički značajno povezana s vrijednosti SKS 12 mjeseci nakon transplantacije. OFP nije bila neovisni čimbenika za vrijednost SKS 12 mjeseci nakon transplantacije.

Tablica 13 — Povezanost imunosupresije, OFP-a i akutnog odbacivanja s Δ SKS, multivarijatna analiza

	Razina učinka	Δ složenog kroničnog skora Beta (β)	Interval pouzdanosti		p vrijednost
			-95.00%	+95.00%	
presjek					<0.001
prosječna doza MMF-a u 1. god.		-0.153	0.288	0.017	0.028
SKS "0"		0.436	0.570	0.303	<0.001
OFP	da	0.218	0.048	0.387	0.012
akutno odbacivanje	sa	0.205	0.337	0.073	0.002
steroidi	da	0.095	0.069	0.260	0.252

Iz tablice 13 je vidljivo da je u multivarijatnoj analizi OFP povezan s promjenom SKS. Također, SKS u nultoj biopsiji i akutno odbacivanje bili su pozitivno povezani s promjenom kroničnog histološkog skora, a negativno je bila povezana prosječna doza mikofenolata.

4.5. Utjecaj OFP-a na promjenu pojedinih patohistoloških skorova (Δ) tijekom 1. godine nakon transplantacije bubrega

Univarijatna analiza

Tablica 14 — Deskriptivna statistika

varijabla	N	srednja vrijednost
Δ ci	163	0.67 \pm 0.95
Δ ct	163	0.71 \pm 0.93
Δ ah	163	0.18 \pm 1.10
Δ cv	162	0.10 \pm 1.12

Tablica 15 — Promjena skorova u ovisnosti o OFP (Δ skorova u ovisnosti o OFP)

Varijabla	OFP N	OFP	Bez OFP N	Bez OFP	p
Δ ci	60	1.00 \pm 1.03	103	0.48 \pm 0.85	0.001
Δ ct	60	1.00 \pm 1.03	103	0.53 \pm 0.83	0.002
Δ cv	60	0.28 \pm 1.42	102	0.00 \pm 0.90	0.121
Δ ah	60	0.32 \pm 1.08	103	0.10 \pm 1.12	0.222

Iz Tablice 15 je vidljivo da postoji statistički značajna razlika u promjeni ci i ct ovisno o OFP. Pacijenti koji su imali OFP imali su veću promjenu ci i ct.

Tablica 16 — Povezanost dobi donora i primatelja, HLA, pojedinačnih bazalnih skorova i imunosupresije s promjenom pojedinačnih skorova, univarijatna analiza

Varijabla	Δci	delta ct	delta ah	delta cv
dob primatelja	,0043	-,0153	-,0891	,0338
	N=163	N=163	N=163	N=162
	p=,956	p=,846	p=,258	p=,669
dob darivatelja	,0355	,0055	,0317	,0855
	N=162	N=162	N=162	N=161
	p=,654	p=,944	p=,688	p=,281
HLA A	-,0584	-,0408	-,0906	,0385
	N=160	N=160	N=160	N=159
	p=,463	p=,609	p=,255	p=,630
HLA B	,0674	,1033	,0709	,0980
	N=160	N=160	N=160	N=159
	p=,397	p=,194	p=,373	p=,219
HLA DR	-,0119	-,0192	-,0839	,0974
	N=160	N=160	N=160	N=159
	p=,882	p=,810	p=,291	p=,222
HLA UKUPNI MM	-,0123	,0123	-,0432	,1116
	N=160	N=160	N=160	N=159
	p=,877	p=,878	p=,587	p=,161
ci 0	-,3646	-,2999	-,1202	-,0169
	N=163	N=163	N=163	N=162
	p=,000	p=,000	p=,126	p=,831
ct 0	-,2928	-,4295	-,1022	-,0159
	N=163	N=163	N=163	N=162
	p=,000	p=,000	p=,194	p=,841
ah 0	,0100	-,0308	-,4443	-,0424
	N=163	N=163	N=163	N=162
	p=,899	p=,696	p=,000	p=,592
cv 0	-,1242	-,1368	-,2358	-,6046
	N=162	N=162	N=162	N=162
	p=,115	p=,083	p=,003	p=,000
prosječna doza MMF-a u 1. god.	-,2162	-,2275	-,1353	-,1638
	N=162	N=162	N=162	N=161
	p=,006	p=,004	p=,086	p=,038
prosječna konc. takrolimusa u 1. godini	-,0803	-,0601	,0827	-,0043
	N=158	N=158	N=158	N=157
	p=,316	p=,453	p=,301	p=,958

Povezanost dviju varijabli prikazana je Spearmanovim koeficijentom korelacije

Tablica 17 — Povezanost tipa donora (umrli vs. živi) s Δ pojedinačnih skorova

	umrli darivatelj	živi darivatelj	p	N umrli	N živi
Δ_{ci}	0.73 ± 0.93	0.32 ± 0.99	0.05	138	25
Δ_{ct}	0.76 ± 0.92	0.40 ± 0.96	0.07	138	25
Δ_{cv}	0.10 ± 1.16	0.12 ± 0.93	0.94	137	25
Δ_{ah}	0.19 ± 1.08	0.12 ± 1.27	0.78	138	25

Postoji statistički značajna povezanost promjene ci ovisno o vrsti donora. Statistički je značajna promjena ci kod bolesnika koji su transplantirani od umrlog darivatelja.

Tablica 18 — Povezanost akutnog odbacivanja s Δ pojedinačnih skorova

	Srednja vrijednost 0	Srednja vrijednost 1	p	N 0	N 1
Δ_{ci}	0.47 ± 0.82	1.10 ± 1.07	0.00	111	52
Δ_{ct}	0.54 ± 0.80	1.06 ± 1.09	0.00	111	52
Δ_{cv}	-0.01 ± 1.09	0.35 ± 1.17	0.06	110	52
Δ_{ah}	0.14 ± 1.06	0.25 ± 1.20	0.57	111	52

0 – bez odbacivanja, 1 – sa odbacivanjem

Analizirana je promjena skorova, Δ_{ci} , Δ_{ct} , Δ_{ah} i Δ_{cv} . U univarijatnoj analizi OFP je bio povezan s Δ skora ci i ct . OFP nije bio povezan s Δ_{ah} i cv . (tablica 15). S promjenom skorova bili su povezani i bazalni, ishodišni skorovi ci i ct , kao i akutno odbacivanje, tip darivatelja (ali samo za Δ_{ci} , a statistički granično značajno za Δ_{ct}), prosječna doza MMF i kortikosteroidi (tablica 16). Trajanje OFP-a nije bilo povezano s progresijom skorova. Nisu bili povezani niti HLA, kao ni dob donora i primatelja.

Transplantacija od živog darivatelja bila je povezana s manjom progresijom intersticijske fibroze (tablica 17). Akutno odbacivanje bilo je povezano s jačom progresijom intersticijske fibroze i atrofije tubula (tablica 18).

Multivarijatna analiza

Tablica 19 — Čimbenici povezani s Δ ct

	Razina učinka	Δ ct Beta (β)	Interval pouzdanosti		p vrijednost
			-95.00%	+95.00%	
presjek					0.000
prosječna doza MMF-a u 1. godini		-0.076	-0.210	0.057	0.260
ct 0		-0.457	-0.586	-0.328	0.000
OFP	da	0.103	-0.066	0.272	0.229
steroidi u imunosupresiji	da	0.157	-0.003	0.316	0.054
tip donora	umrli	0.112	-0.021	0.245	0.099
akutno odbacivanje	bez	-0.255	-0.384	-0.126	0.000

Iz tablice 19. je vidljivo da u multivarijatnoj analizi OFP nije bio povezan s Δ ct. Postojala je značajna povezanost akutnog odbacivanja i bazalnog ct skora s promjenom, Δ ct. Ono bolesnici koji nisu imali odbacivanje imali su manju promjenu ct.

Tablica 20 — Čimbenici povezani s Δ ci.

	Razina učinka	Δ ci Beta (β)	Interval pouzdanosti		p vrijednost
			-95.00%	+95.00%	
presjek					0.004
ci 0		-0.410	-0.540	-0.281	0.000
prosječna doza MMF-a u 1 godini		-0.076	-0.208	0.055	0.254
vrsta transplantacije	bubreg	0.244	0.106	0.382	0.001
tip donora	umrli	0.183	0.046	0.320	0.009
steroidi u imunosupresiji	da	0.235	0.073	0.397	0.005
OFP	da	0.011	-0.166	0.188	0.903
akutno odbacivanje	bez	-0.264	-0.391	-0.137	0.000

Iz tablice 20. vidljivo je da u multivarijatnoj analizi OFP nije bio povezan s Δ ci. Postojala je statistički značajna povezanost između akutnog odbacivanja, bazalnog ci skora te vrste transplantacije i tipa donora kao i terapije kortikosteroidima, s promjenom, Δ ci.

Tablica 21 — Čimbenici povezani s Δah .

	Razina učinka	Δah Beta (β)	Interval pouzdanosti		p vrijednost
			-95.00%	+95.00%	
presjek					0.000
ah 0		-0.443	-0.582	-0.304	0.000
prosječna doza MMF-a u 1 godini		-0.147	-0.286	-0.009	0.038

U tablici 21 su prikazani čimbenici povezani sa Δah , a to su ah skor prilikom nulte biopsije i prosječna doza MMF tijekom prve godine. Oni bolesnici koji su imali veću prosječnu dozu MMF imali su manji Δah .

Tablica 22 — Čimbenici povezani s Δcv

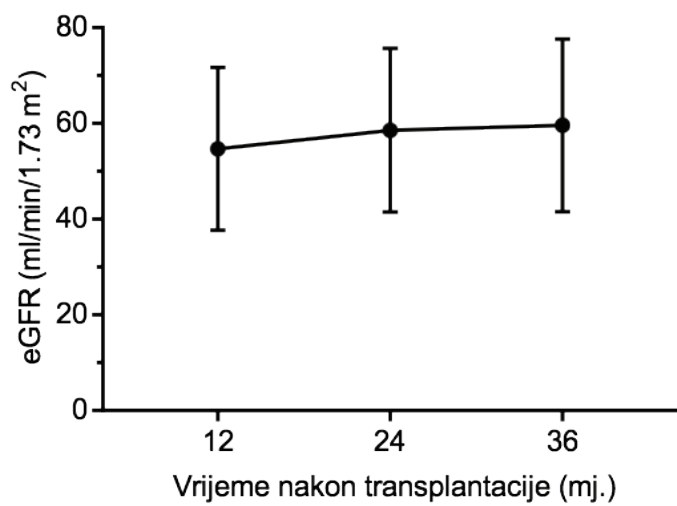
	Razina učinka	Δcv Beta (β)	Interval pouzdanosti		p vrijednost
			-95.00%	+95.00%	
presjek					0.036
cv 0		-0.657	-0.777	-0.538	0.000
dob darivatelja		0.197	0.077	0.316	0.001
prosječna doza MMF u 1 godini		-0.199	-0.318	-0.081	0.001
akutno odbacivanje	bez	-0.083	-0.201	0.034	0.164

Čimbenici povezani sa Δcv su bili: cv prilikom nulte biopsije, dob darivatelja, prosječna doza MMF i akutno odbacivanje.

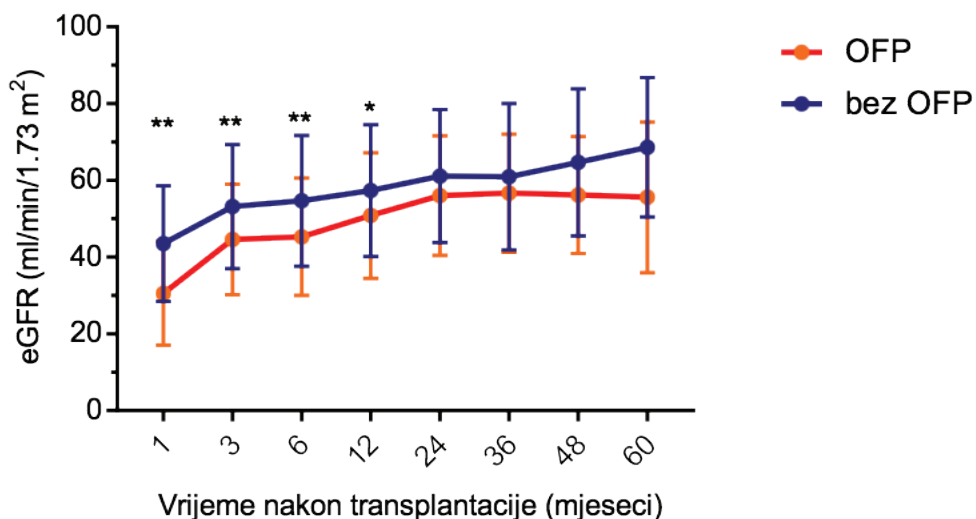
4.6. Utjecaj OFP-a na dugoročnu funkciju (do 5 godina nakon transplantacije) bubrežnog presatka procjenjenu putem eGFR-a

U univarijatnoj analizi bubrežna funkcija izražena pomoću procijenjene GFR bila je povezana s vrstom transplantacije, SPKT vs. samo bubreg, a također je bila povezana i s tipom darivatelja (rezultati nisu prikazani).

U univarijatnoj analizi je OFP bila povezana s GFR-om unutar 12 mjeseci od transplantacije. Uzorak ispitanika na 48 i 60 mjeseci bio je relativno malen, tako da nije analizirana povezanost OFP-a s GFR-om.



Slika 7 — Bubrežna funkcija (eGFR [ml/min/1.73 m²]) tijekom prve tri godine nakon transplantacije



*, p<0.05

**, p<0.01

Slika 8 — Bubrežna funkcija u ovisnosti o OFP-u

4.7. Utjecaj OFP-a na stopu gubitka eGFR-a (ml/min/1.73 m²) između 6 mjeseci i 5 godina nakon transplantacije

Cilj je modificiran zbog nedovoljnog broja bolesnika praćenih tijekom 60 mjeseci na trajanje praćenja do 36 mjeseci. Stopa gubitka bubrežne funkcije definirana je kao razlika GFR-a po mjesecu praćenja (tablica 23). Statistička značajnost dosegnuta je između skupine sa i bez OFP-a jedino u prvom tromjesečju. Za ostala vremena nakon transplantacije do ukupno 36 mjeseci nije nađena statistički značajna razlika u mjesečnoj promjeni GFR-a za skupinu bolesnika sa i bez OFP-a. U našoj kohorti bolesnika nije bilo značajnijeg gubitka bubrežne funkcije u periodu do 36 mjeseci (slika 7 i 8), neovisno o OFP-u.

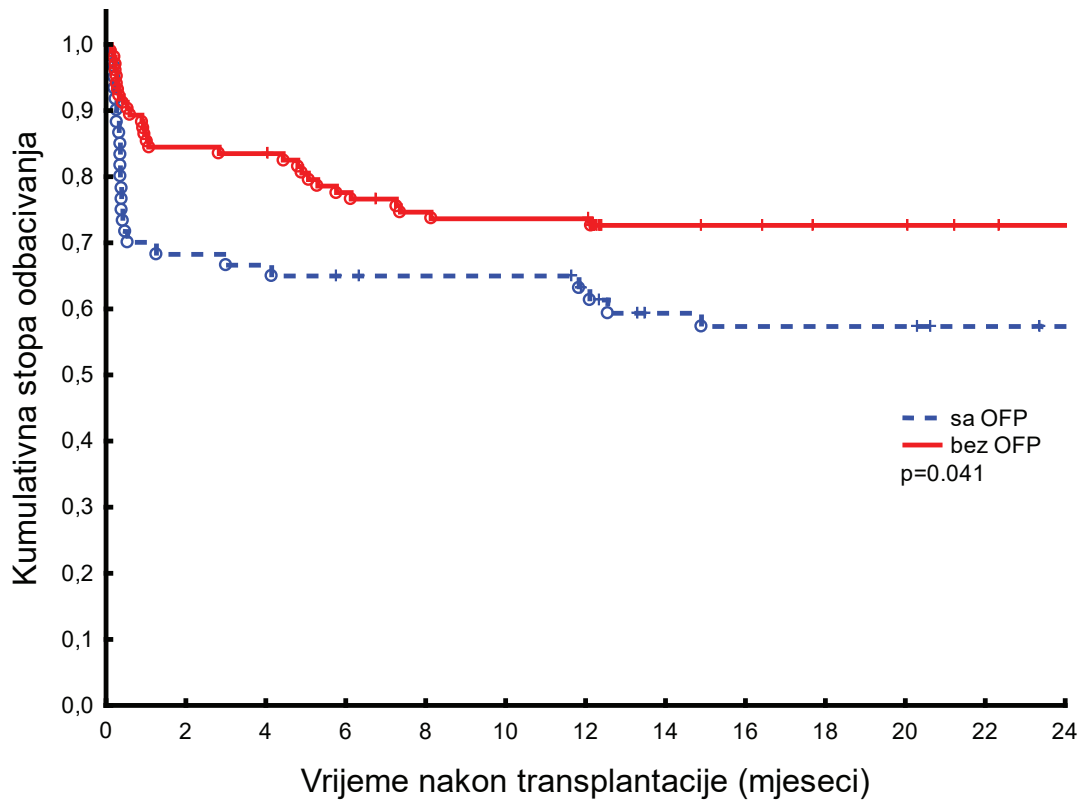
Tablica 23 — Povezanost OFP-a s mjesečnom promjenom eGFR-a (ml/min/1.73 m²)

Varijabla	N OFP	N bez OFP	Srednja vrijednost OFP	Srednja vrijednost bez OFP	p
mjesečna promjena eGFR-a od 1–3 mj.	60	103	7.04 ± 6.04	4.84 ± 6.29	<0.001
mjesečna promjena eGFR-a od 3–6 mj.	60	103	0.23 ± 2.75	0.49 ± 3.56	>0.1
mjesečna promjena eGFR-a od 6–12 mj.	60	103	0.92 ± 1.57	0.45 ± 1.65	>0.1
mjesečna promjena eGFR-a od 12–24 mj.	48	88	0.20 ± 0.95	0.34 ± 0.74	>0.1
mjesečna promjena eGFR-a od 24–36 mj.	33	74	0.04 ± 0.76	0.06 ± 0.72	>0.1

Dodatno prema našim rezultatima postoji statistički značajna negativna korelacija između prosječne koncentracije takrolimusa u 1 godini sa složenim kroničnim skorom na 12 mjeseci, $p=0.043$, ali ne postoji statistički značajna povezanost koncentracije takrolimusa s deltom pojedinih kroničnih skorova. Doza mikofenolata bila je značajno negativno povezana sa složenim kroničnim skorom na 12 mjeseci, ali ne i s deltom ci, ct i ah skorova unutar 1 godine (rezultati nisu tablično prikazani).

4.8. Učestalost akutnog odbacivanja u bolesnika sa i bez OFP-a

U skupini bolesnika s OFP-om postojala je statistički značajna razlika u učestalosti akutnih odbacivanja u odnosu na skupinu bez OFP-a, 1-godišnja učestalost akutnog odbacivanja bila je 40% uz OFP i 28% bez OFP-a.



Slika 9 — Učestalost akutnih odbacivanja

5. RASPRAVA

Dugoročno preživljenje transplantiranih bubrega još uvijek je nezadovoljavajuće. To se ogleda u podacima američkog registra prema kojima je 10-godišnji gubitak presatka dobivenog od umrlih darivatelja 50% (114). Iako je prisutno poboljšanje (stopa gubitka od 52.8% u zadnjoj dekadi u odnosu na 59.2%, u prethodnoj dekadi) (114), napredak je još uvijek nedovoljan.

Za poboljšanje dugoročnog preživljenja presatka potrebno je razjasniti i definirati čimbenike rizika za njegov gubitak, kako bi mogli razviti odgovarajuće preventivne i terapijske mjere. Premda su poznati brojni čimbenici koji utječu na gubitak presatka, IF/TA je jedan od najznačajnijih biljega lošijeg dugoročnog preživljenja presatka (18, 20).

Više desetaka godina poznato je da je proširenost IF/TA-e u transplantiranom i nativnom bubregu snažno povezana s ekskretornom funkcijom bubrega (115) i time prognozom i ishodom, iz čega proizlazi da su patohistološke promjene odlična mjera dugoročnog preživljenja i funkcije presatka.

Učinak OFP-a na dugoročni ishod transplantacije bubrega nije dobro istražen. Stoga je u ovom istraživanju provedenom na protokolarnim biopsijama presatka, analiziran utjecaj OFP-a na progresiju kroničnih patohistoloških promjena u transplantiranim bubrezima, tijekom prve godine nakon transplantacije. Prema našem znanju ovo je drugo istraživanje provedeno na protokolarnim biopsijama, u kojem je analizirana progresija fibroze u bubrežnom presatku u ovisnosti o OFP-u. Prvo takvo istraživanje, Heilmana i suradnika objavljeno je 2016. godine (63). Ovim istraživanjem smo željeli utvrditi utjecaj OFP-a na dugoročne ishode presatka, koristeći fibrozu u presatku kao mjeru kronične disfunkcije presatka.

Dosadašnja istraživanja su pokazala da se već rano nakon transplantacije u presatku mogu javiti intersticijska fibroza i tubularna atrofija (20, 21, 116), koje nisu značajno povezane s preživljenjem presatka osim ako nisu umjereno do jako izražene (24). Značenje intersticijske fibroze i tubularne atrofije veće je uz istodobno prisutnu intersticijsku upalu kako u neatrofičnom tako i u atrofičnom području (20, 117). Poznati čimbenici rizika za nastanak fibroze u presatku uključuju obilježja darivatelja, parametre vezane za transplantaciju i posttransplantacijske čimbenike poput toksičnosti CNI, infektivnih bolesti, hipertenzije i odbacivanja (118). Prema nekim autorima, OFP bi mogao predstavljati jedan od čimbenika rizika koji doprinose lošijem ishodu presatka (42, 56, 57). No postoje istraživanja koja to nisu potvrdila (40, 58).

Temeljem dosadašnjih spoznaja, moglo bi se pretpostaviti da bolesnici s OFP-a, koja je posljedica upalnog procesa i ishemijsko reperfuzijske ozljede, mogu imati povećani rizik za razvoj progresivne intersticijske fibroze i preuranjeni gubitak presatka. Tu uzročno-posljedična povezanost teško je dokazati. Stoga je ovo istraživanje planirano u nastojanju da se utvrdi povezanost OFP-a s fibrozom, kao jednim od čimbenika koji određuje dugoročni ishod presatka.

Tubularna atrofija i intersticijska fibroza završni je stadij kronične aktivne upale, bilo koje etiologije. Patofiziološki mehanizam podrazumijeva nesklad između mehanizama za oporavak tubularne ozljede i mezenhimno-epitelne tranzicije stanica i fibroblasta te potom infiltracije miofibroblasta iz cirkulacije, što u konačnici dovodi do obilnog odlaganja ekstracelularnog matriksa (119). Glavni medijator fibroze u većini, odnosno u svim oblicima kronične bubrežne

bolesti je TGF- β (engl. transforming growth factor beta, TGF). TGF- β može aktivirati i inducirati razvoj fibroze putem Smad aktivacije i na taj način dovesti do aktivacije miofibroblasta, proizvodnje i inhibicije degradacije ekstracelularnog matriksa što u konačnici dovodi do razvoja intersticijske fibroze (120).

U nativnom se bubregu akutna bubrežna ozljeda povezuje s povećanim rizikom od kronične bubrežne bolesti (KBB) (121, 122). Pretpostavlja se da je mehanizam prijelaza iz akutnog bubrežnog oštećenja u KBB-u povezan s poremećenim procesom cijeljenja u koji su uključene različite stanice, kao što su tubularne epitelne stanice, fibroblasti, miofibroblasti, fibrociti i imunološke stanice (123). U transplantiranom bubregu postoje dodatni čimbenici. Osim same ishemijsko reperfuzijske ozljede tu su i drugi potencijalni mehanizmi poput aloimunih ili neimunoloških mehanizama - toksičnost lijekova, infekcije i opstruktivna uropatija (18, 21, 23).

U uvodnom članku iz 2016 godine Oberbauer (119) je raspravljao o uzrocima fibroze u transplantiranom bubregu, te je po njegovom mišljenju, okidač za kroničnu upalu kontinuirani stanični i humoralni aloimuni odgovor u presatku, koji vodi do upale tubulointersticija i progresivnog sužavanja krvnih žila presatka. Neka novija istraživanja ukazuju na to da je progresivno oštećenje funkcije presatka povezanije s ozljedom vezanom uz humoralnu aloimunost nego sa samom endogenom fibrogenezom (124). S takvim shvaćanjem progresije kroničnih promjena, kao posljedice aloimunog odgovora podudarno je i ovo naše istraživanje, koje pokazuje izostanak neovisne povezanosti OFP-a s progresijom IF/TA-e, uz istodobno prisutnu neovisnu povezanost IF/TA-e s akutnim odbacivanjem.

Primarna mjera ishoda našeg istraživanja bila je analiza povezanosti odgođene funkcije presatka s progresijom kroničnih patohistoloških promjena transplantiranog bubrega tijekom jedne godine nakon transplantacije.

Kako bismo ostvarili navedeni cilj koristili smo dvije različite analize. Oblikovali smo složeni kronični histološki skor (SKS, složeni kronični skor), koji je u sebi uključivao sve sastavnice kroničnih Banff skorova, osim cg i mm, a dodatno smo analizirali i pojedinačne kronične skorove prema Banff klasifikaciji.

Naš složeni skor sličan je skorovima koji se koriste u istraživanjima u kojima su analizirane histološke promjene donorskog bubrega u procjeni kasnije funkcije presatka, poput CADI skora (engl. chronic allograft damage index) koji uključuje glomeruloskleroza – gs, arteriolarnu hijalinozu – ah, intersticijsku fibrozu – ci, tubularnu atrofiju – ct, arterijalnu skleroza – cv i proširenje mezangijskog matriksa – mm (47) ili CIV skora (43) (engl. interstitial fibrosis and fibrous thickening score) koji uključuje intersticijsku fibrozu i arterijalnu skleroza. Kao i Heilman i suradnici (63) analizirali smo i pojedinačne skorove. Oni su u svom istraživanju izračunali progresiju fibroze putem promjene u ci skor u kao ordinalne, kategorijske varijable, između biopsije učinjene 12 mjeseci nakon transplantacije i nulte biopsije.

Mi smo analizirali povezanost OFP-a sa SKS-om te povezanost OFP-a s promjenom (Δ), odnosno progresijom skora. Promjena skorova (Δ) razmatrana je kao kontinuirana varijabla i kao binarni kod (progresija/bez progresije). Učinjena je univarijatna i multivarijatna analiza. Dodatno smo analizirali povezanosti OFP-a i pojedinačnih kroničnih skorova, kako u univarijatnoj tako i u multivarijatnoj analizi.

Heilman i suradnici analizirali su razvoj promjena u Banff ci skor u skupini bolesnika sa i bez OFP-a. Njihova skupina OFP- bolesnika bila je veća od naše i sastojala se od ukupno 155 bolesnika s parnim biopsijama. Ta skupina uspoređena je s 283 bolesnika s parnim biopsijama, bez OFP-a. Našli su da je Banff ci skor >0 , na postreperfuzijskim biopsijama neovisno povezan s OFP-om, ali da progresija fibroze u dvije skupine, sa i bez OFP-a nije bila različita, što je rezultat i našeg istraživanja.

Između navedenog i našeg istraživanja postoje značajne razlike u pristupu imunosupresiji, kao i u samim skupinama bolesnika. Naime, u njihovom istraživanju bili su uključeni samo primatelji bubrega od umrlih darivatelja, dok su u našu skupinu uvršteni i primatelji bubrega i gušterače te mali broj (25 bolesnika) primatelja bubrega od živih darivatelja. Indukcija imunosupresije značajno je različita u ova dva istraživanja. Heilman i sur. su do 2011. u indukciji koristili kunićji antitimocitni globulin, a potom alemtuzumab u primatelja mlađih od 65 godina, a u onih starijih baziliksimumab. Oni koji su primali baziliksimumab nastavili su imunosupresiju održavanja mikofenolat mofetilom, takrolimusom i malom dozom prednizona, dok su oni kod kojih je primjenjena indukcija deplecijskim antitijelima nastavili imunosupresivnu terapiju održavanja prema protokolu s ranim ukidanjem steroida od 5-og dana nakon transplantacije (63). Prema protokolu našeg centra indukcija imunosupresije u većine je primatelja bila s baziliksimumabom te u malom broju bolesnika deplecijskim antitijelima (u samo 5 bolesnika) te rituksimumabom kod 2 primatelja. Praksa našeg centra protokol je održavanja s ranim ukidanjem steroida (od petog postransplantacijskog dana) ukoliko se radi o bolesnicima niskog imunološkog rizika koji nisu imali OFP.

U skladu s našim istraživanjem, može se zaključiti da OFP nije povezana s progresijom IF/TA-e neovisno o indukcijskom protutijelu (anti-IL2 u usporedbi sa antitimocitnim imunoglobulinom).

Naše istraživanje bilo je retrospektivno. Uključili smo bolesnike transplantirane od 2007. do 2014. kod kojih su rađene protokolarne biopsije, preimplantacijski i nakon 12 mjeseci. Isključeni su bolesnici koji nisu imali obje biopsije, kao i oni s neadekvatnim uzorcima. Uključili smo bolesnike s transplantiranim bubregom i one sa simultanom transplantacijom bubrega i gušterače. Ukupno je u studiju bilo uključeno 163 konsekutivnih bolesnika s parnim biopsijama, od kojih je 60 imalo OFP. U skupini s OFP-om bilo je više starijih bolesnika, kao i onih transplantiranih od umrlih i starijih donora, u odnosu na kontrolnu skupinu bez OFP-a. Svi donori su bili donori nakon moždane smrti, a samo je 25 bilo od živih darivatelja.

OFP-a definirana je kao potreba za dijalizom u prvih 7 dana nakon transplantacije (57). Učestalost OFP-a bila je 36.8%. Radilo se o izdvojenoj skupini bolesnika kojima su rađene protokolarne biopsije. Ovaj postotak nešto je viši nego u nekim drugim objavljenim studijama (31, 38), ali istovjetan onom u studiji Heilmana i suradnika (63) gdje je OFP bio u 36.7% primatelja. Prosječna dob donora u našoj skupini bolesnika bila je 45.9 ± 15.1 . Vrijeme tople i hladne ishemije nismo analizirali.

Kao i u ranijim istraživanjima (21, 63) dobili smo podatak da postoji progresija fibroze u prvoj godini nakon transplantacije u 60.8% bolesnika.

Univarijatnom analizom nađena je povezanost OFP-a sa SKS-om na nultoj biopsiji (statistički granična povezanost 1.56 ± 1.79 vs. 2.53 ± 2.57 u skupini s OFP, $p=0.05$) i statistički značajna povezanost nakon 12 mjeseci (2.65 ± 2.25 vs. 5.13 ± 3.28 u skupini s OFP-om, $p<0.001$). Dodatno

smo pokazali i povezanost OFP-a s promjenom (Δ) SKS-a. Na temelju ovog može se zaključiti da je rizik OFP-a bio veći u skupini bolesnika s većim stupnjem fibroze na 0-toj biopsiji jer je veći složeni histološki skor u nultim biopsijama povezan s OFP-om.

Naš složeni skor obuhvaća i hijalinozu arteriola za koju je u nekim ranijim istraživanjima (53, 54) utvrđeno da je povezana s većim rizikom OFP-a. Rezultati navedenih istraživanja su reevaluirani u novijoj literaturi te se smatra da je vrijednost preimplantacijskih biopsija u procjeni ishoda presatka, uključujući i OFP i preživljenje presatka, upitna (49, 50).

U univarijatnoj analizi, SKS 12 mjeseci nakon transplantacije kao i promjena skorova (Δ) bili su povezani s akutnim odbacivanjima. Ovakav je rezultat podudaran s rezultatima ranije objavljenih studija koje sugeriraju da OFP povećava rizik akutnih odbacivanja (42, 59).

U našem istraživanju nađena je povezanost dobi darivatelja i primatelja sa SKS. Viša dob primatelja i darivatelja pozitivno je korelirala sa složenim kroničnim skorovima prilikom transplantacije i nakon 12 mjeseci, ali nije bila povezana s promjenom (Δ) navedenih skorova u promatranom vremenu od 12 mjeseci. Takav rezultat upućuje na zaključak da viša dob darivatelja i primatelja doprinosi većem stupnju fibroze, ali ne ubrzava progresiju fibroze.

HLA nepodudarnost nije bila povezana sa složenim skorovima niti s njihovom razlikom (Δ) iako je u nekim istraživanjima HLA nepodudarnost definirana kao jedan od čimbenika povezanih s rizikom OFP-a (38).

Univarijatnom analizom povezanosti SKS-a s imunosupresijom nađeno je da je ukupna doza mikofenolat mofetila ili mikofenolat natrija, povezana i sa skorom 12 mjeseci nakon transplantacije i s promjenom skora (Δ). Utvrđena je i povezanost razine takrolimusa sa složenim histološkim skorom 12 mjeseci nakon transplantacije, ali ne i s njegovom promjenom (Δ). Primjena kortikosteroida bila je povezana sa SKS-om na 12 mjeseci i s njegovom promjenom, a šećerna bolest nije.

Nakon dobivenih rezultata univarijatne analize sve one varijable za koje je nađeno da su statistički granično ili značajno povezane s OFP-om uključene su u multivarijatnu analizu: dob primatelja i darivatelja, prosječna doza MMF u 1 godini, prosječna doza takrolimusa u 1 godini, složeni kronični skor na 0-toj biopsiji, OFP, akutno odbacivanje, vrsta transplantacije (bubreg/SPKT), tip donora (živi/umrli) te imunosupresija bez kortikosteroida.

Multivarijatna analiza pokazala je da je s povećanom vrijednošću SKS 12 mjeseci nakon transplantacije neovisno povezana starija dob darivatelja, veći SKS prilikom transplantacije, transplantacija s umrlog darivatelja, prisutnost steroida u imunosupresivnom protokolu te akutno odbacivanje.

SKS 12 mjeseci nakon transplantacije bio je niži u bolesnika koji nisu imali epizodu akutnog odbacivanja što se slaže s rezultatima nekih ranije objavljenih studija koje su pokazale da odbacivanja, uključujući i ona subklinička, povećavaju rizik progresije fibroze (20, 125).

Veća prosječna doza MMF-a bila je povezana s manjim SKS 12 mjeseci nakon transplantacije. Taj je rezultat potpuno sukladan s rezultatom našeg ranijeg istraživanja u kojem smo u retrospektivno analiziranoj skupini 79 transplantiranih pacijenata u multiploj regresijskoj analizi pokazali da su niži Δ ci ($b=-0.2 \pm 0.09$, $p=0.05$) i Δ ct ($b=-0.29 \pm 0.1$, $p=0.02$) bili neovisno povezani s većom prosječnom dozom mikofenolata (126).

Koncentracija takrolimusa nije bila statistički značajno povezana s vrijednošću kroničnog histološkog skora 12 mjeseci nakon transplantacije. Ovakav rezultat razlikuje se u odnosu na ranije objavljene rezultate drugih istraživanja (21).

Nankivell i suradnici (127) 2016. godine objavili su rezultate dugotrajnog praćenja bolesnika s transplantiranim bubregom i gušteračom, liječenih ciklosporinom u usporedbi s onima liječenim takrolimusom. Pokazali su da je uz takrolimus manja incidencija akutne blage arteriolopatije, nitaste intersticijske fibroze, glomerularne kongestije i tubularnih mikrokalcifikata u odnosu na terapiju ciklosporinom, ali je progresija kronične arteriolarne hijalinoze nepromijenjena između dviju skupina. Nedostatak tog istraživanja bila je istodobna primjena mikofenolata samo u skupini s takrolimusom, dok je uz ciklosporin bio korišten azatioprin.

U multivarijatnoj analizi OFP nije bila povezana sa SKS nakon 12 mjeseci, ali je bila povezana s promjenom složenog kroničnog skora (Δ).

Nakon analize SKS kao sekundarne mjere ishoda analizirali smo u univarijatnoj i multivarijatnoj analizi povezanost OFP-a s promjenom (Δ) pojedinačnih kroničnih histoloških skorova prema Banff klasifikaciji, i to s ci, ct, ah i cv skorom.

U univarijatnoj analizi nađeno je da je OFP povezan s promjenom ci i ct, a dodatno su s promjenom navedenih skorova bili povezani i ukupna doza MMF-a, akutno odbacivanje te 0-ti skorovi ci i ct. HLA nepodudarnost te dob donora i primatelja nisu bili povezani s promjenom ci i ct. Tip donora je bio povezan samo s promjenom ci (umrli vs. živi donor).

U multivarijatnu analizu uključili smo sve statistički značajne varijable iz univarijatne analize te smo utvrdili da OFP nije neovisno povezan s promjenom (Δ) ct skora, niti ci skora ($p=0.229$ i $p=0.903$). Ovakav je rezultat podudaran s rezultatom Heilmana i suradnika (63) koji su također analizirali promjenu (Δ) fibroze preko ci skora prilikom 0-te biopsije i biopsije 12 mjeseci nakon transplantacije te su utvrdili da ne postoji statistički značajna razlika u promjeni Banff ci skora u skupini bolesnika s OFP-om i bez OFP-a ($p=0.91$).

Rezultati ovog istraživanja pokazali su da OFP nije povezana s progresijom pojedinačnih kroničnih histoloških promjena 12 mjeseci od transplantacije. Takav rezultat daje osnove za zaključak da OFP nije dominantni čimbenik progresije kroničnih bubrežnih promjena godinu dana nakon transplantacije.

Na temelju prikazanih rezultata vidljivo je da u intervalu od 12 mjeseci postoji umjerena progresija kroničnih histoloških promjena, mjenjenih složenim kroničnim histološkim skorom (SKS) i njegovom promjenom kao i progresija pojedinačnih histoloških skorova. Prema rezultatima multivarijatne analize OFP nije bio povezan sa SKS ali je bio povezan sa promjenom, (Δ) SKS-a. Činjenica da OFP nije bio povezan s promjenom pojedinačnih ci i ct skorova (Δ), kao niti s promjenom vaskularnih skorova, moguće govori protiv značajnog patogenetskog učinka OFP-a na razvoj kroničnog bubrežnog oštećenja.

Što se tiče kliničkih ishoda i povezanosti OFP-a s ukupnim preživljenjem presatka i bolesnika, neke studije pokazale su povezanost OFP-a s većim rizikom gubitka presatka (42, 56, 57, 128, 129) i mortalitetom (130), dok druge nisu (40, 58, 61, 62, 131).

Yarlagadda je u svojoj metaanalizi pokazao da je OFP povezana s povećanjem rizika gubitka presatka za 41% tijekom 39635 bolesnik-godina, praćenja, te da je OFP povezana s 38%-im

povećanjem rizika akutnog odbacivanja u prvoj godini nakon transplantacije kao i s višim koncentracijama kreatinina nakon 3.5 godina praćenja (42). Godine 2011. Kayler i suradnici objavili su podatke o utjecaju OFP-a induciranoj trajanjem hladne ishemije na ishode transplantacije. Analizirali su primatelje parnih bubrega sa i bez OFP-a. Unatoč snažnoj povezanosti vremena trajanja hladne ishemije s OFP-om, preživljenje presatka bilo je slično bez obzira na razlike trajanja hladne ishemije, <15h. Postavili su hipotezu da je OFP uzrokovana dužinom trajanja hladne ishemije uglavnom nastala zbog ATN-a, koji je po svojoj prirodi, reverzibilan (58). Takva razmišljanja podudaraju se s našim jer i mi smatramo da ukoliko se radi o OFP-a bez dodatnog imunološkog mehanizma, on sam ne predstavlja nužno neovisni rizični čimbenik za dugoročni ishod presatka.

Ukupno preživljene bolesnika u našoj studiji bilo je 99% nakon 3 godine praćenja bolesnika kao i preživljenje bubrega, dok je preživljenje bubrega cenzurirano za smrt bolesnika 100% nakon 3 godine praćenja. Kada smo analizirali preživljenje bubrega i bolesnika u ovisnosti o OFP-u dobili smo da između skupine bolesnika s OFP-om nema statistički značajne razlike u preživljenju bubrega i bolesnika kao i u preživljenju bubrega cenzuriranom za smrt bolesnika. Ovakav rezultat vjerojatno je posljedica činjenice da su u studiju bili uključeni samo oni bolesnici koji su imali protokolarne biopsije i preživljenje barem godinu dana nakon transplantacije.

Analizirali smo i povezanost OFP-a s glomerularnom filtracijom i stopom gubitka bubrežne funkcije, određenima prema MDRD formuli. Za razliku od ranijih istraživanja (56, 57) prema našim je rezultatima eGFR bila povezana s OFP-om jedino u prvom tromjesečju. Nakon ta prva tri mjeseca nakon transplantacije pa sve do ukupno 36 mjeseci nije nađena statistički značajna razlika u mjesečnoj promjeni e GFR-a za skupinu bolesnika sa i bez OFP-a. U našoj skupini bolesnika nije bilo značajnijeg gubitka bubrežne funkcije u periodu do 36 mjeseci, neovisno o OFP-u. Ipak ovakav rezultat ograničen je malim brojem ispitanika kao i nedovoljnom dužinom praćenja bolesnika te se treba interpretirati u tom kontekstu.

Ova studija imala je svoje manjkavosti i ograničenja. Radilo se o retrospektivnom istraživanju, provedenom na uzorku bolesnika iz jednog centra. Uključeni su samo bolesnici koji su imali biopsije pri implantaciji i nakon 1 godine, tako da su rezultati preživljenja bubrega i bolesnika bolji od onih koji bi uključivali cijelu kohortu transplantiranu u tom razdoblju, koja bi onda uključivala i umrle bolesnike godinu dana nakon transplantacije i one s gubitkom presatka.

Što se tiče histoloških parametara, u našem istraživanju nedostaje varijabla o postotku glomeruloskleroze, koja je prema nekim studijama definirana kao mogući čimbenik rizika za razvoj OFP-a kao i za dugoročno lošiji ishod presatka (52), ali u kasnijim istraživanjima ipak nije potvrđena (49, 50).

Studija nije imala dovoljnu snagu statističkog testa (engl. power) za procjenu dugoročne funkcije presatka do 5 godina nakon transplantacije.

Temeljem izloženih činjenica vidljivo je da OFP predstavlja trajni izazov i predmet brojnih istraživanja. Sve studije o rizicima ili posljedicama OFP-a bile su retrospektivne, neke su bile s malim brojem ispitanika, a neke su temeljene na podacima iz registra. Do sada nisu objavljeni rezultati prospektivnih istraživanja u kojima se analiziraju rizici, posljedice i povezanost OFP-a ishodima presatka. Ono što je sporno u postavci povezanosti OFP-a s dugoročnim ishodima presatka svakako je i sama definicija OFP-a (31). U ovom istraživanju korištena je definicija

OFP-a kojom je ona definirana kao potreba za dijalizom unutar 7 dana od transplantacije. Ta je definicija manjkava jer može obuhvatiti i druge indikacije za dijalizom, poput hiperkalemije ili acidoze, a ne ekskluzivno odgođene funkcije presatka. Iako je važnost OFP-a za dugoročni ishod bubrega i bolesnika definirana već dulje vrijeme teško je utvrditi uzročno posljedičnu vezu.

Stoga je ovo istraživanje planirano u pokušaju i sa ciljem utvrđivanja povezanosti OFP-a s progresijom fibroze u prvoj godini nakon transplantacije kao i utvrđivanja da nema negativni učinak na preživljenje presatka i bolesnika u praćenju do 3 godine nakon transplantacije.

Prema našim rezultatima OFP nije bila povezana s progresijom fibroze te je ona vjerojatno multifaktorijalno uzrokovana (dob darivatelja i primatelja, vrsta transplantacije, ishodišni bazalni skorovi i akutno odbacivanje).

6. ZAKLJUČCI

- učestalost OFP-a u našoj skupini bolesnika bila je 36.8%
- OFP nije povezana sa SKA 12 mjeseci nakon transplantacije
- sa SKS 12 mjeseci nakon transplantacije, povezani su dob darivatelja, prosječna doza MMF-a, složeni kronični skor na 0-toj biopsiji, akutno odbacivanje, tip darivatelja (živi vs. umrli) i upotreba kortikosteroida u terapiji održavanja
- OFP je povezan s promjenom (Δ) SKS
- OFP nije povezan s promjenom (Δ) ci i ct
- OFP nije povezan s lošijim preživljenjem presatka i bolesnika.

7. SAŽETAK

Uvod

Odgođena funkcija presatka (OFP) manifestacija je akutne bubrežne ozljede koja nastaje kao posljedica ishemijsko reperfuzijskog oštećenja. Obično je definirana kao potreba za dijalizom u prvih 7 dana nakon transplantacije. Cilj ovog istraživanja bio je analizirati povezanost OFP-a s progresijom fibroze u transplantiranom bubregu.

Metode i materijali

Istraživanje je bilo retrospektivno. Uključeno je 163 konsektivna bolesnika kod kojih je učinjena transplantacija u našem centru od 2007. do 2014. godine. Isključeni su bili bolesnici kod kojih nisu učinjene protokolarane biopsije, 0 dan i 12 mjeseci nakon transplantacije te oni s neadekvatnim uzorcima. Primarna mjera ishoda bila je progresija kroničnih histoloških promjena u transplantiranom bubregu u prvoj godini nakon transplantacije. Kao surogat marker kronične ozljede presatka koristili smo složeni kronični histološki skor (SKS) i pojedinačne histološke skorove ci i ct. Složeni kronični skor (SKS) sastojao se od zbroja pojedinačnih kroničnih skorova prema Banff klasifikaciji, ci+ct+cv+ah (vrijednost skora od 0 do 12). Analizirali smo promjenu (Δ) SKS-a u skupini sa i bez odgođene funkcije presatka (OFP) i promjenu (Δ) pojedinačnih skorova u ovisnosti o OFP-u. Dodatno smo analizirali povezanost OFP-a s preživljenjem presatka i bolesnika uključenih u našu skupinu.

Rezultati

Ukupno je bilo 60 bolesnika s OFP-om (36.8 %). Prosječno vrijeme praćenja bilo je 1665 ± 590 dana. SKS je bio statistički značajno viši u svim biopsijama nakon 12 mjeseci (1.92 ± 2.16 u 0 biopsijama vs. 3.56 ± 2.93 u biopsijama nakon 12 mjeseci, $p < 0.001$). U univarijatnoj analizi OFP je bila povezana sa SKS-om i njegovom promjenom (Δ). U multivarijatnoj analizi OFP nije bila povezana sa SKS-om na 12 mjeseci ($p = 0.417$), ali je bila povezana s promjenom SKS-a (Δ) ($p = 0.012$). U multivarijatnoj analizi OFP nije bila povezana s ci i ct na 12 mjeseci, niti s njihovom promjenom (Δ). Preživljenje presatka i bolesnika bilo je podjednako u obje skupine, neovisno o OFP-u.

Zaključak

Kronična ozljeda presatka mjerena složenim kroničnim histološkim skorom, kao i pojedinačnim kroničnim skorovima ci i ct samo se umjereno povećava u prvoj godini nakon transplantacije. Čini se da OFP nije neovisni čimbenik rizika koji dovodi do progresije patohistoloških promjena u presatku.

—
—

8. SUMMARY

THE IMPACT OF DELAYED GRAFT FUNCTION ON PROGRESSION OF CHRONIC HISTOLOGICAL CHANGES IN TRANSPLANTED KIDNEY, Bojana Maksimović, 2018

Background and objectives

Delayed graft function (DGF) is a manifestation of acute kidney injury resulting from ischemia-reperfusion injury. It has usually been defined as the need for dialysis within 7 days after transplantation. Aim of our study was to evaluate effect of delayed graft function on the progression of fibrosis in transplanted kidney after deceased donor kidney or kidney pancreas transplantation.

Methods and materials

Our study was retrospective. We included 163 consecutive patients transplanted in our center from 2007 to 2014. Kidney graft only, and kidney pancreas transplanted patients were included. Patients without paired biopsies (day 0 and 12 months posttransplant) were excluded. The primary outcome was the one year progression of chronic histology changes based on protocol biopsies performed on the day of transplantation and at 12 months posttransplant. We used composite chronic histological score as a marker of chronic allograft injury, and separate chronic scores c_i and c_t . The composite score is a sum of Banff chronic scores c_i, c_t, a_h and c_v (therefore, score value range 0–12). We analysed the distribution of the change (Δ score) in the composite score between group of patients with and without delayed graft function on paired biopsies, and distribution of change for separate scores. We also analysed impact of DGF on graft survival and graft function in our cohort of patients.

Results

There were 60 patients with DGF (36.8%) in our cohort. Follow up was 1665 ± 590 days. Chronic composite histological score were statistically significantly higher in all biopsies at 12 months after transplantation (1.92 ± 2.16 at 0 biopsies vs. 3.56 ± 2.93 at 12 months biopses, $p < 0.001$). In univariate analysis DGF was correlated with composite chronic histological score and with the change of the score (Δ). In a multivariate analysis DGF was not correlated with composite chronic histological score at 12 months ($p = 0.417$) but it was correlated with change of the score (Δ) ($p = 0.012$). DGF was not correlated with c_i and c_t at 12 months, and it was also not correlated with change of c_i and c_t score (Δ). Graft and patient survival was similar in both groups.

Conclusion

Chronic allograft injury, as measured by a composite score and separate scores, c_i and c_t increased only mildly in the first post-transplant year. Delayed graft function does not seem to be a major driver of a chronic allograft injury during first post-transplant year.

Popis tablica

- Tablica 1 — Obilježja primatelja, darivatelja i transplantacija
- Tablica 2 — Vrijeme praćenja bolesnika i presatka
- Tablica 3 — Demografski podaci
- Tablica 4 — Promjena kroničnog histološkog skora tijekom 1. godine nakon transplantacije
- Tablica 5 — Binarni prikaz promjene kroničnog složenog skora u 1. god. nakon transplantacije.
- Tablica 6 — Povezanost OFP sa složenim kroničnim histološkim skorovima
- Tablica 7 — Povezanost OFP sa promjenom (Δ) složenog kroničnog histološkog skora
- Tablica 8 — Povezanost akutnog odbacivanja sa složenim kroničnim histološkim skorom na 12 mj. i njegovom promjenom tijekom 1. godine
- Tablica 9 — Povezanost složenih kroničnih histoloških skorova sa HLA i dobi darivatelja i primatelja
- Tablica 10 — Povezanost imunosupresije sa složenim histološkim skorom
- Tablica 11 — Povezanost složenih kroničnih histoloških skorova sa kortikosteroidima
- Tablica 12 — Povezanost vrijednosti složenog histološkog skora 12 mj. nakon transplantacije s obilježjima darivatelja, primatelja i transplantacije te imunosupresije
- Tablica 13 — Povezanost imunosupresije, OFP i akutnog odbacivanja sa Δ složenog kroničnog skora, multivarijatna analiza
- Tablica 14 — Deskriptivna statistika, promjene patohistoloških skorova u svih bolesnika
- Tablica 15 — Promjena skorova u ovisnosti o OFP (Δ skorova u ovisnosti o OFP)
- Tablica 16 — Povezanost dobi donora i primatelja, HLA, pojedinačnih bazalnih skorova i imunosupresije sa deltom pojedinačnih skorova, univarijatna analiza
- Tablica 17 — Povezanost tipa donora (umrli vs. živi) sa Δ pojedinačnih skorova
- Tablica 18 — Povezanost akutnog odbacivanja sa Δ pojedinačnih skorova
- Tablica 19 — Čimbenici povezani sa Δ_{ct}
- Tablica 20 — Čimbenici povezani sa Δ_{ci}
- Tablica 21 — Čimbenici povezani sa Δ_{ah}
- Tablica 22 — Čimbenici povezani sa Δ_{cv}
- Tablica 23 — Povezanost OFP s mjesečnom promjenom eGFR (ml/min/1.73 m²)

Popis slika

- Slika 1 — Ukupno preživljenje bolesnika
- Slika 2 — Preživljenje bubrega
- Slika 3 — Preživljenje bubrega cenzurirano za smrt bolesnika
- Slika 4 — Preživljenje bubrega ovisno o OFP
- Slika 5 — Preživljenje bubrega cenzurirano za smrt bolesnika ovisno o OFP
- Slika 6 — Preživljenje bolesnika ovisno o OFP
- Slika 7 — Bubrežna funkcija (eGFR [ml/min/1.73 m²]) tijekom prve tri godine nakon transplantacije
- Slika 8 — Bubrežna funkcija u ovisnosti o OFP
- Slika 9 — Učestalost akutnih odbacivanja

10. LITERATURA

1. Wolfe RA, Ashby VB, Milford EL, Ojo AO, Ettenger RE, Agodoa LYC, i sur. Comparison of Mortality in All Patients on Dialysis, Patients on Dialysis Awaiting Transplantation, and Recipients of a First Cadaveric Transplant. *N Engl J Med*. 1999;341(23):1725–30.
2. Oniscu GC, Brown H, Forsythe JLR. Impact of cadaveric renal transplantation on survival in patients listed for transplantation. *J Am Soc Nephrol*. 2005;16(6):1859–65.
3. McDonald SP, Russ GR. Survival of recipients of cadaveric kidney transplants compared with those receiving dialysis treatment in Australia and New Zealand, 1991-2001. *Nephrol Dial Transplant*. 2002 ;17(12):2212–9.
4. Rabbat CG, Thorpe KE, Russell JD, Churchill DN. Comparison of mortality risk for dialysis patients and cadaveric first renal transplant recipients in Ontario, Canada. *J Am Soc Nephrol*. 2000;11(5):917–22.
5. Medin C, Elinder CG, Hylander B, Blom B, Wilczek H. Survival of patients who have been on a waiting list for renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant*. 2000;15(5):701–4.
6. Lamb KE, Lodhi S, Meier-Kriesche H-U. Long-term renal allograft survival in the United States: a critical reappraisal. *Am J Transplant*. 2011;11(3):450–62.
7. Meier-Kriesche HU, 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;4(3):378–83.
8. Matas AJ, Smith JM, Skeans MA, Thompson B, Gustafson SK, Schnitzler MA, i sur. OPTN/SRTR 2012 Annual Data Report: Kidney. *Am J Transplant*. 2014;
9. Suri DL, Tomlanovich SJ, Olson JL, Meyer TW. Transplant glomerulopathy as a cause of late graft loss. *Am J Kidney Dis*. 2000;35(4):674–80.
10. Joosten SA, Sijpkens YWJ, Van Kooten C, Paul LC. Chronic renal allograft rejection: Pathophysiologic considerations. *Kidney Int*. 2005;68(1):1–13.
11. Cosio FG, Gloor JM, Sethi S, Stegall MD. Transplant glomerulopathy. *Am J Transplant*. 2008;8(3):492–6.
12. Solez K, Axelsen R a, Benediktsson H, Burdick JF, Cohen a H, Colvin RB, i sur. International standardization of criteria for the histologic diagnosis of renal allograft rejection: the Banff working classification of kidney transplant pathology. *Kidney Int*. 1993;44(2):411–22.
13. Solez K, Colvin RB, Racusen LC, Haas M, Sis B, Mengel M, i sur. Banff 07 classification of renal allograft pathology: Updates and future directions. *Am J Transplant*. 2008;8(4):753–60.
14. Haas M, Sis B, Racusen LC, Solez K, Glotz D, Colvin RB, i sur. Banff 2013 meeting report: Inclusion of C4d-negative antibody-mediated rejection and antibody-associated arterial lesions. *Am J Transplant*. 2014;14(2):272–83.
15. Halloran PF, Melk A, Barth C. Rethinking chronic allograft nephropathy: the concept of accelerated senescence. *J Am Soc Nephrol*. 1999;10(1):167–81.
16. Pascual M, Theruvath T, Kawai T, Tolkoﬀ-Rubin N, Cosimi B. Strategies to Improve Long -Term Outcomes After Renal Transplantation. *New England J Med* 2002;346(8):580–90.
17. Cornell LD, Colvin RB. Chronic allograft nephropathy. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2005;14(3):229–34.

18. El-Zoghby ZM, Stegall MD, Lager DJ, Kremers WK, Amer H, Gloor JM, i sur. Identifying Specific Causes of Kidney Allograft Loss. *Am J Transplant*. 2009 Mar [cited 2016 Nov 9];9(3):527–35.
19. Brouard S, Renaudin K, Souillou JP. Revisiting the natural history of IF/TA in renal transplantation. *Am J Transplant*. 2011;11(4):647–9.
20. Cosio FG, Grande JP, Larson TS, Gloor JM, Velosa JA, Textor SC, i sur. Kidney allograft fibrosis and atrophy early after living donor transplantation. *Am J Transplant*. 2005;5(5):1130–6.
21. Nankivell B, Borrows R, Fung C, O'connell P, Allen R, Chapman J. The natural history of chronic allograft nephropathy. *N Engl J Med*. 2003;349:2326–33.
22. Wadei HM, Rule AD, Lewin M, Mahale AS, Khamash HA, Schwab TR, i sur. Kidney transplant function and histological clearance of virus following diagnosis of polyomavirus-associated nephropathy (PVAN). *Am J Transplant*. 2006;6(5 1):1025–32.
23. Gago M, Cornell LD, Kremers WK, Stegall MD, Cosio FG. Kidney allograft inflammation and fibrosis, causes and consequences. *Am J Transplant*. 2012;12(5):1199–207.
24. Stegall MD, Park WD, Larson TS, Gloor JM, Cornell LD, Sethi S, i sur. The histology of solitary renal allografts at 1 and 5 years after transplantation. *Am J Transplant*. 2011;11(4):698–707.
25. 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;5(10):2464–72.
26. Gloor JM, Sethi S, Stegall MD, Park WD, Moore SB, DeGoey S, i sur. Transplant glomerulopathy: Subclinical incidence and association with alloantibody. *Am J Transplant*. 2007;7(9):2124–32.
27. Sellarés J, De Freitas DG, Mengel M, Sis B, Hidalgo LG, Matas AJ, i sur. Inflammation lesions in kidney transplant biopsies: Association with survival is due to the underlying diseases. *Am J Transplant*. 2011;11(3):489–99.
28. Naesens M, Kuypers DRJ, De Vusser K, Evenepoel P, Claes K, Bammens B, i sur. The Histology of Kidney Transplant Failure. *Transplantation*. 2014;98(4):427–35.
29. Gourishankar S, Leduc R, Connett J, Cecka JM, Cosio F, Fieberg A, i sur. transplant “: Data from the DeKAF study. 2013;10(2):324–30.
30. Perico N, Cattaneo D, Sayegh MH, Remuzzi G. Delayed graft function in kidney transplantation. *Lancet*. 2004;364(9447):1814–27.
31. Siedlecki A, Irish W, Brennan DC. Delayed graft function in the kidney transplant. *Am J Transplant*. 2011;11(11):2279–96.
32. Moore J, Shabir S, Chand S, Bentall A, McClean A, Chan W, i sur. Assessing and comparing rival definitions of delayed renal allograft function for predicting subsequent graft failure. *Transplantation*. 2010;90(10):1113–6.
33. A definition of irreversible coma. Report of the Ad Hoc Committee of the Harvard Medical School to Examine the Definition of Brain Death. *JAMA*. 1968;205(6):337–40.
34. Westendorp WH, Leuvenink HG, Ploeg RJ. Brain death induced renal injury. *Curr Opin Organ Transplant*. 2011;16(2):151–6.
35. Sharif A, Borrows R. Delayed graft function after kidney transplantation: The clinical perspective. *Am J Kidney Dis* . 2013;62(1):150–8.
36. Saidi RF, Elias N, Kawai T, Hertl M, Farrell ML, Goes N, i sur. Outcome of kidney transplantation using expanded criteria donors and donation after cardiac death kidneys: Realities and costs. *Am J Transplant*. 2007;7(12):2769–74.
37. Bos EM, Leuvenink HGD, van Goor H, Ploeg RJ. Kidney grafts from brain dead donors: Inferior quality or opportunity for improvement? *Kidney Int*. 2007;72(7):797–805.

38. Irish WD, Ilesley JN, Schnitzler MA, Feng S, Brennan DC. A risk prediction model for delayed graft function in the current era of deceased donor renal transplantation. *Am J Transplant.* 2010;10(10):2279–86.
39. Chapal M, Le Borgne F, Legendre C, Kreis H, Mourad G, Garrigue V, i sur. A useful scoring system for the prediction and management of delayed graft function following kidney transplantation from cadaveric donors. *Kidney Int.* 2014;86(10):1130–9.
40. Boom H, Mallat MJ, de Fijter JW, Zwinderman AH, Paul LC. Delayed graft function influences renal function, but not survival. *Kidney Int.* 2000;58(0085–2538):859–66.
41. Hall IE, Reese PP, Weng FL, Schröppel B, Doshi MD, Hasz RD, i sur. Preimplant histologic acute tubular necrosis and allograft outcomes. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2014;9(3):573–82.
42. Yarlagadda SG, Coca SG, Formica RN, Poggio ED, Parikh CR. Association between delayed graft function and allograft and patient survival: A systematic review and meta-analysis. *Nephrol Dial Transplant.* 2009;24(3):1039–47.
43. Balaz P, Rokosny S, Wohlfahrtova M, Wohlfahrt P, Bartonova A, Pokorna E, i sur. Identification of Expanded-Criteria Donor Kidney Grafts at Lower Risk of Delayed Graft Function. 2013;96(7):633–8.
44. Lopes JA, Moreso F, Riera L, Carrera M, Ibernón M, Fulladosa X, i sur. Evaluation of pre-implantation kidney biopsies: Comparison of Banff criteria to a morphometric approach. *Kidney Int.* 2005;67(4):1595–600.
45. Snoeijis MGJ, Buurman WA, Christiaans MHL, Van Hooff JP, Goldschmeding R, Van Suylen RJ, i sur. Histological assessment of preimplantation biopsies may improve selection of kidneys from old donors after cardiac death. *Am J Transplant.* 2008;8(9):1844–51.
46. Remuzzi G, Grinyò J, Ruggenenti P, Beatini M, Cole EH, Milford EL, i sur. Early experience with dual kidney transplantation in adults using expanded donor criteria. Double Kidney Transplant Group (DKG). *J Am Soc Nephrol.* 1999;10(12):2591–8.
47. Ortiz F. Predictors of Renal Allograft Histologic Damage Progression. *J Am Soc Nephrol.* 2005;16(3):817–24.
48. Anglicheau D, Loupy A, Lefaucheur C, Pessione F, Létourneau I, Côté I, i sur. A simple clinico-histopathological composite scoring system is highly predictive of graft outcomes in marginal donors. *Am J Transplant.* 2008;8(11):2325–34.
49. Wang CJ, Wetmore JB, Crary GS, Kasiske BL. The donor kidney biopsy and its implications in predicting graft outcomes: A systematic review. *Am J Transplant.* 2015;15(7):1903–14.
50. Naesens M. Zero-Time Renal Transplant Biopsies. *Transplantation.* 2015;0(0):1.
51. Sung RS, Christensen LL, Leichtman AB, Greenstein SM, Distant DA, Wynn JJ, i sur. Determinants of discard of expanded criteria donor kidneys: Impact of biopsy and machine perfusion. *Am J Transplant.* 2008;8(4):783–92.
52. Gaber LW, Moore LW, Alloway RR, Amiri MH, Vera SR GA. Glomerulosclerosis as a determinant of posttransplant function of older donor renal allografts. *Transplantation.* 1995. p. 334–9.
53. Cockfield SM, Moore RB, Todd G, Solez K, Gourishankar S. The Prognostic Utility of Deceased Donor Implantation Biopsy in Determining Function and Graft Survival After Kidney Transplantation. *Transplantation.* 2010;89(5):559–66.
54. Maignon M, Desvaux D, Noël L-H, Roudot-Thoraval F, Thervet E, Audard V, i sur. Arteriolar Hyalinization Predicts Delayed Graft Function in Deceased Donor Renal Transplantation. *Transplantation.* 2008;86(7):1002–5.

55. Debout A, Foucher Y, Trébern-Launay K, Legendre C, Kreis H, Mourad G, i sur. Each additional hour of cold ischemia time significantly increases the risk of graft failure and mortality following renal transplantation. *Kidney Int.* 2014;87(10):343–9.
56. Butala NM, Reese PP, Doshi MD, Parikh CR. Is delayed graft function causally associated with long-term outcomes after kidney transplantation? Instrumental variable analysis. *Transplantation.* 2013;95(8):1008–14.
57. Mallon DH, Summers DM, Bradley JA, Pettigrew GJ. Defining Delayed Graft Function after Renal Transplantation: Simplest Is Best. *Transplantation.* 2013;0(0):1–5.
58. Kayler LK, Srinivas TR, Schold JD. Influence of CIT-induced DGF on kidney transplant outcomes. *Am J Transplant.* 2011;11(12):2657–64.
59. Wu WK, Famure O, Li Y, Kim SJ. Delayed graft function and the risk of acute rejection in the modern era of kidney transplantation. *Kidney Int.* 2015;88(4):851–8.
60. Troppmann C, Gillingham KJ, Benedetti E, Almod PS, Gruessner RWG, Najarian JS MA. Delayed graft function, acute rejection, and outcome after cadaver renal transplantation. *Transplantation.* 1995;59:962–8.
61. Troppmann C, Gillingham KJ, Gruessner RWG, Dunn DL, Payne WD, Najarian JS MA. Delayed graft function in the absence of rejection has no long-term impact: A study of cadaver kidney recipients with good graft function at 1 year after transplantation. *Transplantation.* 1996;61(9):1331–7.
62. Woo YM, Jardine AG, Clark AF, MacGregor MS, Bowman AW, Macpherson SG, i sur. Early graft function and patient survival following cadaveric renal transplantation. *Kidney Int.* 1999;55(2):692–9.
63. Heilman RL, Smith ML, Smith BH, Qaqish I, Khamash H, Singer AL, i sur. Progression of Interstitial Fibrosis during the First Year after Deceased Donor Kidney Transplantation among Patients with and without Delayed Graft Function. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2016; CJN.05060516.
64. Carpenter CB. Immunosuppression in organ transplantation. *N Engl J Med* 1990; 322:1224.
65. Ciancio G, Gaynor JJ, Guerra G, Sageshima J, Chen L, Mattiazzzi A, i sur. Randomized trial of three induction antibodies in kidney transplantation: long-term results. *Transplantation.* 2014;97(0):1128–38.
66. 3C Study Collaborative Group, Haynes R, Harden P, Judge P, Blackwell L, Emberson J, i sur. Alemtuzumab-based induction treatment versus basiliximab-based induction treatment in kidney transplantation (the 3C Study): a randomised trial. *Lancet.* 2014; 384(9955):1684–90.
67. Hanaway MJ, Woodle ES, Mulgaonkar S, Peddi VR, Kaufman DB, First MR, i sur. Alemtuzumab induction in renal transplantation. *N Engl J Med.* 2011;364(20):1909–19.
68. Thomusch O, Wiesener M, Opgenoorth M, Pascher A, Woitas RP, Witzke O, i sur. Rabbit-ATG or basiliximab induction for rapid steroid withdrawal after renal transplantation (Harmony): an open-label, multicentre, randomised controlled trial. *Lancet.* 2016;6736(16):1–11.
69. Hall EC, Engels EA, Pfeiffer RM, Segev DL. Association of antibody induction immunosuppression with cancer after kidney transplantation. *Transplantation* 2015; 99(5):1051-7.
70. Webster AC, Woodroffe RC, Taylor RS, Chapman JR, Craig JC. Tacrolimus versus ciclosporin as primary immunosuppression for kidney transplant recipients: meta-analysis and meta-regression of randomised trial data. *BMJ.* 2005;331(7520):810.

71. Cheung CY, Chan HW, Liu YL, Chau KF, Li CS. Long-term graft function with tacrolimus and cyclosporine in renal transplantation: Paired kidney analysis. *Nephrology*. 2009;14(8):758–63.
72. Ekberg H, Tedesco-Silva H, Halloran PF, Demirbas A, Vítko S, Nashan B, i sur. Reduced exposure to calcineurin inhibitors in renal transplantation. *N Engl J Med*. 2007;357(25):2562–75.
73. Krämer BK, Charpentier B, Bäckman L, Silva HT, Mondragon-Ramirez G, Cassuto-Viguiet E, i sur. Tacrolimus once daily (ADVAGRAF) versus twice daily (PROGRAF) in de novo renal transplantation: A randomized phase III study. *Am J Transplant*. 2010;10(12):2632–43.
74. Guirado L, Cantarell C, Franco A, Huertas EG, Fructuoso AS, Fernández A, i sur. Efficacy and safety of conversion from twice-daily to once-daily tacrolimus in a large cohort of stable kidney transplant recipients. *Am J Transplant*. 2011;11(9):1965–71.
75. Silva HT, Yang HC, Meier-Kriesche H-U, Croy R, Holman J, Fitzsimmons WE, i sur. Long-term follow-up of a phase III clinical trial comparing tacrolimus extended-release/MMF, tacrolimus/MMF, and cyclosporine/MMF in de novo kidney transplant recipients. *Transplantation*. 2014;97(6):636–41.
76. Langer RM, Hen?? R, Vitko S, Christiaans M, Tedesco-Silva H, Ciechanowski K, i sur. Everolimus plus early tacrolimus minimization: A phase III, randomized, open-label, multicentre trial in renal transplantation. *Transpl Int*. 2012;25(5):592–602.
77. Gaston RS, Kaplan B, Shah T, Cibrik D, Shaw LM, Angelis M, et al. Fixed- or controlled-dose mycophenolate mofetil with standard- or reduced-dose calcineurin inhibitors: The optcept trial. *Am J Transplant*. 2009;9(7):1607–19.
78. Ekberg H, Grinyó J, Nashan B, Vanrenterghem Y, Vincenti F, Voulgari A, i sur. Cyclosporine sparing with mycophenolate mofetil, daclizumab and corticosteroids in renal allograft recipients: The CAESAR study. *Am J Transplant*. 2007;7(3):560–70.
79. Alberú J, Pascoe MD, Campistol JM, Schena FP, Rial MDC, Polinsky M, i sur. Lower malignancy rates in renal allograft recipients converted to sirolimus-based, calcineurin inhibitor-free immunotherapy: 24-month results from the CONVERT trial. *Transplantation*. 2011;92(3):303–10.
80. Budde K, Becker T, Arns W, Sommerer C, Reinke P, Eisenberger U, i sur. Everolimus-based, calcineurin-inhibitor-free regimen in recipients of de-novo kidney transplants: An open-label, randomised, controlled trial. *Lancet*. 2011;377(9768):837–47.
81. Bouamar R, Shuker N, Hesselink DA, Weimar W, Ekberg H, Kaplan B, i sur. Tacrolimus predose concentrations do not predict the risk of acute rejection after renal transplantation: A pooled analysis from three randomized-controlled clinical trials. *Am J Transplant*. 2013;13(5):1253–61.
82. Wang X, Qin X, Wang Y, Huang Z, Li X, Zeng Q, i sur. Controlled-Dose Versus Fixed-Dose Mycophenolate Mofetil for Kidney Transplant Recipients : A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. 2013;96(4):361–7.
83. 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. *Trans . Meet Am Surg Assoc*. 2008;126(4):205–20.
84. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Transplant Work Group. Special Issue: KDIGO Clinical Practice Guideline for the Care of Kidney Transplant Recipients. *Am J Transplant*. 2009;9:S1–155.

85. Cantarovich D, Rostaing L, Kamar N, Ducloux D, Saint-Hillier Y, Mourad G, i sur. Early corticosteroid avoidance in kidney transplant recipients receiving ATG-F induction: 5-year actual results of a prospective and randomized study. *Am J Transplant*. 2014;14(11):2556–64.
86. Schena FP, Pascoe MD, Alberu J, del Carmen Rial M, Oberbauer R, Brennan DC, i sur. Conversion from calcineurin inhibitors to sirolimus maintenance therapy in renal allograft recipients: 24-month efficacy and safety results from the CONVERT trial. *Transplantation*. 2009;87(2):233–42.
87. Weir MR, Mulgaonkar S, Chan L, Shidban H, Waid TH, Preston D, i sur. Mycophenolate mofetil-based immunosuppression with sirolimus in renal transplantation: a randomized, controlled Spare-the-Nephron trial. *Kidney Int*. 2010;79:897–907.
88. Budde K, Lehner F, Sommerer C, Reinke P, Arns W, Eisenberger U, i sur. Five-year outcomes in kidney transplant patients converted from cyclosporine to everolimus: The randomized ZEUS study. *Am J Transplant*. 2015;15(1):119–28.
89. Lim WH, Eris J, Kanellis J, Pussell B, Wiid Z, Witcombe D, i sur. A systematic review of conversion from calcineurin inhibitor to mammalian target of rapamycin inhibitors for maintenance immunosuppression in kidney transplant recipients. *Am J Transplant*. 2014;14(9):2106–19.
90. Vincenti F, Charpentier B, Vanrenterghem Y, Rostaing L, Bresnahan B, Darji P, Massari P, Mondragon-Ramirez GA, Agarwal M, Di Russo G, Lin CS, Garg P LC. A phase III study of belatacept-based immunosuppression regimens versus cyclosporine in renal transplant recipients (BENEFIT study). *Am J Transplant*. 2010;10(3):535.
91. Vincenti F, Rostaing L, Grinyo J, Rice K, Steinberg S, Gaithe L, i sur. Belatacept and Long-Term Outcomes in Kidney Transplantation. *N Engl J Med*. 2016;374(4):333–43.
92. Durrbach A, Pestana JM, Pearson T, Vincenti F, Garcia VD, Campistol J, i sur. A phase III study of belatacept versus cyclosporine in kidney transplants from extended criteria donors (BENEFIT-EXT Study). *Am J Transplant*. 2010;10(3):547–57.
93. Pestana JOM, Grinyo JM, Vanrenterghem Y, Becker T, Campistol JM, Florman S, i sur. Three-year outcomes from BENEFIT-EXT: A phase III study of belatacept versus cyclosporine in recipients of extended criteria donor kidneys. *Am J Transplant*. 2012;12(3):630–9.
94. Schwartz RS, Nankivell BJ, Alexander SI. Rejection of the Kidney Allograft. *N Engl J Med*. 2010;363(15):1451–62.
95. Loupy A, Haas M, Solez K, Racusen L, Glotz D, Seron D, i sur The Banff 2015 Kidney meeting report: Current challenges in rejection classification and prospects for adopting molecular pathology. *Am J Transplant*. 2016;
96. Wiebe C, Gibson IW, Blydt-Hansen TD, Pochinco D, Birk PE, Ho J, i sur. Rates and determinants of progression to graft failure in kidney allograft recipients with de novo donor-specific antibody. *Am J Transplant*. 2015;15(11):2921–30.
97. Loupy A, Lefaucheur C, Vernerey D, Prugger C, van Huyen J-PD, Mooney N, i sur. Complement-Binding Anti-HLA Antibodies and Kidney-Allograft Survival. *N Engl J Med*. 2013;369(13):1215–26.
98. Yamamoto T, Watarai Y, Takeda A, Tsujita M, Hiramitsu T, Goto N, i sur. De Novo Anti-HLA DSA Characteristics and Subclinical Antibody-Mediated Kidney Allograft Injury. *Transplantation*. 2015;0(0):1.
99. Dragun D, Müller DN, Bräsen JH, Fritsche L, Nieminen-Kelhä M, Dechend R, i sur. Angiotensin II type 1-receptor activating antibodies in renal-allograft rejection. *N Engl J Med*. 2005;352(6):558–69.

100. Van Den Hoogen MWF, Hesselink DA, Van Son WJ, Weimar W, Hilbrands LB. Treatment of steroid-resistant acute renal allograft rejection with alemtuzumab. *Am J Transplant.* 2013;13(1):192–6.
101. Gupta G, Abu Jawdeh BG, Racusen LC, Bhasin B, Arend LJ, Trollinger B, i sur. Late Antibody-Mediated Rejection in Renal Allografts. *Transplant J.* 2014;0(0):1.
102. Sis B, Campbell PM, Mueller T, Hunter C, Cockfield SM, Cruz J, i sur. Transplant Glomerulopathy, Late Antibody-Mediated Rejection and the ABCD Tetrad in Kidney Allograft. 2007;1743–52.
103. Kahwaji J, Najjar R, Kancherla D, Villicana R, Peng A, Jordan S, i sur.. Histopathologic features of transplant glomerulopathy associated with response to therapy with intravenous immune globulin and rituximab. *Clin Transplant.* 2014;28(5):546–53.
104. Eskandary F, Wahrmann M, Mühlbacher J, Böhmig GA. Complement inhibition as potential new therapy for antibody-mediated rejection. *Transpl Int.* 2016;29(4):392–402.
105. Cornell LD, Schinstock CA, Gandhi MJ, Kremers WK, Stegall MD. Positive crossmatch kidney transplant recipients treated with eculizumab: Outcomes beyond 1 year. *Am J Transplant.* 2015;15(5):1293–302.
106. Kumbala D, Zhang R. Essential concept of transplant immunology for clinical practice. *World J Transplant.* 2013;3(4):113–8.
107. Filippone EJ, Farber JL. Humoral Immune Response and Allograft Function in Kidney Transplantation. *Am J Kidney Dis.* 2015;66(2):337–47.
108. Zhang R. Donor-Specific Antibodies in Kidney Transplant Recipients. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2017;CJN.00700117.
109. Terasaki PI, Ozawa M. Predicting Kidney Graft Failure by HLA Antibodies: A Prospective Trial. *Am J Transplant.* 2004;4(3):438–43.
110. Nankivell BJ, Kuypers DR. Diagnosis and prevention of chronic kidney allograft loss. *Lancet.* 2011 ;378(9800):1428–37.
111. Wiebe C, Gibson IW, Blydt-Hansen TD, Karpinski M, Ho J, Storsley LJ, i sur.. Evolution and clinical pathologic correlations of de novo donor-specific HLA antibody post kidney transplant. *Am J Transplant.* 2012;12(5):1157–67.
112. Tait BD, Süsal C, Gebel HM, Nickerson PW, Zachary A a, Claas FHJ, i sur. Consensus guidelines on the testing and clinical management issues associated with HLA and non-HLA antibodies in transplantation. *Transplantation.* 2013;95(1).
113. Lefaucheur C, Viglietti D, Mangiola M, Loupy A, Zeevi A. From Humoral Theory to Performant Risk Stratification in Kidney Transplantation. *J Immunol Res.* 2017;2017.
114. Hart A, Smith JM, Skeans MA, Gustafson SK, Stewart DE, Cherikh WS, i sur. OPTN/SRTR 2015 Annual Data Report: Kidney. *Am J Transplant.* 2017;17(Suppl 1):21–116.
115. Mengel M. Deconstructing interstitial fibrosis and tubular atrophy: a step toward precision medicine in renal transplantation. *Kidney Int.* 2017;17(3):1143–50.
116. Park WD, Griffin MD, Cornell LD, Cosio FG, Stegall MD. Fibrosis with Inflammation at One Year Predicts Transplant Functional Decline. *J Am Soc Nephrol.* 2010;21(11):1987–97.
117. Mannon RB, Matas AJ, Grande J, Leduc R, Connett J, Kasiske B, i sur. Biopsies : A Potent Predictor of Allograft Failure. 2011;10(9):2066–73.
118. Gosset C, Viglietti D, Rabant M, Vérine J, Aubert O, Glotz D, i sur. Circulating donor-specific anti-HLA antibodies are a major factor in premature and accelerated allograft fibrosis. *Kidney Int.* 2016;729–42.

119. Oberbauer R. Progression of Interstitial Fibrosis in Kidney transplantation. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2016;11(12):2110–2.
120. Meng X, Nikolic-Paterson DJ, Lan HY. TGF- β : the master regulator of fibrosis. *Nat Rev Nephrol*. 2016;12(6):325–38.
121. Ishani A, Xue JL, Himmelfarb J, Eggers PW, Kimmel PL, Molitoris BA, i sur. Acute kidney injury increases risk of ESRD among elderly. *J Am Soc Nephrol*. 2009;20(1):223–8.
122. Lo LJ, Go AS, Chertow GM, McCulloch CE, Fan D, Ordoñez JD HC. Dialysis-requiring acute renal failure increases the risk of progressive chronic kidney disease Lowell. *Kidney Int*. 2009;76(8):893–9.
123. Yang L, Besschetnova TY, Brooks CR, Shah JV BJ. Epithelial cell cycle arrest in G2/M mediates kidney fibrosis after injury. *Nat Rev Nephrol*. 2010;16:535–43.
124. Venner JM, Famulski KS, Reeve J, Chang J, Halloran PF. Relationships among injury, fibrosis, and time in human kidney transplants. *JCI insight*. 2016;1(1):e85323.
125. Heilman RL, Devarapalli Y, Chakkerla HA, Mekeel KL, Moss AA, Mulligan DC, i sur. Impact of subclinical inflammation on the development of interstitial fibrosis and tubular atrophy in kidney transplant recipients. *Am J Transplant*. 2010;10(3):563–70.
126. Mihovilovic K, Maksimovic B, Kocman B, Gustin D, Vidas Z, Bulimbasic S, i sur. Effect of mycophenolate mofetil on progression of interstitial fibrosis and tubular atrophy after kidney transplantation: a retrospective study. *BMJ Open*. 2014;4(7):e005005.
127. Nankivell BJ, P'Ng CH, O'Connell PJ, Chapman JR, P'Ng CH, O'Connell PJ, i sur. Calcineurin Inhibitor Nephrotoxicity Through the Lens of Longitudinal Histology. *Transplantation*. 2016;0(0):1.
128. Shoskes DA CJ. Deleterious effects of delayed graft function in cadaveric renal transplant recipients independent of acute rejection. *Transplantation*. 1998;66:1697.
129. Ojo AO, Wolfe RA, Held PJ i sur. Delayed graft function: risk factors and implications for renal allograft survival. *Transplantation*. 1997;63:968.
130. Tapiawala SN, Tinckam KJ, Cardella CJ, Schiff J, Cattran DC, Cole EH, i sur.. Delayed graft function and the risk for death with a functioning graft. *J Am Soc Nephrol*. 2010;21(1):153–61.
131. Marcen R, Orofino L, Pascual J i sur. Delayed graft function does not reduce the survival of renal transplant allografts. *Transplantation*. 1998;66:461.

—
—

ŽIVOTOPIS

Rođena sam 1975. godine u Šibeniku. Srednju školu završavam 1993. u Splitu sa odličnim uspjehom. Iste godine odlazim u Francusku gdje upisujem Université Catholique u Lyonu gdje uspješno završavam dva stupnja francuskog jezika uz dobivanje diplome DELF (Diplôme d'études en langue française). Potom upisujem prvu godinu na Medicinskom fakultetu Lyon Nord u Lyonu, no zbog osobnih preferencija ipak nastavljam Medicinski fakultet u Zagreb od 1995. Diplomirala sam 2001. godine te nakon toga, 2002. polažem Državni ispit. Od 2003. do 2004. godine sam provela u svojstvu volontera na KBC Zagreb, u Klinici za internu medicinu, Zavod za hematologiju, a potom od 2004. nastavljam edukaciju na Sveučilišnoj Klinici Vuk Vrhovac, a od 2006. do 2010. obavljam specijalizaciju iz Interne medicine u KB Merkur. U svibnju 2010. polažem specijalistički ispit te 2011. prelazim na Zavod za nefrologiju KB Merkur. Godine 2013. polažem ispit iz uže specijalizacije – nefrologije. Dio edukacije sam provela u New York Presbyterian Hospital, Columbia University Medical Center, usavršavajući se u užem području transplantacijske i klasične nefrologije.

Autor i koautor sam 6 CC radova, 1 poglavlja u udžbeniku te više sažetaka prihvaćenih na hrvatskim i stranim kongresima. Od 2012. sam u suradničkom zvanju naslovnog asistenta u Katedri za internu medicinu. Poslijediplomski studij Biomedicina i zdravstvo završavam 2013. Član sam hrvatskog društva za nefrologiju i dijalizu te američkog nefrološkog društva.