



**Универзитет Св. Кирил и Методиј- Скопје
Медицински Факултет
Универзитетска клиника за нефрологија**

**КЛИНИЧКОТО ЗНАЧЕЊЕ НА НОВОСОЗДАДЕНИТЕ
АНТИ-ХЛА-АНТИТЕЛА ВРЗ ФУНКЦИЈАТА И
ХИСТОМОРФОЛОГИЈАТА НА ГРАФТОТ КАЈ ПАЦИЕНТИ
СО ТРАНСПЛАНТИРАН БУБРЕГ**

Докторска дисертација

**Ментор:
Проф Д-р Кочо Чакалароски**

**Кандидат:
Асс. Д-р. Галина Северова-Андреевска**

Скопје, Октомври, 2018 година

СОДРЖИНА

Легенда за кратенки	4
Резиме	6
1. ВОВЕД	
1.1. Поим за трансплантациона медицина и трансплантација на бубрег.....	10
1.2. Трансплантација на бубрег – историски аспект.....	11
1.3. Трансплантација на бубрег во Република Македонија.....	12
1.4. Имунобиологија на отфрлањето.....	14
1.5. Целуларно отфрлање.....	15
1.6. Хуморално отфрлање.....	15
1.7. Мешано отфрлање (mixed rejection).....	16
1.8. Донор специфични и донор неспецифични анти-ХЛА- антитела.....	16
1.9. Клинички аспекти на отфрлањето.....	17
1.10. Хистоморфологија на отфрлањето - Банфф концепт.....	18
1.11. Дијагностички и терапевтски предизвици на хуморалното отфрлање.....	19
1.12. Имуносупресија.....	20
2. МОТИВ И ЦЕЛИ	23
2.1. Примарна цел.....	23
2.2. Секундарни цели.....	23
3. ТИП И ДИЗАЈН НА СТУДИЈАТА	24
3.1. Првата фаза.....	24
3.2. Втора фаза.....	24
3.3. Трета фаза.....	25
4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ	26
4.1. Испитувана популација.....	26
4.2. Хируршки третман.....	26
4.3. Имунолошки ризик.....	27
4.4. Евалуација на трансплантираниот бубрег.....	27
4.5. Имуносупресивни протоколи.....	28
4.6. Анти-ХЛА-антитела: методологија на детектирање.....	29
4.7. Протокол биопсија на графтоот 12 месеци после трасплантација.....	29
4.7.1. Хистоморфолошки промени – класификација според Банфф 2013 година.....	30
4.8. Клиничко следење и лабораторија.....	34
4.9. Статистички методи.....	35
5. РЕЗУЛТАТИ	36
5.1. ДЕМОГРАФСКИ КАРАКТЕРИСТИКИ	36
5.1.1. Демографски карактеристики на сите испитаници.....	36
5.1.2. Демографски карактеристики на сите дарители на бубрег.....	37
5.1.3. Карактеристики за факторите кои можат да влијаат на сензибилизацијата и продукцијата на анти-ХЛА- антителата.....	38

5.2. Дескриптивна статистика	39
5.2.1. Дескриптивна статистика на анти-ХЛА-антителата	39
5.2.2. Дескриптивна статистика на патохистолошките промени на трансплантираниот бубрегот.....	44
5.3. Анализа на наодите во однос на анти-ХЛА-антителата и показателите на функцијата на трансплантираниот бубрег	49
5.3.1. Анализа на наодите во однос на присуството на анти- ХЛА- антитела	49
5.3.1.a. Анализа на параметрите на функцијата на графтот на 1,12 и 24 месеци од трансплантацијата и анти ХЛА антителата	49
5.3.1.b. Анализа на ХЛА + и ХЛА- групи на 12 и 24 месеци од трансплантацијата	50
5.3.2. Анализа на наодот од патохистолошката процена и категоризација по Банфф класификацијата	51
5.3.3. Анализа во однос на наодите за серумскиот креатинин	52
5.3.4. Анализа на наодите во однос на гломеруларната филтрациона рата	54
5.3.5. Анализа на наодите во однос на 24ч протеинурија	57
5.4. Анализа на фактори на предикција	61
5.4.1. Регресиона анализа за зависна варијабла сКр	61
5.4.2. Регресиона анализа за зависна варијабла 24ч протеинурија	62
5.4.3. Регресиона анализа за зависна варијабла ГФР	64
5.4.4. Логистична регресиона анализа за зависна варијабла Банфф класификација	65
6. ДИСКУСИЈА	68
6.1. Анти ХЛА антитела и функција на графтот	68
6.1.1. Серумски креатинин	68
6.1.2. Стапка на гломеруларната филтрација	69
6.2. Протеинурија	71
6.3. Анти-ХЛА-антитела и имуносупресија	73
6.3.1. Анти-ХЛА-антитела и калцинеурински инхибитори (Такролимус и Циклоспорин)	73
6.3.2. Анти-ХЛА-антитела и индукциона терапија	75
6.3.3. Анти-ХЛА-антитела и хистопатологија на графтот	77
6.4. Регресиони анализи, зависност и предикција	80
6.4.1. Анализирани варијабла - Креатинин	80
6.4.2. Анализирани варијабла протеинурија	81
6.4.3. Анализирани варијабла ГФР	81
6.4.4. Логистична регресиона анализа за зависна варијабла Банфф класификација	81
7. ЗАКЛУЧОК	83
8. ЛИТЕРАТУРА	84

Легенда за кратенки

КРАТЕНКА	ОБЈАСНУВАЊЕ
МНС	Мајорен Комплекс на Хистокомпатибилност
ХЛА	Хуман Леукоцитен Антиген
ИгГ	Имуно глобулин Г
ДСА	Донор специфични антители
Banff	Класификација на хистопатолошките промени на графтотенка
CNI	Калци неурински инхибитори
MFI/MFI	Mean fluorescence intensity/ среден интензитет на флуоресценција
ЦМВ	Цито мегало вирус
АТГ	Анти- тимоцитен глобулин
ТТ	Телесна тежина
mmHg	Милиметри живин столб
KDIGO	Kidney Disease: Improving Global Outcomes/ Бубрежни заболувања: Подобрување на вкупниот исход
EBPG	European Best Practice Guidelines / Европски препораки за добра пракса
ХЛА-А	Хуман Леукоцитен Антиген- А
ХЛА-Б	Хуман Леукоцитен Антиген- Б
ХЛА-ДР	Хуман Леукоцитен Антиген- ДР
CDC	complement-dependent cytotoxicity crossmatch/ Комплемент зависка цитотоксична врстена проба
μmol/l	Микромоли/литар
ГФР	Гломеруларна филтрациона рата
MDRD	Modification of Diet in Renal Disease / Модификација на диетата кај бубрежни заболувања
КТ ангиографија	Компјутеризината ангиографија
МРИ	Магнетна резонанца
Ivlg	Интавенозен имуноглобулин
BTS	British Transplantation Society
ng/mL	Нанограми/милилитар
MICA/MIKA	MHC class I polypeptide-related sequence A/ МХЦ класа 1 секвенца А ослободена од полипептид.
SAB/SAB	single antigen beads/ единечни антигени
графт	Трансплантиран бубрег
ABMR/ABMR	Antibody mediated rejection/ Со антители посредувано отфрлање
cg Banff	бодување за хронична гломерулопатија
ЕМ	електронска микроскопија
ENDAT	endothelial activation and injury transcript/ ендотелна активација и оштетување на транскриптит
g Banff	бодување на гломерулитис
ГБМ	гломеруларна базална мембрана
ИФ	имунофлуоресценција
ИХХ	имунохистохемија

ptc	перитубуларни капилари
TСMR/TСMR	T cell mediated rejection/ Т клеточно посредувано отфрлање
v Banff	бодување на артеритис
ИТМ	Индекс на телесна маса
сКр	Серумски креатинин
С3	Комплемент 3
С3 (г)	Комплемент 3 во гломерули
С3 (к)	Комплемент 3 во крвни садови
С3 (т)	Комплемент 3 во тубули
С3 (и)	Комплемент 3 во интерстициум
ИФ	Интерстицијална фиброза
ТА	Тубуларна атрофија
BL/BL	Border line/ гранични промени
DGF/DGF	Delayed graft function/одложена функција на графто
СО	Споро опоравување
Хроничен ГН	хроничен гломерулонефрит
ФСГН	Фокално сегментен гломерулонефрит
МПГН	Мезангиопролиферативен гломерулонефрит
РПГН	Рapidно прогресивен гломерулонефрит
МН	Мембранозна нефропатија
АПББ	Адултна полицистична бубрежна болест
Калкулозен ИПН	калкулозен интерстициопиелонефрит
ДМ тип 1	Дијабетес мелитус тип 1
НаС	Нефроартериолосклероза
ВУР	Везикоуретерален рефлукс
СЛЕ	Системски лупус еритематодес
ИФ	Интерстицијална фиброза

РЕЗИМЕ

Трансплантацијата претсавува еден од најдобрите модалитети за лекување на хроничната бубрежна болест. Со ХЛА типизацијата и определувањето на анти –ХЛА-антителата се отвори нова ера во трансплантологијата. Анти-ХЛА-антителата може да бидат директно насочени кон клетките на дарителот т.н. “донор специфични анти-ХЛА-антитела” (ДСА) и да предизвикаат деструкција и отфрлање на пресадениот орган. Постојат и други антитела кои не се ДСА и можат да бидат потенцијално опасни. Ова нивно дејствување предизвикува оштетување на ткивото на бубрегот, кое се класифицира според Banff класификација во 6 категории. Категоријата 2 се однесува на отфрлање предизвикано со антитела (АБМР). Клинички може да се манифестира со пораст на серумскиот креатинин, 24ч протеинурија и намалување на гломеруларната филтрациона рата (ГФР). Но, може да биде и т.н. “тивко” без значајни пореметувања во параметрите на функцијата на пресадениот бубрег. Втората манифестација, беше мотив да се изработи оваа тема.

Материјал и методи: Беа вклучени 51 пациент, со пресаден бубрег, со низок до умерен имунолошки ризик и недетектибилни анти-ХЛА-антитела пред трансплантацијата. Следени 24 месеци , амбулантски според препораките за следење на трансплантирани болни. Кај сите испитаници, беше применет стандарден четворен протокол: индукциона терапија АТГ или Базиликсимаб и терапија на одржување (кортикостероид, калцинеурински инхибитор и антипролиферативни лекови). Анти-ХЛА-антителата беа определувани на 1,12 и 24 месеци од трансплантација со методата на Луминекс, за Класа I, II и МИКА, изразени со МФИ (среден интензитет на флуоресценција) . На 12 месеци од трансплантацијата беше направена биопсија на бубрегот. Ткивото беше анализирано со имунофлуоресцентна и патохистолока процена, која опфати класификација по опреснета Banff 2013. Серумскиот креатинин (сКр), гломеруларната филтрациона рата (ГФР) и 24ч протеинурија беа следени како маркери на бубрежната функција. За обработка на податоците користевме стандардна СПСС програма.

Резултати: На 12 месеци од трансплантацијата, кај 17 (19.60%) пациенти имаа детектирани анти-ХЛА-антитела. Од нив 8 (15.68%) кон Класата I, 6 (11.76%) кон Класата II I 3 (5.88%) кон Класата I и II. Медијаната од средните МФИ за антителата беше за Класа I 3228.30 ранг (876.34- 5400.23), а за Класа II 3139.31 ранг (983.26- 8979.51). Испитаниците ги поделивме во две групи ХЛА + / ХЛА – (17/34 пациент) . Групите се разликуваа во вредностите за сКр (<109 и >109, p=

0,016) и 24ч протеинурија (<0,07 и >0,07, $p= 0,01$) и видот на калцинеурински инхибитор (Цикоспорин/Такролимус, $p= 0,042$). Кај 16 пациенти беше најдена АБМР, од кои една чиста, а останатите во мешавина со другите класи. Поданализата на патохистолошките наоди во однос на присуството на анти-ХЛА-антитела покажа значајна разлика во присуството на анти-ХЛА-антитела кај пациентите со АБМР и оние без промени ($p= 0,042$). Кај 11 пациенти, постоеше влошување на функцијата на графотот, а кај 6 клинички манифестирано отфрлање, третирано соодветно. Со линеарните регресиони анализи, како предиктивни фактори за сКр се издвоија ДСА и спорото опоравување (СО) на графотот после трансплантацијата ($p= 0,001$, $p=0,000$), а за 24ч протеинурија само присуството на ДСА ($p= 0,035$). Логистичката регресиона анализа за предиктивни фактори на патохистолошките промени го издвои МФИ на антителата > 2500 ($p= 0,039$)

Заклучок: Појавата и детектирањето на анти-ХЛА-антителата, кај нашите испитаници покажа клиничка поврзаност со функцијата на трансплантираниот бубрег, преку серумскиот креатинин и 24ч протеинурија. Нивната сила т.е. МФИ, покажа поврзаност со Banff категоријата 2 за АБМР иако таа беше застапена во мешавина со други категории. Податокот дека 5 од пациентите со АБМР, немаа влошување на функцијата на бубрегот, укажува на можноста од т.н. “тиво” отфрлање. Присуството на ДСА, спорото опоравување на бубрегот после трансплантација и МФИ, на антителата > 2500 претставуваат значаен предиктивен фактор за функцијата на бубрегот.

ABSTRACT

Transplantation is one of the best modalities for the treatment of chronic renal disease. With HLA typing and the determination of anti HLA antibodies, a new era in transplantology has opened up. Anti HLA antibodies can be directly targeted to the donor cells, the so-called "Donor-specific anti-HLA antibodies" (DSA) and cause destruction and rejection of the transplanted organ. There are other antibodies that are not DSA and can be potentially dangerous. This action causes damage to the kidney tissue, which is classified according to the Banff classification in 6 categories. Category 2 refers to antibody-related rejection (ABMR). Clinically, a rise in serum creatinine, 24 h proteinuria, and a decrease in glomerular filtration rate (GFR) can be clinically manifest. But it can also be so "Quiet" without significant disorders in the parameters of the function of the kidney. The second event was an incentive to elaborate this theme.

Material and Methods: 51 patients, with a kidney transplant, with low to moderate immune risks, and non-detectable anti-HLA antibodies prior to transplantation were included. Follow-up 24 months, ambulatory according to the recommendations for monitoring transplanted patients. In all subjects, standard quadruple flow was applied: induction therapy ATG or basiliximab and maintenance therapy (corticosteroid, calcineurin inhibitor and antiproliferative drugs). Anti HLA antibodies were determined at 1.12 and 24 months of transfusion with the Luminex method for Class I, II and MICA, expressed by MFI (mean fluorescence intensity). At 12 months of the transplant, a kidney biopsy was made. The tissue was analyzed by immunofluorescence and pathohistocellular assessment, which included a classification according to the faded Banff 2013. Serum creatinine (SCr), glomerular filtration rate (GFR) and 24h proteinuria were monitored as markers of renal function. We used a standard SPS program for data processing.

Results: In 12 months of transplantation, in 17 (19.60%) patients had detected anti HLA antibodies. Of all, 8 (15.68%) to Class I, 6 (11.76%) to Class II and 3 (5.88%) mixed Class I and II. The median of the average MFI for antibodies was for Class I 3228.30 ranking (876.34- 5400.23), and for Class II 3139.31 rank (983.26- 8979.51). The subjects were divided into two groups of HLA + / HLA - (17/34 patient). The groups differed in the values for sCr (<109 and > 109, $p = 0.016$), 24 h proteinuria (<0.07 and > 0.07, $p = 0.01$) and tipe of calcineurin inhibitor (Cyclosporin/Tacrolimus, $p = 0,042$). In 16 patients, ABMR was found, one of which was pure and the rest were mixed with other classes. Substitution of pathohistological findings regarding the onset of anti HLA antibodies showed a significant difference in the presence of anti HLA antibodies in patients with ABMR and those without change ($p = 0.042$). In 11 patients, there was a

worsening of the graft function, and in 6 clinically manifested rejections, treated appropriately. With linear regression analysis, the predictive factors for sCr isolated the DSA and slow graft recovery after transplantation ($p = 0.001$, $p = 0.000$), and for 24 hours proteinuria only the presence of DSA ($p = 0.035$). The logistic regression analysis for predictive factors in pathohistological changes identified the MFI of the antibodies > 2500 ($p = 0.039$)

1. ВОВЕД

1.1. Поим за трансплантационна медицина и трансплантација на бубрег

Бубрежната трансплантација е убедливо најдобар метод на лекување на Хроничната бубрежна болест. Напредокот на хируршката техника, новите сознанија во трансплантационата имунологија како наука и прогресот во имunosупресијата придонесоа трансплантацијата да се смета и за целосно излекување на болниот. Ова не се однесува само за пресадувањето на бубрези туку и на речиси сите солидни органи како што се срце, бел дроб, панкреас, црн дроб, тенко црево. Минатата година беше извршено породување на успешно пресадена матка. Тука треба да се споменат и се посупешните пресадувања на ткива како што е коскената срцевина и Лангерхансовите островца од панкреасот. Последната половина од минатиот век и почетокот на овој век со право може да се нарече вистинска експлозија и процвет на трансплантационата медицина во светот. Во светот годишно се прават повеќе од 80.000 трансплантациони зафати а болните со пресадени органи живеат без посериозен проблем со децении. Но и покрај тоа денес во светот постои огромна потреба од органи на кои чекаат многу болни со терминални хронични болести. Според официјалните регистри како што се US Network Sharing, Eurotransplant и други во светот умираат болните на секој 30 минути чекајќи орган.(1,2) Онаму каде тоа може да биде орган од жив дарител болните обично не чекаат. Но доколку таков нема, тогаш единствена шанса е да се добие орган од починато лице. Но трансплантацијата на органи од починато лице, иако технички совладана во многу делови во светот каде има развиена медицина, е пред сè проблем на организација на трансплантационата служба во секоја земја. Постапката за земање органи од починато лице има свои легални, медицински но и етички предизвици и е различно уредена во земјите каде истата се изведува. Високо развиените земји како што се оние во Западна Европа, САД, Австралија и Канада имаат солидна “жетва“ на органи и покрај тоа што се сепак далеку од вистинските потреби.(3,4) Вообичаени пречки на кои наидуваат координаторите задолжени околу постапката за починатото лице се врзани за отпорот што го пружаат блиските роднини на умрениот кои често пати не дозволуваат да се продолжи постапката на дарување на толку потребните органи. Причините на ваквиот отпор можат да бидат од различна генеза, од ниско ниво на едукација на граѓаните се до длабоко религиозни причини како што се еврејската заедница,

земјите на далечниот исток, некои муслимански земји каде што доминира исламот како основа на целото општество. Развиените земји воведуваат такви закони кои се обидуваат да ја почитуваат волјата на починатиот кој треба да пројави писмена согласност дека не се согласува да ги подари органите после својата смрт. Во спротивно, доколку таа писмена белешка ја нема, тогаш сите граѓани се потенцијални дарители на органи после смртта. Според современата легислатива, на оваа постапка не можат да влијаат блиските роднини на починатиот. Но, легислативата некогаш не е во состојба се да реши, особено онаму каде сеуште постојат етички и емотивни моменти. Така во повеќето европски земји и покрај тоа што законски лекарите можат да ги извадат органите, тие сепак уредно бараат согласност од семејствата. Така развиените земји денес развиваат широка мрежа на таканаречени координатори кои директно стапуваат во контакт со фамилиите и успеваат сепак да ја добијат потребната согласност.

1.2. Трансплантација на бубрег – историски аспекти

И покрај тоа што постоеле смели обиди се од почетокот на 20 век да се пресади бубрег во телото на уремичниот болен, сепак првиот обид во клиничката медицина е направен во болницата Некер во Париз во 1954 година кога по траума на солитарниот бубрег на еден матурант, неговата мајка пројавила желба да го подари својот бубрег. Во болницата токму во тоа време се создала група на извонредни поединци, интернисти, хирурзи и имунолози кои го прифатиле предлогот на мајката. Првата трансплантација е направена со хируршка техника која со мали измени се применува се до ден денешен. Графтот профункционирал веднаш и бил во добра состојба се до 15 ден кога престанал да мокри. Во услови на лимитирано знаење од трансплантационата имунологија и недостатокот на било каква имуносупресивна терапија, графтот морал да биде отфрлен. Првиот успешен обид за трансплантација на бубрег се случил 1954 година во Бостон, кога дарител на бубрег е брат еднојајчан близнак. Со оглед на тоа што се работело за близнаци, тогаш и графтот се однесувал неутрално преживувајќи повеќе години. Интервенцијата ја извеле Joseph Murray и John Merrill, заради што се промовирани во лауреати на Нобеловата награда. (5,6) Во 1959 година е изведена првата трансплантација во Европа, исто така во болницата Некер, овој пат успешна. Првите успешни трансплантации на бубрег отворија сосема нова и величествена страница на современата медицина. Новите сознанија околу ХЛА системот и неговото значење значија вовед и во трансплантационата имунологија и во

контрола на имуната реакција. ХЛА системот стана доминантен во декланширање на отфрлањето на графтоот како процес. (7) Творецот на овој систем Жан Досе подоцна ќе ја добие исто така Нобеловата награда. Уводот во трансплантационата имунологија автоматски значеше дека се потребни дополнителни средства и лекови кои ќе бидат во состојба да ја контролираат реакцијата на отфрлање. Така постепено се воведоа имуносупресивните средства пред се стероидите но подоцна и некои видови на антиметаболити како што е азатиопринот. (8) Дури подоцна во 90 години од минатиот век се воведоа и првиот калцинеурински инхибитор (CNI), Циклоспоринот, кој како дел од сега тројната терапија заедно со стероидите и азатиопринот беше во состојба успешно да ја контролира реакцијата на отфрлање а со тоа да овозможи долго преживување на графтоот и болниот. (9) Во последните години од минатиот век и почетокот на 21 век дојде до вистинска експлозија на нови научни сознанија околу медицинските и терапевтските аспекти на бубрежната трансплантација со продор на многу нови лекови со редицирани нуз ефекти и поголема делотворност.

1.3. Трансплантација на бубрег во Република Македонија

Првите две трансплантации на бубрег во Република Македонија се направени во далечната 1977 година кога на два пациенти од Косово им се пресадени бубрези од жив дарител. Во интервенцијата учествуваа респектабилни тимови на нефролози и уролози под надзор на хируршки тим од Клиничкиот центар во Риека. Шест години подоцна е направена уште една трансплантација од жив дарител и следната година и првата трансплантација од починато лице. И покрај тоа што трансплантационата активност во тоа време е спорадична и со резултати кои се далеку од добри, сепак тоа се смета за џиновски пионерски чекор кои сега претставува рутинска операција и постапка. Првата редовна и модерна трансплантација на бубрег започнува во 1987 после враќањето од специјализација на првиот автентичен македонски тим кој во периодот од 18 месеци направи вкупно 22 трансплантации од починат дарител. Освен тоа 5 бубрега испрати во Белград, еден во Загреб и еден во Љубљана.(10,11) Заради трагичниот крај на поранешната земја и воспоставување на новата власт во независната држава, актуелниот трансплантационски тим се сврте кон трансплантацијата од жив дарител која се изведува до ден денешен. Од 1987 па се до денес поранешниот и актуелниот тим изведува редовно и континуирано трансплантации на бубрег така што денес таа бројка приближува до бројка од 400

изведени трансплантации. И покрај тоа што долг период трансплантацијата беше од жив дарител, таа сепак се развива и унапредува внесувајќи нови техники и протоколи со што драстично се подобри преживувањето на графотот и пациентот. До значајни новини дојде прво во изборот на живите дарители. Тимот разви своја доктрина за користење на постари дарители дури и во напредната возраст. Во тој период тоа беше вистинска новост и во пошироки размери затоа што важеше правилото дека максимална возраст на дарител на бубрег не смее да биде поголема од 55 години. Продолжувајќи го тој лимит, македонскиот тим успеа да го прошири донорскиот пул вклучувајќи дарители до 80 години кои имаа добри и здрави бубрези. (12,13) Позитивните искуства набргу беа пренесени и во останатите земји така што користењето на дарители во напредната возраст денес е рутина во многу центри во светот. Исто така се одбележување се и позитивните искуства во користење на таканаречените несродни живи дарители на бубрег кои во регуларна употреба се од 1998 година кога за прв пат е направена несродна трансплантација при што дарител беше девер а реципиент неговата снаа за брат. Подоцна, согласно европската регулатива, се направија повеќе трансплантации од жив несроден дарител при што како дарители беа прифаќани членови на семејството кои не се во крвно сродство. (14, 15) Се разбира дека одлуките за несродна трансплантација мораа да бидат поткрепени со соодветно мислење од етичка комисија или од квалификуван психолог или психијатар. На овој начин и натаму се прошири донорскиот пул и се овозможи непречена работа на единствениот трансплантационен центар во државата.

За одбележување е и АБО инкомпатибилната трансплантација при што за прв пат е користен АБО инкомпатибилен жив дарител. Процедурата подразбираше воведување на таканаречено прекондиционирање при што во прв акт се пристапи кон лапароскопска спленектомија. Согласно титарот на изоаглутинации во серумот на болниот се спроведуваа редовни плазмаферези се додејка соодветниот титар на анти А или анти Б изоаглутинации не падна под титарот 1/8. Отприлика еден месец пред трансплантацијата кај сите реципиенти на АБО инкомпатибилна трансплантација се администрира Ритуксимаб како моќно моноклонално анти Б антители. Имуносупресијата предвидуваше и употреба на интравенозен поликлонален имуноглобулин (IVIg) непосредно пред трансплантацијата. По потреба неколку повторувани плазмаферези се изведуваа и после изведената трансплантација. Искуствата се воглавно позитивни и оваа процедура е денес прифатена како една од алтернативите за болните кои немаат компатибилен жив дарител. (16, 17)

Иако бројката не е импозантна како бројка, сепак согласно објавените

искуства, може да се заклучи дека трансплантацијата на бубрег во земјата е една успешна приказна која треба со сите сили да се продолжи понатаму. И тоа да не се ограничи само на трансплантацијата на бубрег туку да се воведат и регуларни трансплантации на други органи и ткива со што ќе се подигне квалитетот на здравството и здравствената заштита во Република Македонија.

1.4 Имунобиологија на отфрлање

И покрај несомнените успеси во доменот на трансплантација на бубрези, отфрлањето на органот од страна на имунолошкиот систем на домакиот сеуште претставува крупен проблем кој се наметнува уште од моментот кога органот ќе се поврзе со крвните садови на домакиот и се воспостави циркулацијата во новиот орган. Централна улога во овој процес е алогеното препознавање од страна на Т лимфоцитите на домакиот на антигените од Мајорниот Комплекс на Хистокомпатибилитет (МНС), познати уште како ХЛА антигени на бубрегот. Препознавајќи ги туѓите ХЛА антигени (класа 1 или 2) од пресадениот орган воглавно преку доминантниот CD3-TCR рецептор на својата површина, Т лимфоцитите (Т4 и Т8) на домакиот преминуваат од неактивна во активна фаза со што се започнува каскадата на реакции кои ќе доведат до комплетна деструкција на пресадениот орган. Во алогеното препознавање учествува и тканаречениот костимулативен сигнал кој доаѓа од спојувањето на костимулативните молекули на Т лимфоцитите CD28 и CD152 (CTLA-4) со членовите на В7 фамилијата, CD80 и CD86 на бубрегот. Овие процеси инаку се одвиваат во ендотелот на крвните садови на пресадениот орган каде што доаѓа и до првиот контакт меѓу Т лимфоцитите и клетките на органот што се пресадува. Двата сигнала (стандардниот и костимулативниот) придвижуваат цела каскада на процеси во цитоплазмата и јадрото на Т лимфоцитот кои доведуваат до создавање на Интерлеукин 2 како стимулативен медијатор за Т клеточна пролиферација кој делува како трет сигнал преку рецепторот CD25 на Т лимфоцитите. Ова крајно поедноставено се случува како значаен тригер на Т клеточната активација и пролиферација која, доколку не се интервенира, ќе доведе до деструкција на пресадениот орган. (19, 20, 21)

1.5. Целуларно отфрлање

Токму Т клеточната пролиферација доведува до силна инфилтрација од активирани Т клетки (клетки убијци) во пресадениот орган и тоа прво во ендотелот на крвните садови а понатаму после обилна деструкција и во паренхимот во кој сега се случува вистинско воспаление, силно изразен едем и влошување на функцијата на пресадениот орган. Деструктивното дејство на активираниите Т лимфоцити и нивна инвазија во паренхимот на пресадениот орган го има како клинички еквивалент таканареченото целуларно отфрлање. Во клинички смисол тоа најчесто се појавува како покачен креатинин во серумот на болниот, но може да има и други облици како што се намалување на мокрењето, болки во графтоот, пораст на артерискиот притисок, покачена температура, појава на протеинурија и слично. (22)

1.6. Хуморално отфрлање

Активираниот Т лимфоцит, освен што доведува до погоре опишаните промени, во втора фаза информацијата ја пренесува до Б лимфоцитите кои исто така се активираат и се претвораат во плазма клетки. Овие последните сега продуцираат антитела спрема туѓите ХЛА антигени од дарителот. Антителата припаѓаат кон класата ИгГ. Во различен обим тие исто така имаат деструктивно дејство на графтоот кое почнува во ендотелот на крвните садови или бубрежните гломерули. (23, 24, 25, 26, 27) Заради артериите и артериолите како предилекционо место каде што делуваат антителата овој тип отфрлање се нарекува и васкуларно. Последиците на хуморалното отфрлање не се однесуваат само на хроничните промени во артериите, туку и на процесите на забрзана атеросклероза (28) на графтоот, оштетување на гломерулите и појава на гломерулонефрит како и консекутивни промени на интерстициумот како последица на трајна исхемија и хипоксија. Во таква средина многу е веројатно да настапи и интерстициелна фиброза и оштетување на тубулите исто така заради исхемија. Во последно време се почесто се заговара дека токму интерстициелната фиброза е завршна фаза од отфрлањето предизвикано со антитела. (29, 30, 31).

1.7. Мешано отфрлање (mixed rejection)

Последните анализи на најновата Banff класификација го ставаат и официјално таканареченото мешано отфрлање кое се однесува на хистолошки наод во кои има елементи и на хуморално и на целуларно отфрлање. Поаѓајќи од тоа дека хистолошката слика на биопсијата на графтоот било да се работи за индицирана било протокол, секогаш содржи елементи на наоди кои не можат да се сместат во чиста категорија. Токму от тие причини, во официјалната класификација од 2015 и 2017 година категоријата мешан тип на отфрлање се наоѓа како официјално соопштение. Во овој смисол не се работи само за наод на отфрлање кое има целуларна или хуморална основа, туку и други елементи на хистолошките наоди како што е Интерстициелната фиброза (ИФ) и/или Тубуларната атрофија (ТА) со воспалителни елементи, како и промените на артериите во состав на евентуалната калцинеуринска токсичност. Мешаното отфрлање поставува и нови дилеми, од аспект на тоа кои го започнува процесот. Дали на секое хумотрално отфрлање му претходи целуларно отфрлање или обратно. Дека работата не е така едноставна, се докажа и со генетската анализа во состав на ENDAT каде се оди на уште подетална анализа и презентација на наодите и во состав на претходно хуморално или целуларно отфрлање. Мешаното отфрлање се наметнува како реалност и бара посебно внимание во толкување на хистолошките наоди од биопсиите на графтоот.

1.8. Донор специфични и донор неспецифични анти-ХЛА-антитела

Кога ќе се активираат Б лимфоцитите тие најчесто продуцираат антитела усмерени спрема оние ХЛА антигени на донорот кои ги препознале Т лимфоцитите (Т4 и Т8) како туѓи. Овие антитела имаат директно деструктивно дејство врз клетките на донорот, односно бубрегот и тие се најопасните и најдиректните и се нарекуваат “Донор Специфични Антитела“ или ДСА. (32,33,34, 35) Но постојат и други Анти-ХЛА-антитела кои циркулираат и можат да бидат потенцијално опасни. Тие не мораат да бидат усмерени директно спрема ХЛА антигените на дарителот, но можат да влегуваат во разни вкрстени реакции и да имаат исто така неповолно дејство врз графтоот.(36, 37, 38) Ова се однесува особено за анти-ХЛА Класа 2 антителата, чие дејство е докажано во повеќе

студии. Нивното присуство во плазмата на реципиентот исто така се смета за патогномонично и опасно. Токму тие во последно време га привлекуваат вниманието на стручната јавност. Во секоја значајна имунолошка реакција која вклучува антитела е вклучен и активираниот комплемент (директен или алтернативен). (39,40) Комплементот најчесто е составен дел на реакцијата и неговото присуство во патоанатомскиот супстрат најчесто се докажува со биопсија на ткивото (графтот). Најчесто активиран комплемент е C4d чии остатоци се докажуваат со имунофлуоресценција на ткиво добиено со биопсија. (41,42). Таргет ткива на деструктивното дејство на новосоздадените анти-ХЛА-антитела е ендотелот на крвните садови (особено перитубуларните капилари), гломерулите но и интерстициумот. Определени студии потврдија присуство на анти-ХЛА-антитела и во самото бубрежно ткиво добиено со биопсија кое корелираше со истиот или сличен нао на истите антитела во срумот на болниот. Повеќе студии исто така го потенцираат подеструктивното дејство на анти-ХЛА Класа 2 антитела во однос на класа 1. (43, 44, 45, 46).

1.9. Клинички аспекти на отфрлањето

Клиничкиот еквивалент на реакцијата на отфрлањето најчесто е влошување на функцијата на графтот, во случај на бубрежната трансплантација, преку покачување на креатининот. Некогаш можат да се јават и општи клинички симптоми како покачена температура, болки во графтот, намалување на диурезата, пораст на крвниот притисок. (22) Во урината може да се јави протеинурија и еритроурија но и присуство на повеќе или помалку познати маркери познати како протеоми или транспланти. Нивното значење ќе треба допрва да се испитува и докажува. Треба да се има предвид дека хуморалното отфрлање најчесто не е клинички богато изразено и затоа треба да се бара и да се мисли на него. Особено ако се откријат присутни антитела во серумот на болниот, било да се ДСА или нон-ДСА. Затоа се воведува најчесто таканаречената протокол биопсија кога после различни интервали од трансплантацијата се бараат хистолошки знаци за отфрлање предизвикано со антитела.

Во последно време се повеќе се воведува поимот – “silent rejection” или субклиничко отфрлање, кога ќе се пронајдат хистолошки промени во биоптичниот материјал кои се типични за хуморално отфрлање а клинички болните не покажуваат никакво влошување на бубрежната функција и морфологија. Скриеното отфрлање најчесто не вклучува активација на комплементот и е повеќе

резултат на директно дејство на антителата врз ендотелните структури кое вклучува други сеуште нејасни механизми. Овој тип на хуморално отфрлање објаснува зошто во голем процент неможат да се докажат остатоци од C4d во ткивото на графтоот а сепак постојат хистолошки знаци за отфрлање. (47,48,49)

1.10. Хистоморфологија на отфрлањето - Vanff концепт

Со цел да се расчистат многу дилеми околу хистолошката интерпретација на биопсиите на графтоот и да се дефинираат и квантифицираат промените кои припаѓаат кон отфрлањето на графтоот како процес пред 20 години се вовеле таканаречената класификација според Vanff. Оваа класификација го добила името од малото место во Канада каде за прв пат многу репрезентативна група на патолози и клиничари се обидоа да најдат консензус околу патоанатомските промени во биопсиите на графтоот. Оваа класификација има регуларен апдејт секоја втора година при што се прави обид да се внесат секогаш нови елементи со што ќе се објаснат сите промени. Последниве неколку опреснувања вклучувајќи ја онаа од 2015 година го става во центар на внимание токму хуморалното отфрлање дефинирајќи промени кои оправдано можат да се сметаат за релевантни во дијагностиката на овие процеси. Оваа класификација се обидува да ги квантифицира промените спрема нивниот интензитет директно во ткивото и да ги доведе во директна врска типот и интензитетот на анти-ХЛА-антителата. Токму најновата Vanff класификација и го објансува поимот на субклиничкото отфрлање како и отсуството на комплементот во рекацијата. (50)

Посебно место во класификациите на патолошките промени по Vanff има наодот на придружно воспаление, односно присуството на воспалителни клетки во структурите на графтоот. За хуморалното отфрлање, она со присутни донор специфични и донор неспецифични антитела присуството на воспалителни клетки некогаш е доволно еден наод да се прогласи за отфрлање поредизвикано од антитела. Исто така присуството на воспаителни клетки и во случаите на интерстициелна фиброза и тубуларна атрофија ја потврдува и теоријата на процеси на отфрлање што е различно од досегашната пракса истите да се сметаат само како последици од некои други процеси. Така се доаѓа и до претпоставката дека и интерстициелната фиброза е елемент на процес на отфрлање. Последните ревизии на Vanff класификацијата критички го анализираат и присуството на Ц4д, односно присуството на истиот во ткивото на болниот. Овој дел од активираната низа во која учествува целата низа на сукцесивни каскадни

реакции беше доволен биопсионот наод да се прогласи како отфрлање предизвикано од антитела. Дури се анализираше интензитетот и опсегот на неговата појава во ткивото и спрема тоа се определувааше натамошната судбина на графтоот. Но подоцнежните анализи потврдија дека отфрлање предизвикано од антитела може да се јави и без да е присутен C4d фракцијата во ткивото со што првичното одушевување прилично спласна. Комплементот и фракцијата C4d и натму остануваат значајни во вкупното толкување што се случува конечно во ткивото на графтоот но се повеќе се анализира присуството на остнатите делови од каскадната активација на комплементот и неговото деструктивно влијание во оквир на отфрлањето предизвикано со антитела. Новата Луминкес технологија за откривање на анти-ХЛА-антитела во серумот на болниот овозможува и детекција на активираниот комплемент во крвта. Така ако покрај присутните антитела постои и присутно анти C1q тогаш, според податоци од литература се смета дека отфрлањето предизвикано од антитела не само што е присутно туку е и уште подеструктивно.

1.11. Дијагностички и терапевтски предизвици на хуморалното отфрлање

Отфрлањето како процес, особено хуморалното, денес се смета за главна причина за пропаѓање на графтоот. Според податоци од литература повеќе од 70% кај пропаднатите графтови виновен е процесот на отфрлање, од кои повеќе од 60% се однесува токму на хуморалното отфрлање. Другите поричини се врзани за инфекциите кај имунодепримиран организам (сите типови), појавата на малигноми, нефротоксичност предизвикана од CNI, артериска хипертензија и стероиден дијабет. Поимот напредната атеросклероза на графтоот исто така се должи на хуморалното отфрлање и тоа е потврдено од повеќе автори. Оттаму огромен дијагностички предизвик е да се дефинираат, утврдат и применат критериумите за рана или правовремена дијагностика на отфрлањето како процес. Ова пред се заради тоа што денес сепак располагаме со доволно различни имunosупресивни средства кои во многу нешта можат да го променат текот или да доведат дури и до резолуција на проблемот, Покрај стандардните клинички критериуми, од особена важност е откритието и примената на таканаречениот single antigen beads (САБ), односно техниката позната како Луминекс со која беше овозможено прво да се откријат анти-ХЛА-антителата во серумот на болниот и тоа спрема секој посебен ХЛА антиген. Оваа техника

овозможува и истите да се квантифицираат со помошта на средниот интензитет на имунофлуоресценција (МФИ). На овој начин се направи дистинкција од обичното присуство на антитела од она кога тоа е потврдено и со поголем интензитет на присуство а со тоа и дејство. Според досегашните препораки, сигнификантно присуство на анти-ХЛА-антитела ќе биде она ако МФИ ја надминува бројката од 800. (19, 29)

Покрај присутвото на анти-ХЛА-антитела во серумот на болниот, неопходен услов за дијагностика на овој тип отфрлање е бубрежна биопсија и адекватна примена на критериумите по Banff. Биопсиите на графтоот можат да бидат или по индикација или според протокол (протокол биопсии) кога истите се прават после условно земен точен период после трансплантацијата кај сите болни. Обете биопсии се еднакво корисни во дефинирањето на она што се случува со графтоот на микроскопско ниво. Во овој смисол биопсијата на графтоот е неопходна за утврдување на присуство или отсуство на отфрлање предизвикано со антитела, но и за присуство на целуларно отфрлање, циклоспоринска нефротоксичност, тубуларни оштетувања, воспалителни промени, артериосклероза, инфекција, појава на БК и ЦМВ нефропатија, итн. Не треба да се заборава дека некогаш можат да бидат присутни и целуларното и хуморалното отфрлање и тогаш е потребно поголемо искуство на патологот во толкувањето што е позастапено. Од особено значење е протокол биопсијата која се изведува после определен интервал од хируршката процедура при што е можно да се откријат промени далеку пред да настапи клиничка експресија а со тоа и да се остави доволно простор за делување и решавање на проблемот. Ниедна валидна студија денес не може да се замисли без примена на протокол биопсија на графтоот. Таа се изведува најчесто до 12 месеци после трансплантацијата. (51, 52)

1.12. Имуносупресија

Согласно се пошироките сознанија за природата на имунолошта реакција спрема туѓото ткиво, современата медицина познава многу супстанции и молекули кои можат суштествено до влијаат на текот, интензитетот и контролата на процесот на отфрлање. Така веќе потврдени во праксата се употребата на самостојни или најчесто како двојна или тројна терапија со супстанции кои делуваат на различни нивои и на различни рецептори. Најчесто овие дејства се комплементарни и можат да бидат ефикасни во превенцијата или терапијата на процесите на отфрлање.

Имуносупресивните лекови најчесто се даваат во вид на протоколи и се медикаменти кои се зимаат додека е жив графтоот и болниот. Стандарден протокол вклучува тројна имуносупресивна терапија со CNI, стероиди и Микофенолат Мофетил и Микофенолична киселина. (22) Некогаш природата на болниот, тежината на клиничката слика или хистолошките промени налагаат употреба на различни и посилни имуносупресивни средства. Современата дијагностика токму треба да го даде и смерот и комбинацијата на медикаменти и постапки кои треба да се употребат согласно состојбата на болниот и графтоот. (53, 54, 55, 56).

Интензитетот и видот на имуносупресијата има суштинско влијание во преживувањето на графтоот и болниот. Анализите на видот на имуносупресијата и функцијата на графтоот покажаа дека оние болни кои се наоѓаат на терапија со Такролимус како калцинеурински инхибитор имаат значајно подобра функција на графтоот во однос на оние кои се на Циклоспорин. Исто така и оние болни кои се подложни на индукциона терапија со АТГ покажуваат подобра функција во однос на оние кои се без индукциона терапија. Истото се однесува и на присуството на анти-ХЛА-антитела, 12 или 24 месеци , после трансплантацијата, кое е значително помало доколку болните биле на било каква индукциона терапија во однос на оние кои се третирани само со трипла имуносупресија. Воведувањето на новите имуносупресивни средства како mTOR – инхибиторите ќе донесат потреба од нови анализи и соопштивања во однос на тоа која комбинација на имуносупресивни средства постојно дава максимален ефект а при тоа прави најмалку оштетувања на болниот и графтоот. Откривањето на анти-ХЛА-антителата и нивната достапност како анализа во клиничкото следење на болниот со трансплантиран орган, заедно со хистолошките промени при протокол биопсиите, го доведе до сомневање и постоењето на хроничната калцинеуринска токсичност. Оние болни кои имаат анти-ХЛА-антитела во серумот и имаат промени на крвните садови сега се толкуваат како елемент на отфрлање предизвикано од антитела а не како дел од хроничната калцинеуринска експозиција. За разлика од хроничната калцинеуринска токсичност, акутната токсичност се смета дека постои и таа се набљудува често во првите денови од експозицијата на болниот на овие имуносупресиви. Во секој случај, има доволно елементи за вистинска ревизија на заблудата за хроничната токсичност на калцинеурините врз која се темелат многу протоколи во кои драстично се редуцираат имуносупресивните средства со што се доведува во ризик пред се графтоот но и болниот индиректно. Тоа никако не значи дека терапијата не треба да се прилагоди кон секој болен со цел елиминирање на останатите нуз ефекти од имуносупресијата кои ги има во изобилие. Во секој случај потребни се релевантни анализи кои конечно ќе објаснат што е потребниот минимум токсичитет и максимален ефект.

Последните години станува се поактуелен феноменот на непридржување кон терапевтските совети од страна на болниот. Заради различни што објективни што субјективни причини, болните со пресаден орган/бубрег ја скратуваат потребната терапија. Феноментот се вика non-adherence или низок степен на комплијанса. Според некои согледувања, оваа појава е присутна кај речиси 30% од болните. Бројни се причините за тоа. Недоволна едукација на болниот околу важноста на имunosупресивната терапија, ниското интелектуално ниво, присутни елементи на депресија, некритичен однос кон лековите воопшто, ниска медицинска култура, примитивна средина на живеење. Така болните што не се придржуваат кон терапијата во полн облик имаат многу повеќе шанси да развијат отфрлање предизвикано од антитела затоа што анти-ХЛА-антителата се јавуваат и кај оние болни кои имаат неадекватно ниво на имunosупресивни лекови. Ова особено се однесува на групата на калцинеуринските инхибитори за кои ионака постои убедување дека се штетни особено ако се земаат на долга патека. Според сегашните препораки, ништо подобро од рана, доволна и ефикасна имunosупресивна терапија како гарант за долго преживување на графтоот и болниот.

2. МОТИВ И ЦЕЛИ

Во последните 5 години, во Република Македонија почнаа да се определуваат анти-ХЛА-антителата со моќната техника Луминекс. Анализите воглавном беа правени спорадично и не систематизирано, во период кога во светот дури и имуносупресивните протоколи се засноваа на присуството на анти-ХЛА-антителата. Се создаде потреба, да се воведат планирано определување на истите, како пред трансплатацијата, така и континуирано, за време на следењето. Беше неопходно да се поврзе нивното појавување со можните патохистолошки промени според Banff класификацијата било при клиничка манифестација со влошување на функцијата или како “тивко” т.е. клинички неприметено оштетување на трансплантираниот бубрег.

2.1. Примарна цел

- Влијанието на количеството и видот на новосоздадени анти-ХЛА-антителата кај пациенти со трансплантиран бубрег и клиничкото значење на таа промена во однос хистоморфологијата и функцијата на графто

2.2. Секундарни цели

- Асоцираност на видот на индукционата терапија, како и видот на калцинеуринскиот инхибитор со продукцијата на анти ХЛА антитела
- Дефинирање на субклиничкото хуморално отфрлање како посебен клиничко-патохистолошки ентитет.
- Асоцираност на други фактори на долгорочното оштетување на графто, меѓу кои и видот на калцинеурински инхибитор (Циклоспорин в.с Такролимус).

3. ТИП И ДИЗАЈН НА СТУДИЈАТА

Оваа студија беше дизајнирана како проспективна и обсервациска студија. Сите пациенти пред да бидат вклучени во студијата, беа детално информирани и потпишаа писмена согласност за учество во студијата.

Истата се одвиваше во три фази:

3.1. Првата фаза опфати вклучување на пациентите, во периодот од - 3 до 30 дена по трансплантацијата на бубрег. Кај сите пациенти беше направена имунолошка проценка пред трансплантацијата. По изведување на истата, беа третирани со индукциона терапија (Анти-Тимоцитен глобулин или Базиликсимаб)) и стандардна трипла имуносупресивна терапија: кортикостероид, микофенолична киселина и CNI (Циклоспорин или Такролимус), во дози согласно усвоените протоколи за третман со имуносупресивна терапија во нашиот центар за трансплантација. Беа следени и крвниот притисок, телесната тежина, стандардни лабораториски анализи на крв и урина, анти-ХЛА-антитела кон прва и втора класа ХЛА пред пресадување на графтоот.

3.2. Втора фаза на обсервација, која траеше 12 месеци од вклучувањето на пациентите во студијата. Пациентите беа следени амбулантски, со динамика која е според препораките за следење на пациентите по трансплантација. Беа нотирани крвниот притисок, телесната тежина, стандардни биохемиски анализи на крв и урина. Сите пациенти беа третирани со тројна имуносупресивна терапија : кортикостероид, микофенолична киселина и CNI (Циклоспорин или Такролимус), во дози согласно препораките за третман со имуносупресивна терапија на пациенти со трансплантиран бубрег. Концентрацијата на CNI во крвта, беше одржува во реферетни граници согласно препораките според месеците после трансплантација. Сите промени во здравствената состојба на пациентот беа нотирани и лекувани. Еден месец по трансплантацијата, како и на крајот од втората фаза беше земена крв за анти-ХЛА-антитела кон прва и втора класа ХЛА. Беа направена и биопсија на графтоот (со имунофлуоресцентна и патохистолошка процена на ткивото). На 12 месеци од трансплантацијата, пациентите беа поделени во две групи, во зависност

од детектирањето на анти-ХЛА-антитела, на ХЛА + (позитивни) и ХЛА – (негативни).

3.3. Трета фаза опфати следење на пациентите уште 12 месеци после биопсијата на графтоот. Сите пациенти беа на стандардна трипла имуносупресивна терапија. Беше следена функцијата на графтоот преку стандардните биохемиски параметри, телесната тежина и крвниот притисок. Концентрацијата на CNI во крвта, се одржуваше во реферетни граници согласно препораките. Сите наоди беа запишувани во панкартите за следење на пациентите. Сите промени во здравствената состојба беа забележани и третирано соодветно.

4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ

4.1 Испитувана популација

Студијата опфати вкупно 51 болен, со пресаден бубрег од жив дарител или починато лице, согласно критериумите од Законот за пресадување на Р. Македонија. Истите беа изведени на УК за урологија во соработка со УК за нефрологија, во периодот од 2014 до 2016 година, со потпишана информативна согласност. Изборот, обработката и структурата на дарителите и примателите, во однос на возраста, полот, телесната тежина, функцијата и морфологијата на бубрезите, општата здравствена состојба, беше направена според критериумите за дарителство на бубрег прифатени во меѓународните препораки (EBPG, KDIGO) и законот за трансплантација на Р.Македонија. За живите дарители важеше принципот на исклучиво доброволно дарување без никаков вид на надомест. За сите починатите дарители претходно беше добиена согласност за дарување од семејството, исто така доброволно без никаков вид на надомест

- **Инклузиони критериуми**
 - Прва трансплантација на бубрег
 - Низок до умерен имунолошки ризик

- **Ексклузиони критериуми**
 - Постоење на анти ХЛА антитела пред трансплантација
 - Големи хируршки компликации во првите 3 месеци од трансплантацијата.

4.2 Хируруршки третман

После калсичната експлантација на бубрегот, презервацијата се правеше најчесто со раствор Кустодиол. Хируршката интервенција подразбираше определување на времето на ладна и топла исхемија како и времето на анастомозирање на крвните садови, согласно прифатените принципи денес во трансплантационата медицина. (4)

4.2 Имунолошки ризик

Имунолошкиот ризик беше проценуван согласно адаптирани Единбуршките критериуми (4). Кај дарителите и примателите беше направена ХЛА типизација, со користење на молекуларна и серолошка метода, во два наврати, комплетна и потврдна типизација на Институтот на Имунологија и генетика при Медицинскиот факултет- Скопје и Институтот за трансфузиона медицина. Кај сите пациенти беа определени трите главни локуси, ХЛА-А, ХЛА-Б и ХЛА-ДР. Кај сите пациенти беше направена CDC (комплемент зависка цитотоксична врстена проба), првичен во текот на евалуацијата и непосредно пред изведување на трансплантација. Кај сите пациенти беа определени анти-ХЛА-антитела, пред трансплантација со методата на Луминекс, со претходен ЛАБскрин преглед. Беа вклучени само пациентите со ЛАБскрин анализа негативна или помала од 5 пред трансплантацијата.

4.2 Евалуација на трансплантираниот бубрег:

Функцијата на бубрегот беше определувана со:

- Абсолютна вредност за серумскиот креатинин ($\mu\text{mol/l}$). За покачени вредности се сметаа сите над референтната вредност од 109 ($\mu\text{mol/l}$).
- Стапка на гломеруларна филтрациона рата (ГФР) согласно MDRD формулата:

$$\text{ГФР (MDRD)} = 175 \times (\text{серум креатинин}/88,4)^{-1,154} \times \text{возраст}^{-0,203} \times 0,742 \text{ (за жена)}$$

За незадоволителни вредности за ГФР, беа земени сите вредности пониски од 55 мл/мин.

- Се определуваше 24ч протеинурија, изразена во g/L. За покачени вредности беа земени сите вредности над референтната вредност од 0,07 g/L, во нашата локална лабораторија.
- Се отценуваше и опоравувањето на трансплантираниот бубрег после трансплантацијата и тоа како уредно опоравување (веднаш востоставена функција на графто), споро опоравување без потреба од хемодијализа и ДГФ одложено опоравување со потреба од хемодијализа.

- Морфологијата на графтоот се следеше со методите на ехотографија, по потреба КТ ангиографија или МРИ. Брзината на протокот на крвта низ анастомозата и ткивото на графтоот беше евалуирана со примена на стандарден колор доплер .

4.5 Имуносупресивни протоколи

Во однос на имуосупресивните медикаменти беа користени протоколите усвоени во нашиот центар за трансплантација, согласно добрите практики во другите центри во светот. Тоа е Секвенцијален Квадрипли Протокол кој вклучува:

- Индукциона терапија со моно или поликлонални антитела (Антитимоцитарен имуноглобулин- АТГ во доза 1,5- 3 mg/Kg ТТ, или Базиликсимаб во доза 20 mg, првниот и четвртиот ден од трансплантација)
- Тројна терапија на одржување со Кортикостероиди (Метилпреднизолон, Декортин), CNI (Циклоспорин А или Такролимус) и антиметаболити (Микофенолична киселина)

Клиничката презентација на отфрлање беше третирана со пулсна терапија со кортикостероиди, АТГ, плазмферези, Ivlg, Ритуксимаб .

Мониторирањето и одржувањето на вредностите на концентрациите на калцинеуриските инхибитори, беа согласно препораките на BTS:

Табл.1 Концентрации на Циклоспорин А според месеци после трансплантација.

Месеци после трансплантација	Концентрација на Циклоспорин C0 (ng/mL)	Концентрација на Циклоспорин C2 (ng/mL)
>1	300 до 350	1300
1-2	250 до 300	1100
3-6	150 до 250	800-900
7-12	125 до 200	700
>12	75 до 125	450-600

**Табл.2 Концентрации на Такролимус според месеци
после трансплантација**

Месеци после трансплантација	Концентрација на Такролимус, 12 часа посл последната доза (ng/mL)
>1	8-12
1-3	6-9
>3	4-8

4.6 Анти-ХЛА-антитела – методологија на детектирање

Присуството на анти ХЛА антитела го определувавме со примена на техниката на Луминекс, на Институтот за Имунологија. Најпрвин се направеше скрининг за присуство на антитела кон ХЛА класа 1, анти-ХЛА класа 2 и МІСА антигените. Примероците серум, со вредности за ЛАБскрин поголеми од 5, се сметаа за позитивни. Кај нив се правеше дополнителна анализа САБ, за дефинирање на видот на антителата. Анти-ХЛА-антителата (антитела кон ХЛА класа 1, анти-ХЛА класа 2 и МИКА антигените) присутни во серумот на пациентот реагираат со пречистени ХЛА антигени кои се наоѓаат на површината на микросферите. По плакнењето на неспецифичните антитела следеше обележување со Р-фикоеритрин (РЕ)-коњугиран козји анти-хуман ИГГ. Со помош на Lumineх 200 проточниот анализатор се детектира симултано флуоресцентната емисија на РЕ и специфичниот потпис од различен сооднос на бои на секоја сфера скоро во реално време. За евалуација на резултатите реактивната шема на тест серумот се споредува со лот-специфичниот лист кој го дефинира антиген есејот. Техниката е стандардизирана согласно меѓународно препорачаните принципи. (39)

Квантифицирањето на анти-ХЛА-антителата беше преку определување на МФИ при што за значајни се сметаа вредностите поголеми од 800. (14, 29)

4.7 Протокол биопсија на графтоот 12 месеци по трасплантацијата

Кај сите пациенти, на 12 месеци по извршената трансплантација на бубрег направивме протокол биопсија на графтоот. Истата се изведуваше според стандардна процедура и техника која се применува на УК за нефрологија. Сите

биопсии беа направени од еден обучен лекар. При тоа се правеа два или три убоди, со цел да се добијат по два цилиндра бубрежно ткиво, за имунофлуоресцентна и светлосна микроскопија. За задоволителен примерок се земаше присуство на повеќе од 8 гломерули. Патохистолошката анализа на биоптичниот материјал се правеше на Институтот за патологија при Медицинскиот факултет- Скопје, секогаш преку еден ист специјалист патолог кој има искуство во толкување на бубрежната патологија. Имунофлуоресцентната проценка на биопсичното ткиво се правеше на УК за нефрологија, секогаш од ист специјализиран нефролог. При истата се анализираше учеството на комплементот, C1q, C3, C4d, како и определените класи на Имуноглобулини. Ткивата беа боени стандардно со ПАС, Силвер, Еозин и Трихром Масон. По потреба и во случаи кои се недоволно јасни се користеше и електронската микроскопија. (15,32)

4.7.1 Хистоморфолошки промени – класификација според Banff 2013 година

Како што веќе е кажано, патохистолошката анализа на биоптичниот материјал беше правена според Класификацијата по Banff 2013 која посебно ги дефинира промените предизвикани од хуморалното отфрлање, адаптирана за методите кои не се достапни во Р.Македонија. Истата вклучува детекција на следните карактеристики:

Табл.3 Banff 2013 класификација (опреснета)

1. Нормален наод
2. Со антитела посредувано отфрлање (АБМР)
Акутно/активно АБМР; за дијагноза потребно е присуство на сите три наоди:
1. Хистолошка потврда за акутна поврена на ткивото, која вклучува една или повеќе од следниве промени
<ul style="list-style-type: none"> • Микроваскуларна инфламација ($g > 0$ и/или $ptc > 0$) интимален или трансмурален артеритис ($v > 0$)

- Акутна тромботична микроангиопатија, во отсуство на било која друга причина

2. Доказ за непосредна/скора интерреакција на антителата со васкуларниот ендотелиум, кое вклучува барем една промена од следниве:

- Линеарен C4d депозит во перитубуларните капилари (C4d2 или C4d3 на ИФ на смрзмати пресеци, или C4d > 0 на ИХХ на парафински пресеци)
- Најмалку умерена микроваскуларна инфламација ([g +ptc] > 2)
- Зголемена експресија на ген транскрипти кои упатуваат на ендотелна повреда во биоптичното ткиво, ако може да се направи.

3. Серолошка потврда за донор-специфични (ДСА) (ХЛА или други антитела)

Хронична, активна АБМР ; сите три групи мора да бидат присутни за дијагноза

1. Морфолошки доказ за хронична повреда на ткивото една или повеќе промени од следниве:

1. Трансплантна гломерулопатија (ТГ) (eg > 0), ако нема доказ за хронична тромботична микроангиопатија. Силно задебелување на базалната мембрана на перитубуларните капилари (потребна е ЕМ)
2. Новонастаната интимална фиброза на артериите, со исклучени други причини за истата.

2. Доказ за непосредна/скорешна интерреакција на антителата со васкуларниот ендотел, вклучувајќи присуство на барем една промена од следниве:

3. Линеарен депозит на C4d во притубуларните капилари (C4d2 или C4d3 со ИФ на смрзнати пресеци, или C4d > 0 со ИХХ на

парафински пресеци)

4. Најмалку умерена микроваскуларна инфламација ($[g + ptc] > 2$)
5. Зголемена експресија на ген транскрипти кои упатуваат на ендотелна повреда во биоптичното ткиво, ако може да се направи.
6. Серолошка потврда за ДСА (ХЛА или други антители)

C4d депозити без докази за отфрлање; сите три наоди мора да бидат присутни за дијагноза

- a. Линеарен депозит на C4d во притубуларните капилари (C4d2 или C4d3 со ИФ на смрзнати пресеци, или C4d > 0 со ИХХ на парафински пресеци)
- b. $g = 0$, $ptc = 0$, $eg = 0$ (на светлосна микроскопија и ЕМ ако е достапно), $v = 0$; отсаство на ТМА, отсаство на задебелување на базалната мембрана на перитубуларните капилари, отсаство на акутна тубуларна лезија (во отсуство на друга причина за истото)
- c. Отсатно акутно целуларно отфрлање (Banff 97 1A или повеќе) или гранични промени.

3. Гранични промени: ' сомнителни' за акутно Т клеточно отфрлање (кое може да коинцидира со категоријата 2,5 и 7)

Оваа категорија се користи кога нема присуство на интимален аретритис, но постојат фокуси на тубулитис ($t1$, $t2$, or $t3$) со мала интерстицијална инфилтрација ($i0$, or $i1$) или интерстицијална инфилтрација ($i2$, $i3$) со умерен ($t1$) тубулитис.

4. Т- клеточно посредувано отфрлање , може на коинцидира со категорија 2,5,6)

Акутно Т- клеточно посредувано отфрлање (Вид/Степен)

- I A. Случаи со сигнификантна интерстицијална инфилтрација (>25% од паренхимот е засегнат, $i2$ or $i3$) и фокуси на умерен тубулитис ($t2$)
- I B. Случаи со сигнификантна интерстицијална инфилтрација (>25% од паренхимот е засегнат, $i2$ or $i3$) и фокуси на силен тубулитис ($t3$)

<p>II А. Случаи со лесен до умерен интимален артеритис (v1)</p> <p>II В. Случаи со силен интимален артеритис кои го стеснуваат >25% од интралуминалниот простор (v2)</p> <p>III. Случаи со трансмурален артеритис и/или фибриноидни промени на артериите и некроза на мазните мускулни клетки на медијата со придружна лимфоцитна инфламација (v3)</p> <p>Хронично активно Т-клеточно отфрлање 'хронична алогографт артериопатија' (артериска интимана фиброза со инфилтрација на фиброзата со мононуклеарни клетки, формирање на нео-интима)</p>
<p>5. Интерстицијална фиброза и тубуларна атрофија, без доказ за друга специфична етиологија</p> <p>(може да вклучи неспецифична васкуларна и гломеруларна склероза, но степенот на оштетувањето се степенува според тубулоинтерстицијалните промени.</p> <p>I. Лесна интерстицијална фиброза и тубуларна атрофија (>25% од кортикалната регија)</p> <p>II. Умерена интерстицијална фиброза и тубуларна атрофија (26-50% од кортикалната регија)</p> <p>III. Силна интерстицијална фиброза и тубуларна атрофија (>50% од кортикалната регија)</p>
<p>6. Друго: Промени кои не се како резултат на отфрлање акутно или хронично.</p>

Табл. 4 Ознаки за патолошките скорови во Banff

Опис	Банфф ознака	Бодување			
		0	1	2	3
Интерстицијална инфламација (% од нефиброзираниот кортекс)	i	<10%	10-25%	26-50%	>50%
Вкупна инфламација (% цел кортекс)	ti	<10%	10-25%	26-50%	>50%
Тубулитис (максимум мононуклеарни клетки/тубул)	t	0	1-4	5-10	>10%
Arterial inflammation (% лумен и артеритис)	v	нема	<25%	>25	трансмурално или некроза
Гломерулитис (% засегнати гломерули)	g	нема	<25%	26-50%	>50%
Капиларитис (клетки по кортикален РТС, потребно е >10% of РТС да бидат засегнати за скорирање)	ptc	<10%	<5/PTC	5-10/PTC	>10/PTC

C4d депозити во РТС (% позитивни)	C4d	0%	1-9%	10-50%	>50%
Интерстицијална фиброза (% од кортексот)	ci	<5%	6-25%	26-50%	>50%
Тубуларна атрофија (% кортекс)	ct	0%	<25%	26-50%	>50%
Здебелување на артериската интима (% стеснување на луменот во гломерулите кои се најмногу засегнати)	cv	0%	<25%	26-50%	>50%
Трансплантациона гломерулопатија (% на капилари со дупликатура во насилно засегнатите гломерули)	cg	0%	<25%	26-50%	>50%
Хијалинизација на артериолите (број со фокална или циркумфицијална хијалинизација)	ah	нема	1 фокус	>1 фокус	1 циркумфицијална >50%
Зголемување на мезангијалниот матрикс (% засегнати гломерули)	mm	0%	<25%	26-50%	>50%

4.8 Клиничко следење и лабораторија

Следењето на болните со трансплантиран бубрег беше амбулантско, на УК за нефрологија. согласно принципите на Клиниката и според официјалните светски упатства. Сите проблеми од друга природа се решава исто така спрема принципите на добра клиничка пракса и упатствата на медицината базирана на докази.

- Лабораториските испитувања се изведува протоколарно спрема принципите на следење на болните во периодот до 12 и 24 месеци после трансплантацијата. Истите се однесува на маркерите на бубрежната функција (деградациони продукти), крвната слика, плазма протеинскиот и липидниот статус, маркери за општа инфекција итн. Сите примероци крв беа земани наутро во 08.30ч пред земање на утринската доза на CNI.
- Беа мерени и телесната тежина, определуван ИТМ според општоприфатена формула и крвниот притисок изразен во mmHg.
- Бубрежната макроморфологија беше евалуирана со редовни ехотомографски прегледи, а протокот низ реналната артерија паренхимот со колор- доплер. Според актуелната потреба беа употребувани и други методи како КТ ангиографија, Скен на графтоот, Магнетна резонанца, итн.

4.9 Статистика

Статистичката анализа на податоците добиени од истражувањето беше направена во статистичкиот програм SPSS 23,0.

1. За тестирање на нормалноста на добиените податоци беше користен Shapiro-Wilk's W test).
2. Категориските параметри се прикажани со апсолутни и релативни броеви. Квантитативните варијабли се прикажани со просек и стандардна девијација, односно со медијана и рангови.
3. За компарирање на анализираните варијабли беа користени Chi square test, Fisher exact two tailed test, Student t-test, Analysis of Variance (ANOVA) test, Mann-Whitney U test, Kruskal-Wallis test.
4. Линеарна Регресиона анализа со одредување на B коефициент и 95% CI беше користена за одредување на предиктивното влијание на одредени параметри на вредноста на cKp, ГФР и 24ч протеинурија.
5. Мултиваријантна Линеарна Регресиона анализа со одредување на B коефициент и 95% CI беше користена за одредување на независните предиктивни варијабли на вредноста на cKp, ГФР и 24ч протеинурија.
6. Логистичка Бинарна Регресиона анализа со одредување на Однос на превага (OR) и 95% CI беше користена за одредување на сигнификантните варијабли за предикција на патохистолошките промени според Банфф класификацијата
7. Рок крива беше конструирана за одредување на специфичноста и сензитивност на МФИ антителата со вредности > 2500, во предикција на хистопатолошките промени за кат. 2 (АБМР) од Банфф класификацијата

Статистичката сигнификантност беше дефинирана на ниво на $p < 0.05$.

За значајна МФИ за анти ХЛА антителата беше земено МФИ > 800.

5. РЕЗУЛТАТИ

5.1 Демографски карактеристики

5.1.1 Демографски карактеристики на сите испитаници

Во нашата студија, беа вклучени вкупно 51 испитаник, со средна возраст 37.39 ± 11.6 . Од нив 37 (72.55%) мажи, а 14 (27.45%) жени. Хемодијализита како модалитет на лекување на хроничната бубрежна болест пред трансплантацијата, била применета кај 45 (88.24%), а 3 (5.88%) биле преходно лекување (табл. 5)

Табл. 5 Демографски карактеристики на примателите на бубрег (n = 51)

Приматели на бубрег		
1	пол	n, %
	машки	37 (72.55)
	женски	14 (27.45)
2	возраст	mean \pm SD
		37.39 \pm 11.6
3	основно заболување	n, %
	Хроничен ГН	9 (17.6)
	ФСГН	2 (3.92)
	МПГН	4 (7.84)
	РПГН	3 (5.88)
	МН	1 (1.96)
	Херeditарна нефропатија	1 (1.96)
	Алпортов синдром	
	АПББ	4 (7.84)
	Калкулозен ИПН	
	ИгА нефропатија	1 (1.96)
	ДМ тип 1	1 (1.96)
	НаС	1 (1.96)
	Недиференцирана	11 (21.57)
	ВУР	2 (3.92)
	СЛЕ	1 (1.96)

4	вид на дијализно лекување	n, %
	хемодијализа	45 (88.24)
	притонеална дијализа	3 (5.88)
	без дијализно лекување	3 (5.88)

5.1.2 Демографски карактеристики на сите дарители на бубрег

Средна возраст кај дарителите беше 57.22 ± 1.6 , повеќето 31 (60.78%) биле жените. Кај 14 (27.45%) била регистрирана ХТА како коморбидитет. Од сите дарители, 9 (17.65%) биле починато лице (табл. 6)

Табл. 6 Демографски карактеристики на дарителите на бубрег (n = 51)

Дарител на бубрег		
1	пол	n, %
	машки	20 (39.22)
	женски	31 (60.78)
2	возраст	mean \pm SD
		57.22 \pm 1.6
3	основно заболување	n, %
	нема	36 (70.59)
	ХТА (артериска хипертензија)	14 (27.45)
	ХТА , дијабетес мелитус	1 (1.96)
4	Сродство со примателот	n, %
	татко	14 (27.45)
	мајка	22 (43.14)
	сопруга	1 (1.96)
	починато лице	9 (17.65)
	сестра	3 (5.88)
	баба	1 (1.96)
	свекрва	1 (1.96)

5.1.3 Карактеристики за факторите кои можат да влијаат на сензибилизацијата и продукцијата на анти-ХЛА-антителата

Во однос на дистрибуцијата на факторите кои можат да влијаат на сензибилизација на пациентите и продукција на анти ХЛА антитела, 9 (од 17 жени) имале бремености. Од вкупниот број пациенти, кај 10 имаше број на ХЛА несовпаѓања повеќе од 3. Кај сите испитаници вкрстената проба CDC, беше негативна. Такролимус (калцеуриски инхибитор) како терапија на одржување беше застапен кај 31 (60.78 %) од испитаниците (Табл. 7).

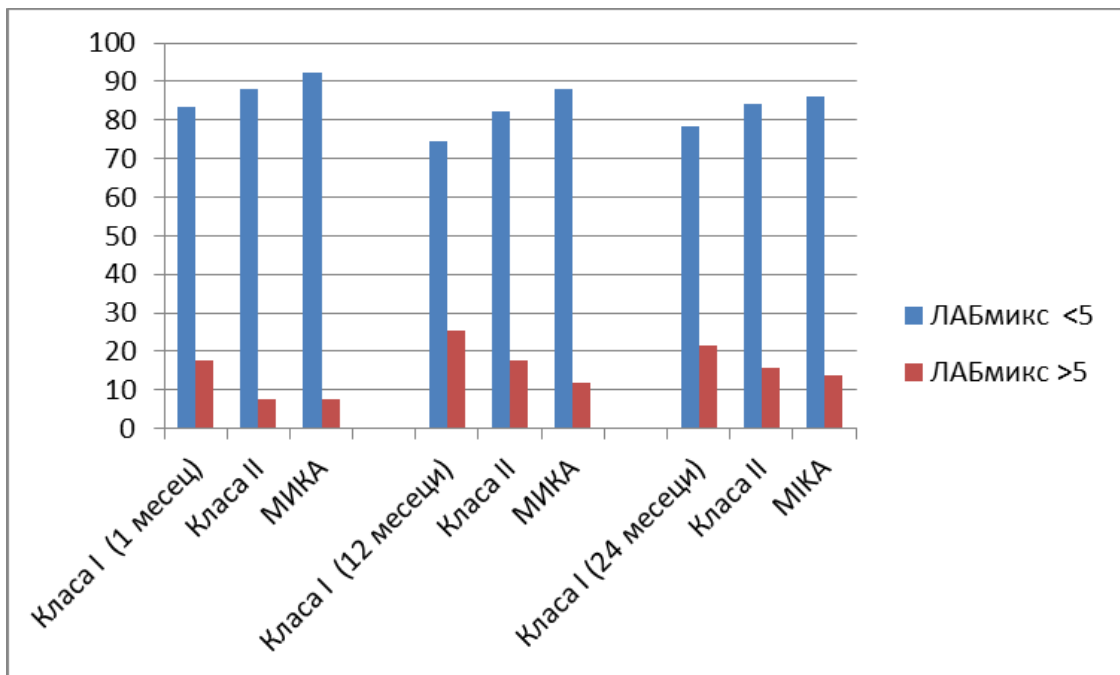
Табл. 7 Фактори кои можат да влијаат на сензибилизацијата и продукцијата на антителата (n = 51)

	Фактори	n, %
1	Бременост	9 (17.65)
2	Трансуфии	11 (21.57)
3	Број на ХЛА несовпаѓања	n, %
	0	2 (3.92)
	2	13 (25.49)
	3	26 (50.98)
	4	7 (13.72)
	5	2 (2.93)
	6	1 (1.96)
4	Индукциона терапија	n, %
	симулект	33 (64.71)
	анти-тимоцитен глобулин	18 (35.29)
5	Терапија на одржување на 12 месец од трансплатација	n, %
	Циклоспорин	20 (39.22)
	Такролимус	31 (60.78)
6	функцијата на бубрегот непосредно по трансплатација	n, %
	добра	37 (72.55)
	DGF (одложена функција на бубрегот со потреба од хемодијализа)	4 (7.84)
	СО (споро опоравување, без потреба од хемодијализа)	10 (19.61)

5.2 Дескриптивна статистика

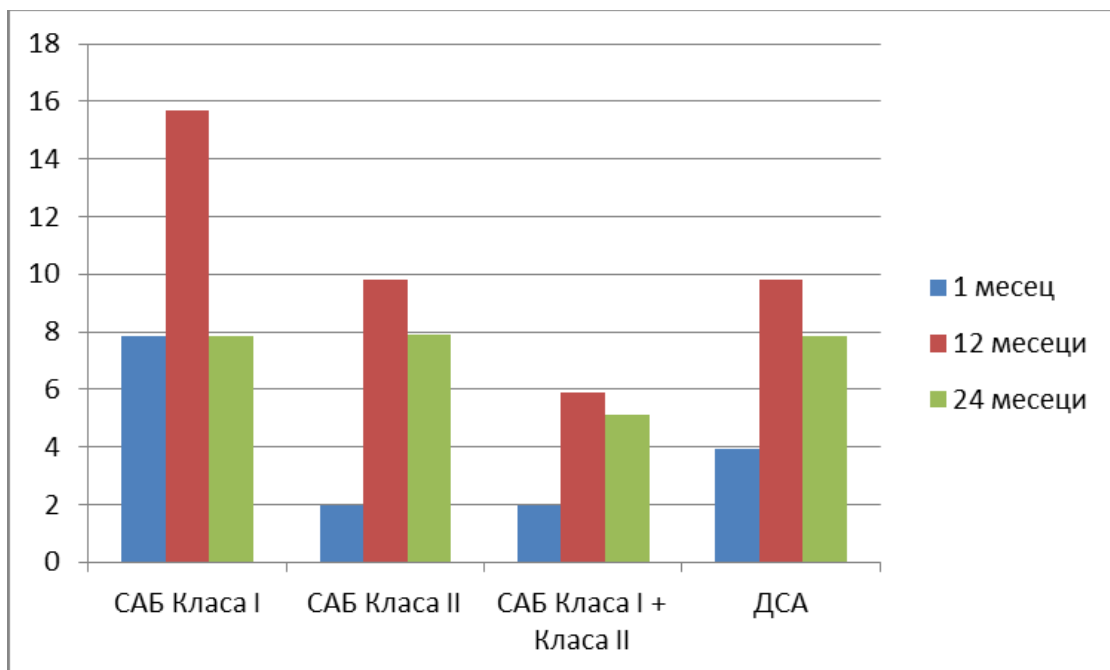
5.2.1 Дескриптивна статистика на анти-ХЛА-антителата

Со примена на ЛАБ микс анализата за скрининг на анти ХЛА антитела, се покажа дека на 12 месец од трансплантацијата создадените анти ХЛА антитела, биле 25,49 % кон Класата I, а кон Класата II и МИКА (17,64% в.с 11,76%) (Граф.1)



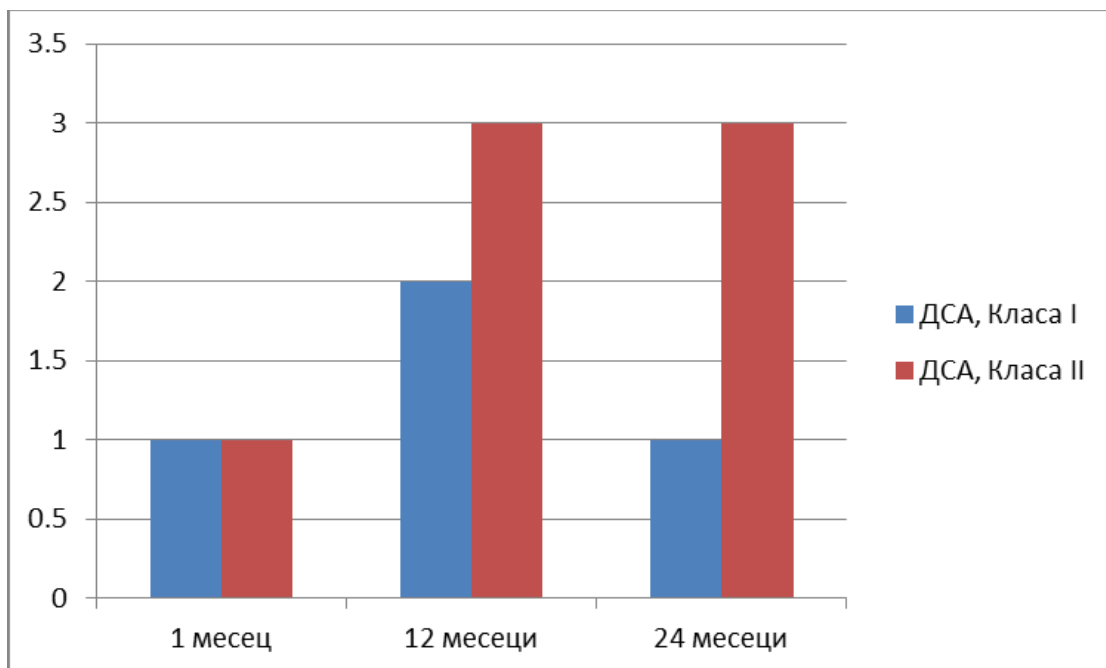
Граф. 1 Фрекфенција на класите на анти-ХЛА-антитела, според месеци од трансплантацијата, определена со ЛАБмикс методата за скрининг (%)

Понатамошната анализа на анти-ХЛА-антителата со методата на САБ, покажа различна фрекфениција на создавање на анти-ХЛА-антитела на 1, 12 и 24 месеци. На 12 от месец, синтеза на антитела кон Класата I била (15,68 %), додека кон Класата II и МИКА (11,76 % в.с. 5,88%) , а 9,8% биле ДСА (Граф.2).



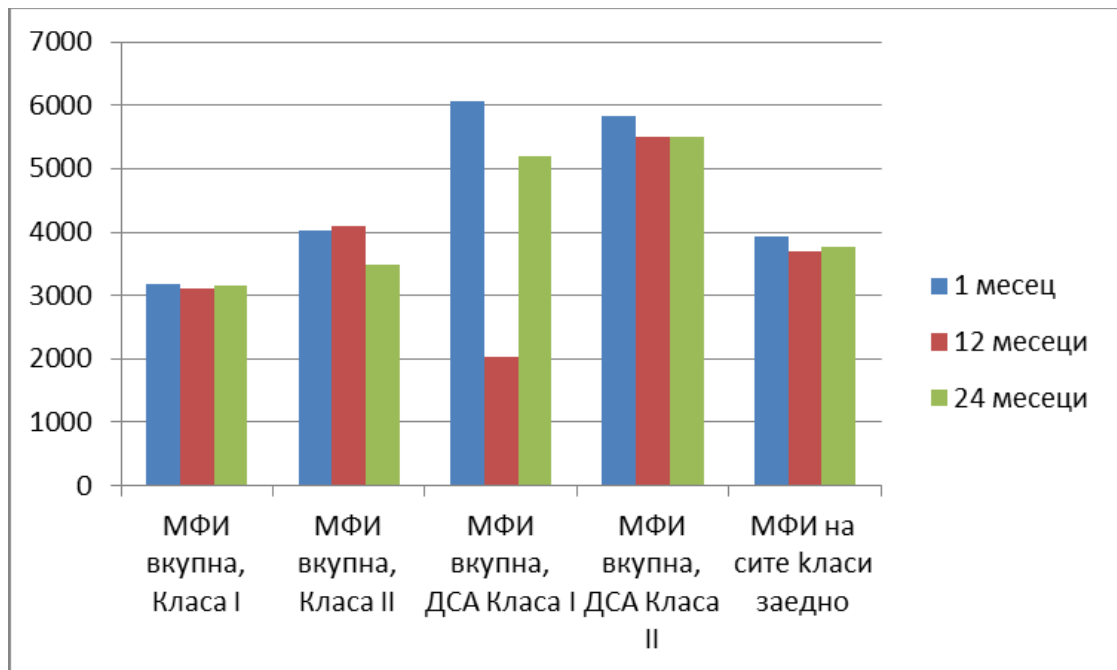
Граф. 2 Фреквенција на класи на антитела, според месеци од трансплантацијата, определена со САБ методата, (%)

Бројот на пациенти кои создале ДСА 1, 12 и 24 месеци од трансплантацијата беше (2в.с.5.в.4) соодветно, а во однос на класите, бројот на пациенти кој создале ДСА кон Класата II на 1,12 и 24 месеци од трансплантацијата беше (1в.с.3в.с.3) (Граф.3)



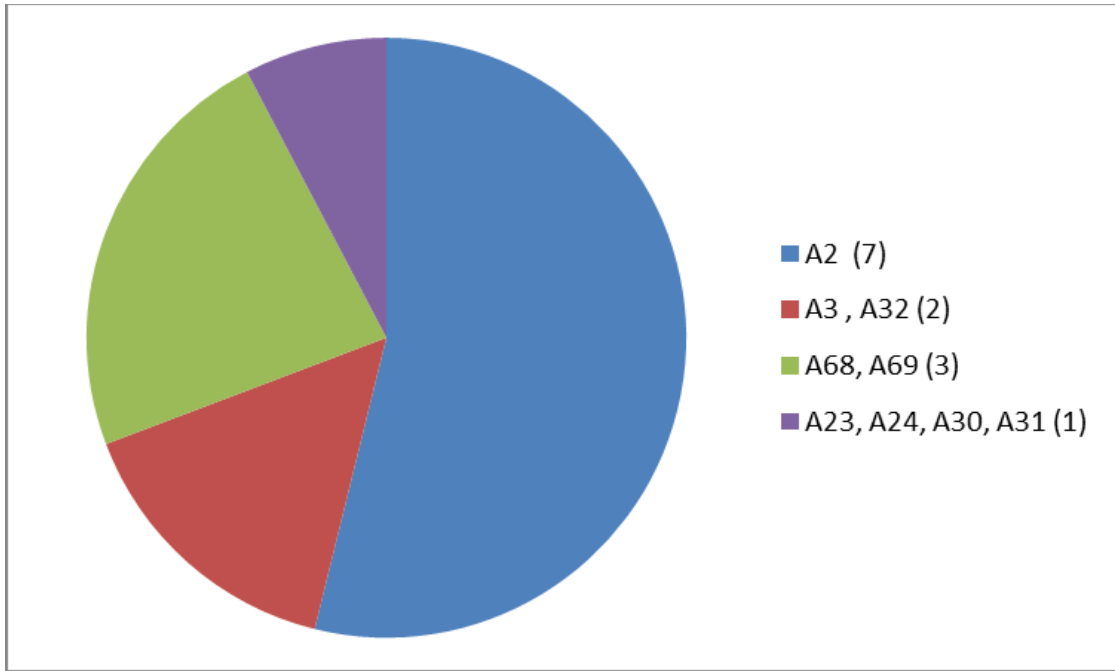
Граф. 3 Број на пациенти со ДСА, според класите и месеците од трансплантацијата, определена со САБ методата

Средната МФИ на анти-ХЛА-антителата кон Класата II е повисока во 1,12 и 24 месеци од трансплантацијата, споредено со средната МФИ на анти-ХЛА-антителата кон Класата I. Исто така МФИ на ДСА кон Класата II е повисока во 1,12 и 24 месеци од трансплантацијата, споредено со МФИ на анти-ХЛА-антителата кон Класа I.

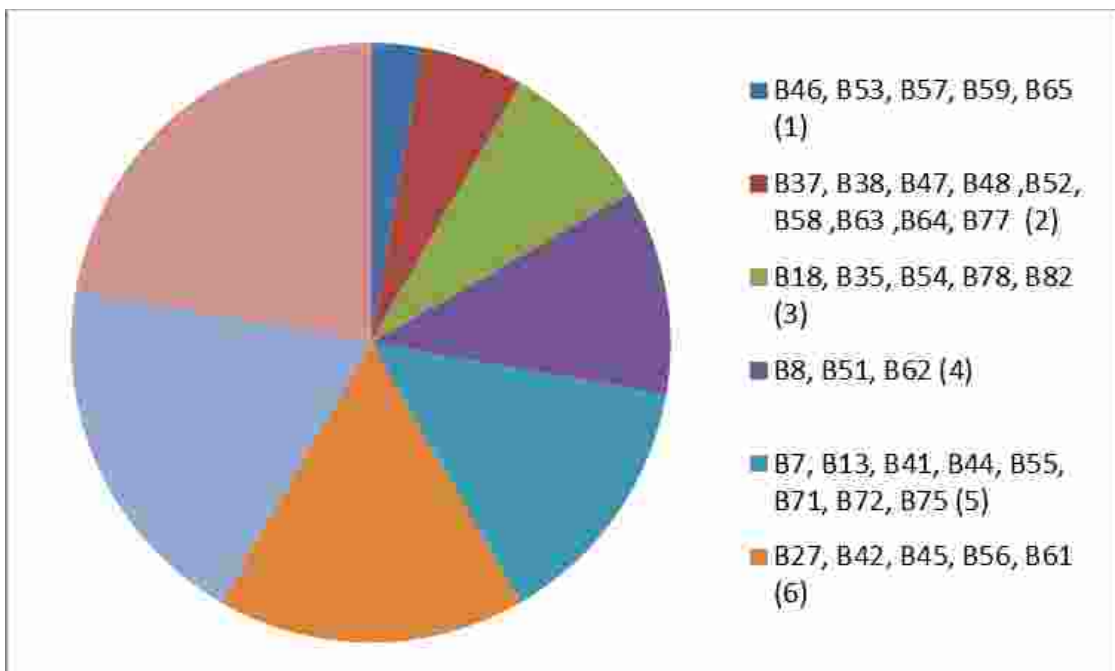


Граф. 4 Дистрибуција на средната МФИ на анти-ХЛА-антителата според класата кон која се насочени и месеците од трансплантацијата

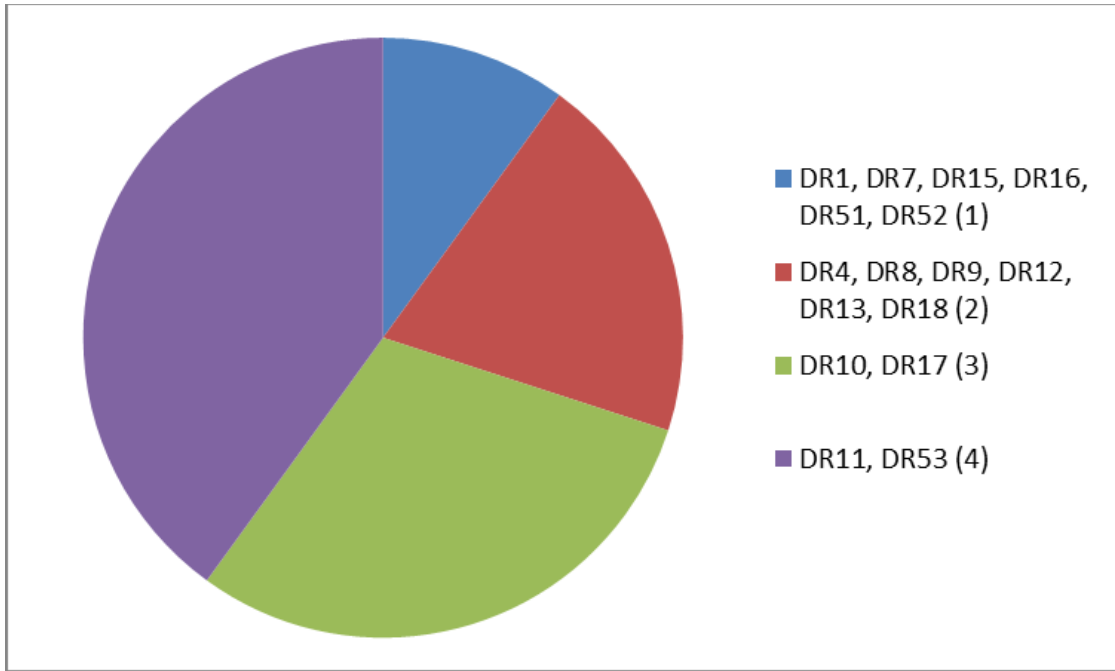
Со методата на САБ беа изолирани видовите на анти ХЛА антитела. Кај 13 пациенти беа детектирани антитела од Класта I и тоа кон ХЛА-A и ХЛА – Б, а кај 9 пациенти антитела од Класата II и тоа кон ХЛА- ДР, ХЛА- DQ и ХЛА – ДП . Како најчесто изолирани анти ХЛА антитела беа A2 (кај 7 пациенти), B27, B42, B45, B56 и B61 кај 6 пациенти, DR11, DR53 кај 4 пациенти, DQ7 кај 12 пациенти. Граф. 5,6,7, 8 и 9.



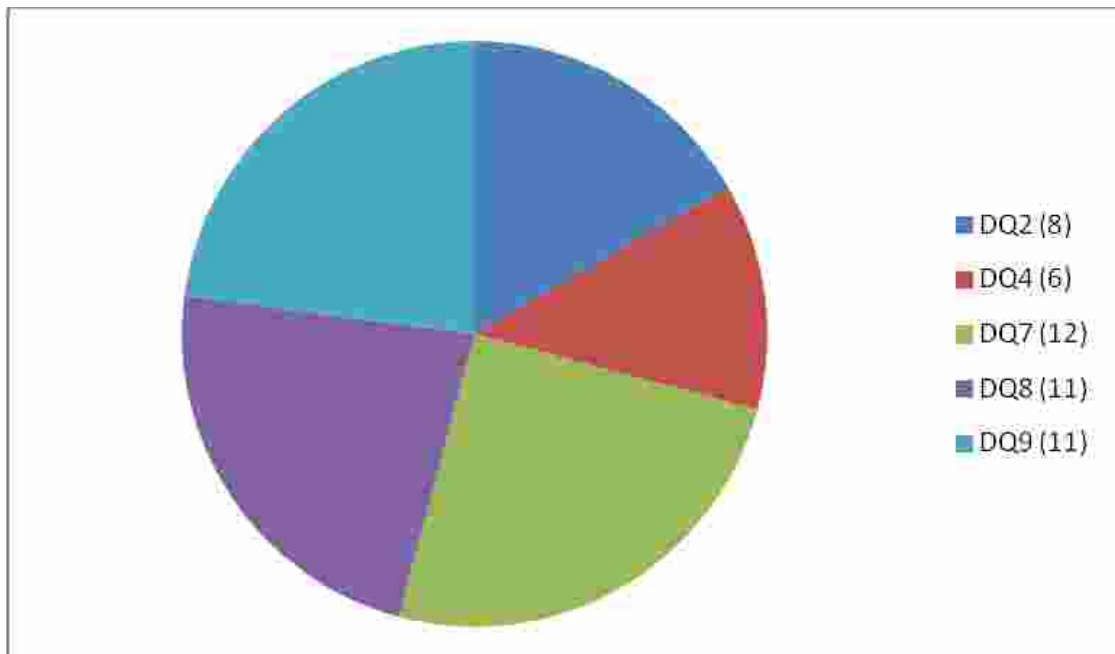
Граф. 5 Честота на изолирани антитела кон ХЛА- А (n= 13)



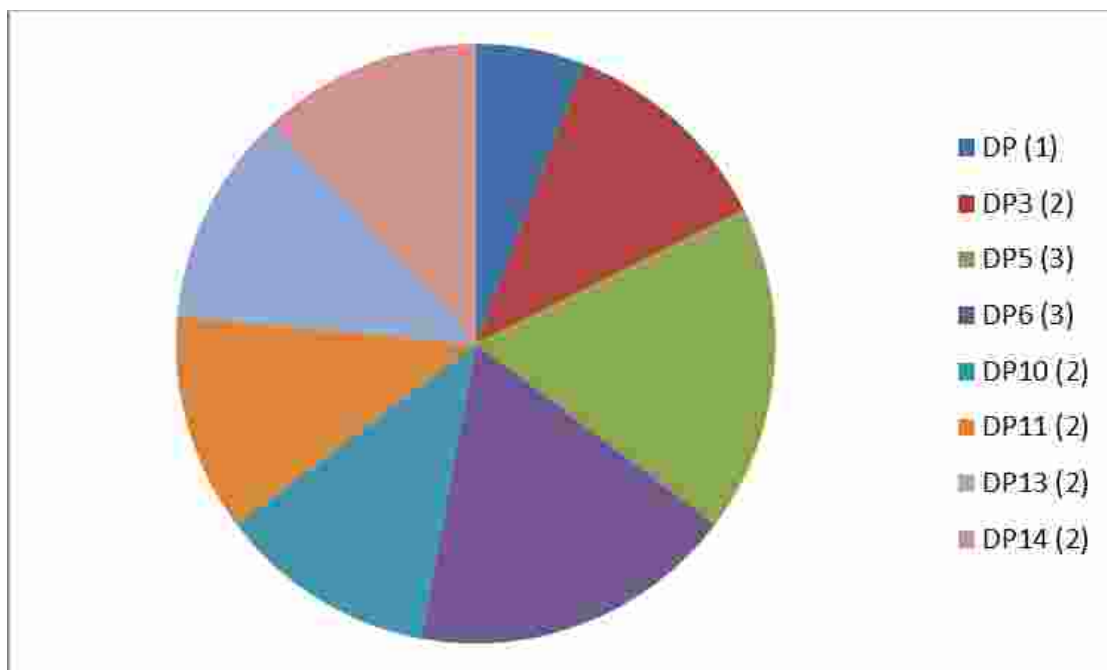
Граф. 6 Честота на изолирани антитела кон ХЛА- Б (n= 13)



Граф. 7 Честота на изолирани антитела кон ХЛА- ДР (n=9)



Граф. 8 Честота на изолирани антитела кон ХЛА- DQ (n=9)



Граф. 9 Честота на изолирани антитела кон ХЛА- DP (n=9)

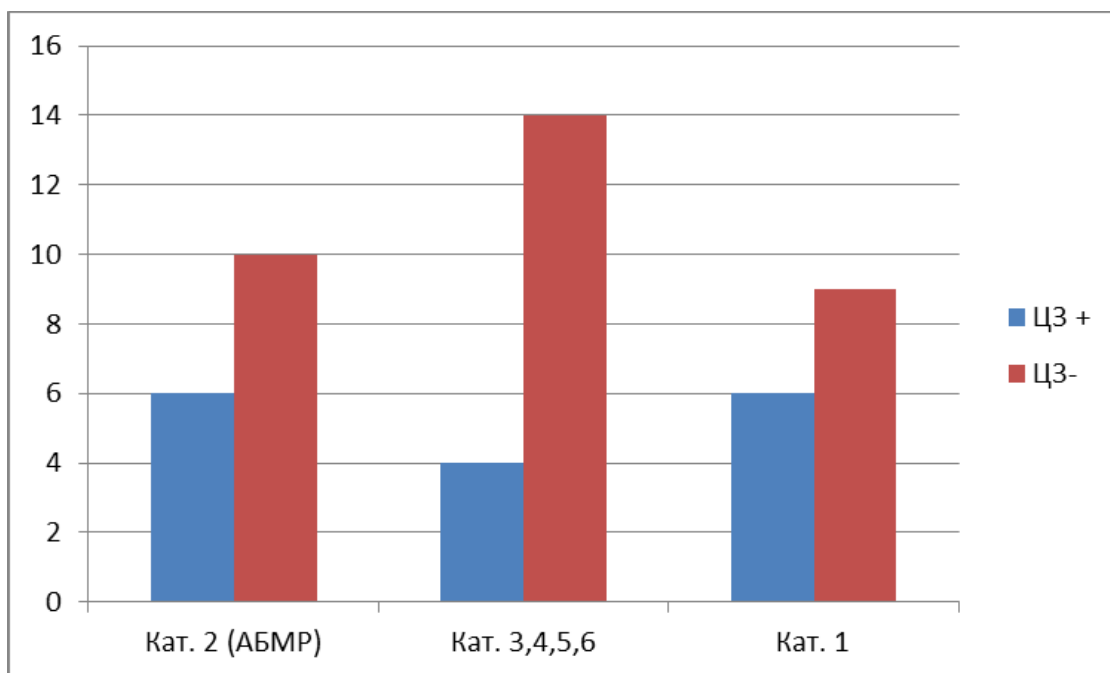
Од сите изолирани антитела, 6 беа ДСА, по 3 од двете класи. Четири од нив, беа од видовите антитела со најголема честота на изолирање. (Табл. 8)

Табл. 8 Вид на изолирани ДСА антитела

	Класа	Вид
1	Класа I	A2, A69
		B44
	Класа II	DR51, DR1
		DQ7

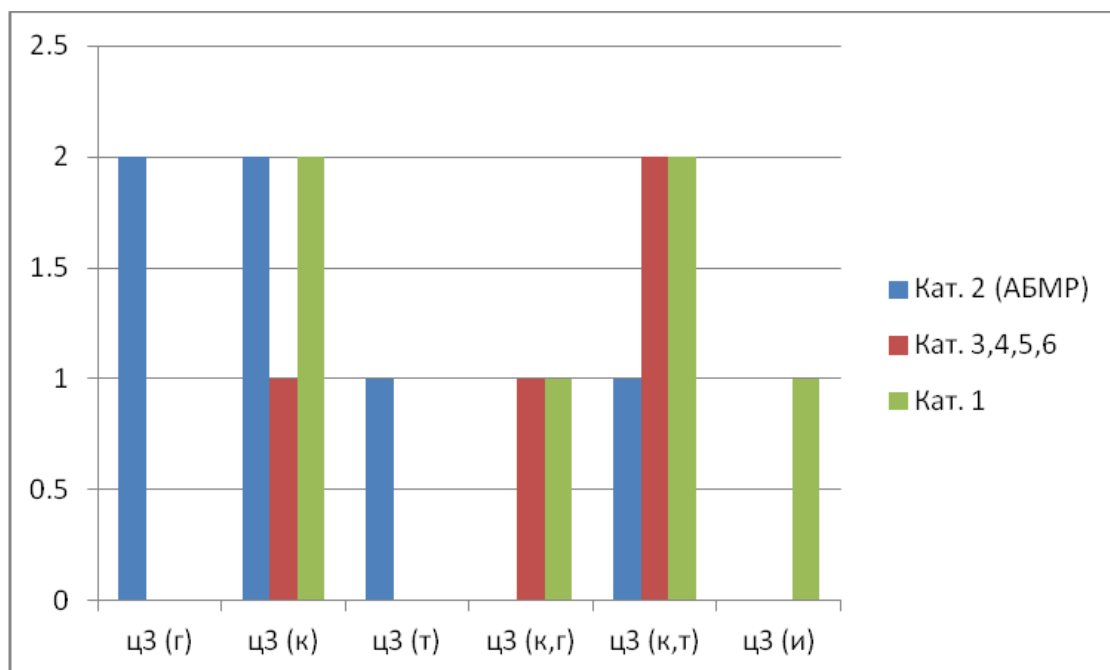
5.2.2 Дескриптивна статистика на патохистолошките промени на графто

На 12 -от месец од трансплантацијата, кај сите пациенти беше направена биопсија на графто . Кај двајца, немаше доволно материјал за анализа на истиот. При анализа на ткивото со имунофлуоресценција, кај 9 пациенти беа најдени значајни депозити на Ц3 > 2. (Граф.10)



Граф. 10 Дистрибуција на Ц3 комплемент на ИФ, според категориите по Банфф (n=49)

Депозицијата на Ц3 комплементот кај пациентите со категорија 2 според Банфф (АБМР), беше во гломерулите, крвните садови и тубулите, додека за другите категории според Банфф класификацијата беа најдени депозити на Ц3 во крвните садови и тубулите, но не и во гломерулите. (Граф. 11)



Граф. 11 Анализа на место на депозиција на Ц3 комплементот

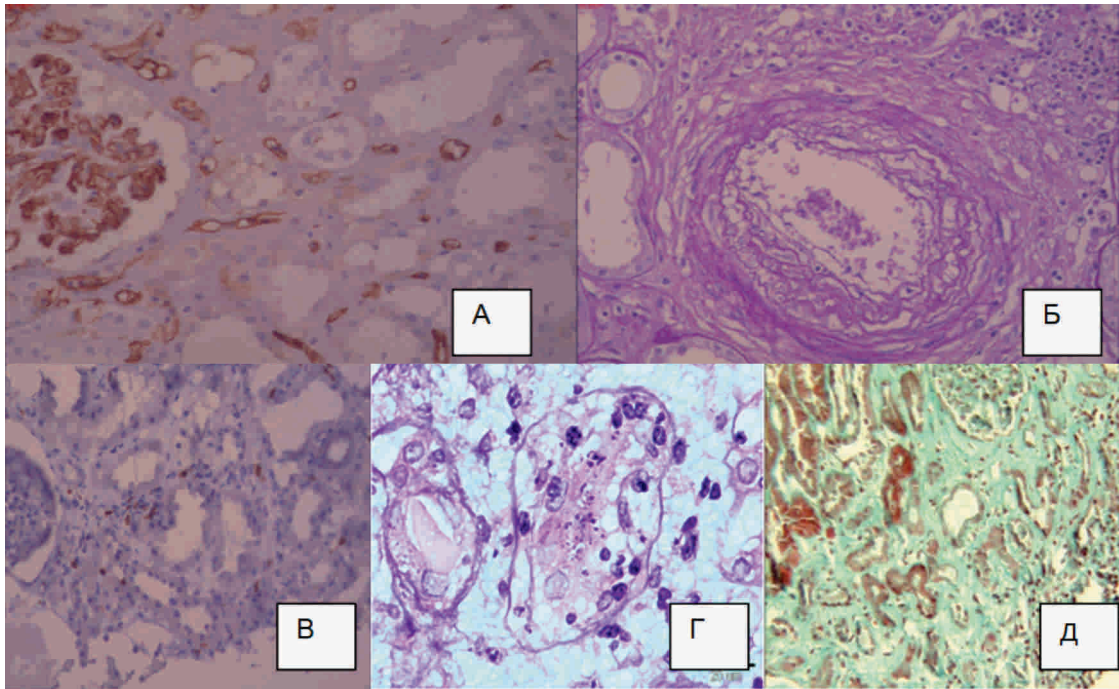
При патохистолошката анализа на ткивото од графтоот, кај 34 пациенти беа најдени промени според Vanff класификацијата од сите категории, како и мешани наоди од истите. Само 1 случај беше категоризиран како чиста категорија 2 (АБМР). При анализа на останатите пациенти кои припаднаа во категоријата “мешани наоди” се детектираа дополнителни 15 пациенти кои во патохистолошкиот наод имале елементи на АБМР. (Табл. 9)(Табл. 10)

Табл. 9 Категоризација на биопсиите според опреснета Vanff 2013 класификација (n=49)

Дијагностичка категорија по Vanff	n	%
Нормален наод (категија 1)	16	32
Чиста АБМР (категија 2)	1	2
Гранично Т-клеточно отфрлање (категија 3)	5	10
Т-клеточно отфрлање (категија 4)	1	2
ИФ/ТА (категија 5)	5	10
Останати (категија 6)	5	10
Мешани	17	34

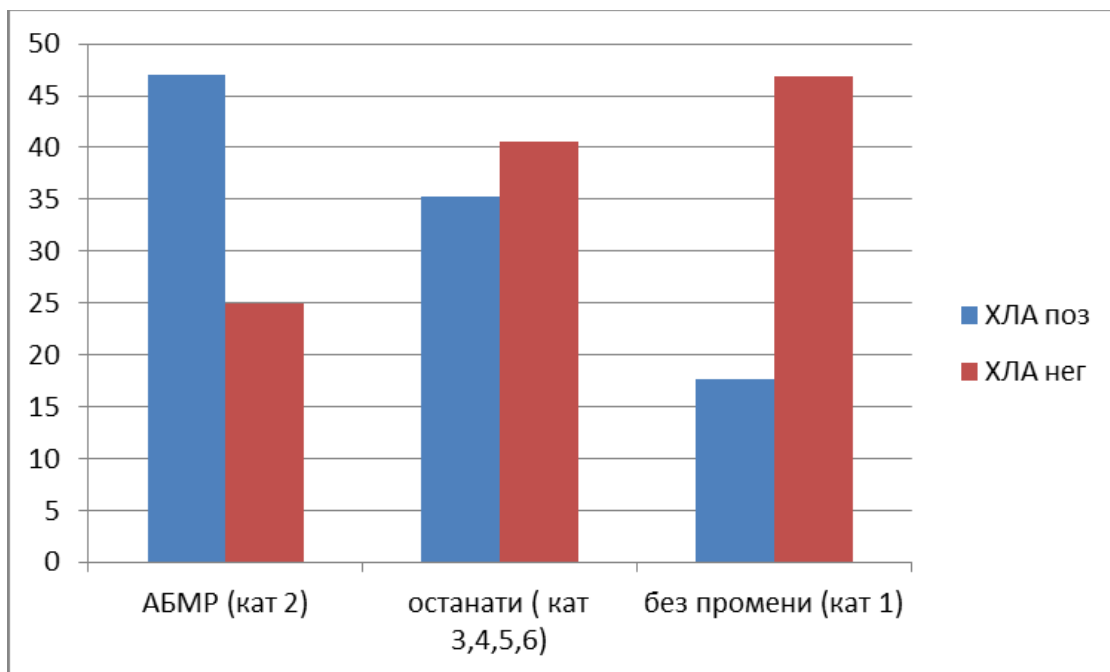
Табл. 10 Анализа на категоријата “мешани наоди” (n=17)

Категорија	n	%
АБМР (кат 2) + ИФ/ТА (кат 5)	7	41
АБМР (кат 2) + БЛ (кат 3)	1	5
АБМР (кат 2) + БЛ (кат 3) + ИФ/ТА (кат 5)	5	29
БЛ (кат 3) + ИФ/ТА (кат 5)	2	11
АБМР (кат 2) + ТЦМР (кат 4)	1	5
ТЦМР (кат 4) + ИФ/ТА	1	5



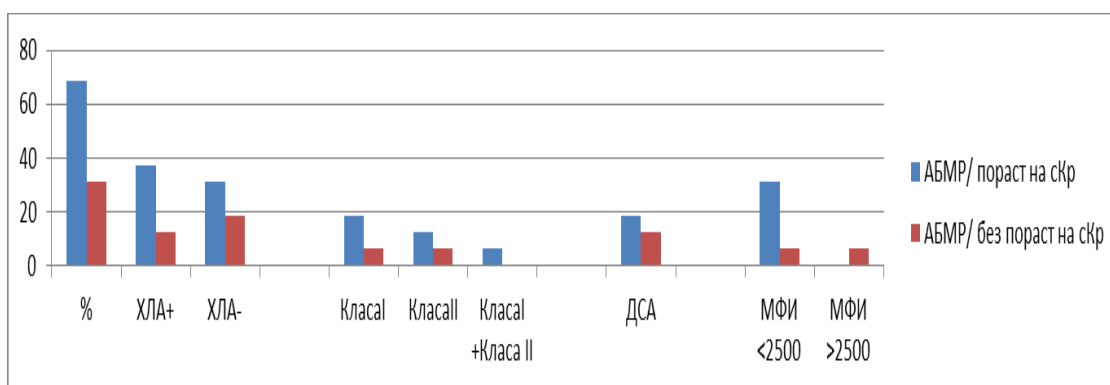
Слика 1. А. ЦД4 позитивно имунобоење во перитубуларните капилари при АБМР. Б. Хронична алогографт вакуларопатија (артериски крвен сад со фиброинтимално задебелување). Ц. ЦД3 имунобоење за Т клетките при акутно целуларно отфрлање. Д. Акутно целуларно отфлање- тубулоинтерстицијално- градус 1а: (блага инфилтрација на интерстициумот и фокуси на глаг тубулитис/> 4 клетки на пресек на тубул. Е.Трихром Мејсон хистохемиско боење: Интерстицијална фиброза кај Хронична алогографт нефропатија.

Анти-ХЛА-антитела беа детектирани кај 47.05% од пациентите со категорија 2 (АБМР, кај 35,29% од пациентите со наоди од категориите 3,4,5 и 6 , но и кај 17.64 % од пациентите без промени . (Граф. 12)



Граф. 12 Дистрибуција на анти-ХЛА-антитела во класите на патохистолошките наоди според Vanff класификацијата (%)

Кај 11 (68.78 %) пациенти со промени на ткивото на графто од класата 2 (АБМР), беше детектирано влошување на серумскиот креатинин. Од нив 6 (37.5%) имале детектирани анти-ХЛА-антитела и тоа 18.75% од Класата I, со вкупна МФИ за сите анти-ХЛА-антитела > 2500. (Граф 13)



Граф. 13 Дистрибуција на анти-ХЛА-антителата, кај пациенти со АБМР со и без пораст на серумскиот креатинин (%)

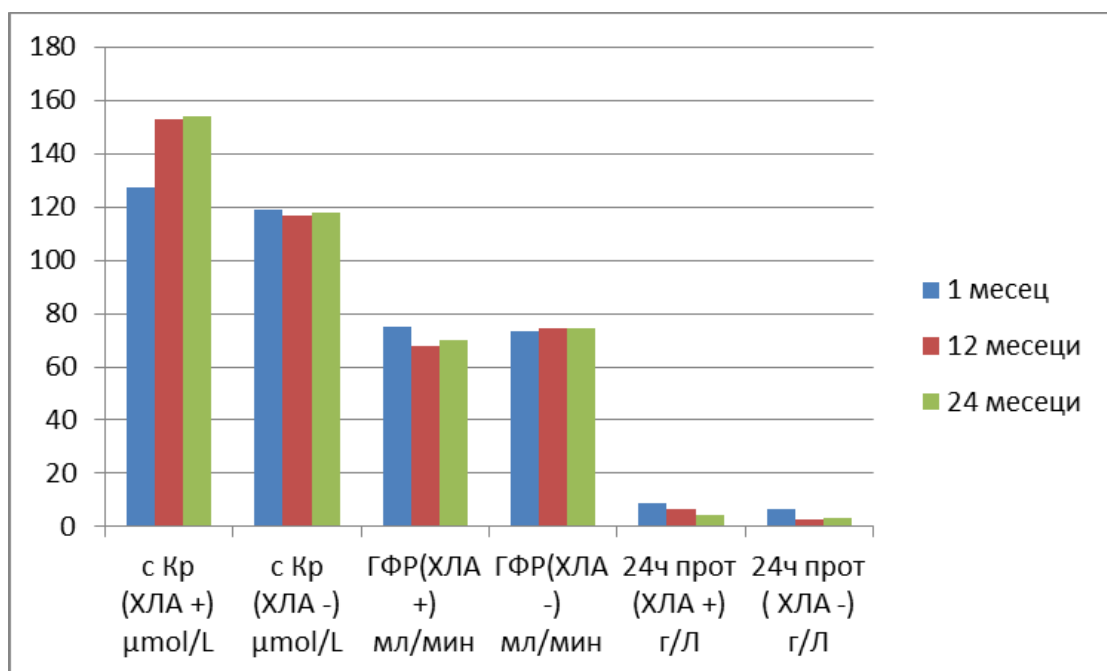
5.3 Анализа на наодите показатели на функцијата на трансплантираниот бубрег и анти-ХЛА-антителата

5.3.1 Анализа на наодите во однос на анти-ХЛА-антитела

На 12 месеци од трансплантацијата, 17 (33.33%) имаа појава на анти ХЛА антитела и беа означени како група ХЛА + (позитивни), додека останатите 34 (66.67%), немаа анти ХЛА антитела и беа означени како ХЛА – (негативни).

5.3.1 а. Анализа на параметрите на функцијата на графот на 1,12 и 24 месеци од трансплантацијата и анти ХЛА антителата

На 12 месеци од трансплантацијата средните вредности за серумскиот креатинин, ГФР и 24 часовната протеинурија кај ХЛА + и ХЛА – пациенти беа (152.88 $\mu\text{mol/L}$, 67.59 мл/мин, 0.64 г/Л в.с 116.68 $\mu\text{mol/L}$, 74.67 мл/мин, 0.72 г/Л) (Граф. 14)



Граф. 14 Дистрибуција на параметрите за функцијата на графот кај ХЛА + и ХЛА – пациенти, според месеците од трансплантација

5.3.1 б. Анализа на ХЛА + и ХЛА- групи пациенти на 12 и 24 месеци од трансплантацијата

Постојат статистички сигнификантни разлики помеѓу ХЛА+ и ХЛА- пациенти, во однос на вредностите за сКр <109 и >109 $\mu\text{mol/L}$ ($p=0,016$) и 24ч протеинурија ($p=0,026$) (Табл. 11, Табл. 12)

Табл. 11 Разлики во присуството на анти-ХЛА-антитела во однос на вредностите за серумски креатинин на 12 месеци од трансплантацијата

сКр на 12 месец од трансплатација	анти-ХЛА-антитела			p value
	н	позитивни н (%)	негативни н (%)	
<109 $\mu\text{mol/L}$	21	3 (17.65)	18 (52.94)	0.016
>109 $\mu\text{mol/L}$	30	14 (82.35)	16 (47.06)	
вкупно	51	17	34	

Chi-square test= 5,83 df=1 $p=0,0158$

Табл. 12 Разлики во присуството на анти-ХЛА-антитела во однос на квалитативното присуство на 24ч протеинурија на 12 месеци од трансплантацијата

24-час. протеинурија на 12 месец од трансплатација	анти-ХЛА-антитела			p value
	н	позитивни н (%)	негативни н (%)	
< 0.07 (g/L)	20	3 (17.65)	17 (50)	0.026
> 0.07 (g/L)	31	14 (82.35)	17 (50)	
вкупно	51	17	34	

Chi-square test= 4,98 df=1 $p=0,0257$

Видот на калцинеурински инхибитор, како еден од факторите кои можат да влијаат на создавањето на анти- ХЛА- антитела, покажа значајна разлика меѓу ХЛА+ и ХЛА – пациенти ($p=0.042$), додека видот на индукционата терапија гранична разлика ($p=0.062$) Табл. 13 Табл. 14

Табл. 13 Разлики во присуството на анти-ХЛА-антитела во однос на видот на калцинеурински инхибитор на 12 месеци од трансплантацијата на бубрег

Терапија на одржување на 12 месец од трансплатација	анти-ХЛА-антитела			p value
	n	позитивни n (%)	негативни n (%)	
Циклоспорин А	20	10 (58.82)	10 (29.41)	0.042
Такролимус	31	7 (41.18)	24 (70.59)	
вкупно	51	17	34	

Chi-square test= 4,11 df=1 p=0,0426

Табл.14 Разлики во присуството на анти-ХЛА-антитела на 12 месеци од трансплантацијата, во однос на видот на индукциона терапија

индукциона терапија	анти-ХЛА-антитела			p value
	n	позитивни n (%)	негативни n (%)	
Базиликсимаб	33	14 (82.35)	19 (55.88)	0.062
АТГ	18	3 (17.65)	15 (44.12)	
вкупно	51	17	34	

Chi-square test= 3,48 df=1 p=0,062

5.3.2 Анализа на наодите од патихистолошката проценка и категоризација по Vanff класификацијата

Резултатите покажаа значајни разлики во класите на промени на ткивото по Vanff класификацијата, со однос на видот на калцинеурински инхибитор ($p= 0,013$). Додека истите промени, во однос на присуството на анти-ХЛА-антитела од различни класи покажа несигнификантна разлика ($p= 0,065$). (Табл. 15, Табл. 16).

Табл. 15 Разлики во видот на промени според категориите од Vanff класификацијата во однос на видот на калцинеурински инхибитор на 12 месеци од трансплантацијата

Терапија на одржување на 12 месец од трансплатација	Vanff				p value
	n	Кат2 (АБМР) n (%)	Кат 3,4,5,6 n (%)	Кат 1 n (%)	
Циклоспорин А	10	6 (37.5)	0	4 (25)	0.013
Такролимус	39	10 (62.5)	17(100)	12 (75)	
вкупно	49	16	17	16	

p (Fisher exact test)

Табл. 16 Разлики во видот на промени според категориите од Banff класификацијата во однос на класите на анти-ХЛА-антитела на 24 месеци од трансплантацијата

Класа на анти-ХЛА-антитела на 24 месец од трансплатација	Banff				p value
	n	Кат 2 (АБМР) n (%)	Кат 3,4,5,6 n (%)	Кат 1 n (%)	
нема детектирани антитела	32	8 (61.54)	11 (73.33)	13 (86.67)	0.065
класа I	4	0	2 (13.33)	2 (13.33)	
класа II	4	2 (15.38)	2 (13.33)	0	
класа I + класа II	3	3 (23.08)	0	0	
вкупно	43	13	15	15	

p (Fisher exact test)

5.3.3 Анализа на наодите во однос на серумскиот креатинин

Постои разлика, но блиску до значајна, за вредностите на сКр на 12 месеци од трансплантацијата, во однос на текот и опоравувањето на бубрежната функција (p= 0.064) (Табл. 17)

Табл. 17 Разлики во вредностите за сКр, во однос на опоравувањето на бубрегот непосредно после трансплантацијата

Опоравување на функцијата на бубрегот непосредно по трансплатација	сКр на 12 месеци од трансплантација			p value
	n	< 109 (µmol/L) > 109 (µmol/L)		
		n (%)	n (%)	
добра	37	19 (90.48)	18 (60)	0.064
ДГФ (одложена функција)	4	0	4 (13.33)	
СО (споро опоравување)	10	2 (9.52)	8 (26.67)	
вкупно	51	21	30	

p (Fisher exact test)

Резултатите покажаа значајни разлики за серумскиот креатинин, во зависност од детектираните анти ХЛА антитела, во ЛАБмикс анализата за скрининг за антитела кон Класатан I (p= 0,029) . (Табл. 18)

Табл. 18 Разлики на серумскиот кретинин во однос на ЛАБмикс анализата на антителата од Класа I на 12 месеци од трансплантацијата

Анти ХЛА антитела од класа I на 12 месец од трансплатација	Серумски кретинин на 12 месец			p value
	n	< 109 ($\mu\text{mol/L}$) n (%)	> 109 ($\mu\text{mol/L}$) n (%)	
<5	38	19 (90.48)	19 (63.33)	0.029
>5	13	2 (9.52)	11 (36.67)	
вкупно	51	21	30	

Chi-square test= 4,79 df=1 p=0,028

Пациентите кои имаа клинички презентирано отфрлање, со потреба од терапија имаа значајна разлика во серумскиот кретинин, во однос на тие што немаа ($p=0,033$) (Табл. 19)

Табл. 19 Разлики во серумскиот кретинин, во однос на присуството на клинички презентирано акутно отфрлање

клинички презентирано акутно отфрлање, лекувано во текот на следењето	Серумски кретинин на 12 месец			p value
	n	< 109 ($\mu\text{mol/L}$) n (%)	> 109 ($\mu\text{mol/L}$) n (%)	
нема	44	21 (100)	23 (76.67)	0.033
има	7	0	7 (23.33)	
вкупно	51	21	30	

p (Fisher exact test)

Резултатите покажаа значајна разлика за сКр на 12 и 24 месеци, во однос на квалитативното присуство на 24ч протеинурија ($p=0,011$ и $p=0,01$), соодветно. (Табл. 20 Табл. 21)

Табл. 20 Разлики на серумскиот кретинин на 12 месеци во однос на 24ч протеинурија на 12 месеци од трансплантацијата.

24-час. протеинурија на 12 месец	Дескриптивна статистика (сКр на 12 месец од				p value
	n	mean \pm SD	median	IQR	
<0.07(g/L.)	20	108.8 \pm 36.4	99.5	86 – 113.5	0.011
>0.07(g/L)	31	141.61 \pm 67.4	128	105 – 156	

p (Mann-Whitney U Test)

Табл. 21 Разлики на серумскиот креатинин на 24 месеци во однос на 24ч протеинурија на 12 месеци од трансплантацијата.

24-час. протеинурија на 12 месец	Дескриптивна статистика (сКр на 24				p value
	n	mean ± SD	median	IQR	
<0.07(g/L)	20	107.35 ± 41.5	91	82 – 122	0.01
>0.07(g/L)	28	144.57 ± 58.1	131.5	104 – 173	

p (Mann-Whitney U Test)

Сигнификатна беше и разликата за вредностите на серумскиот креатинин за 24 месеци од трансплантацијата во однос на задоволителноста за ГФР на 12 месеци од трансплантацијата. (Табл. 22)

Табл. 22 Разлики за вредностите за сКр на 24 месеци од трансплантацијата во однос вредноста за ГФР на 12 месеци.

ГФР на 12 месец	Дескриптивна статистика (сКр на 24				p value
	n	mean ± SD	median	IQR	
< 55 (ml/min)	11	166.18 ± 65.0	147	130 – 210	0.009
> 55 (ml/min)	37	118.03 ± 46.6	101	82 – 137	

p (Mann-Whitney U Test)

5.3.4 Анализа на наодите во однос на гломеруларната филтрациона рата

Анализата на ГФР, покажаа значајни разлики помеѓу вредностите на 1 и 12 месец од трансплантацијата, но и 12 и 24 месец од трансплантацијата (p= 0,0002 и p= 0,0001), соодветно. (Табл. 23, Табл. 24)

Табл. 23 Разлика во вредностите за ГФР на 1 и 12 месеци од трансплантацијата

ГФР на 1 месец од трансплатација (ml/min)	ГФР на 12 месец			p value
	n	< 55 (ml/min) n (%)	> 55 (ml/min) n (%)	
< 55 ml/min	13	9 (64.29)	4 (10.81)	0.0002
> 55 ml/min	38	5 (35.71)	33 (89.19)	
вкупно	51	14	37	

p (Fisher exact test)

Табл. 24 Разлики за вредностите за ГФР на 12 и 24 месеци од трансплантацијата

ГФР на 12 месец	Дескрптивна статистика (ГФР на 24				p value
	n	mean ± SD	std err	min - max	
< 55 (ml/min)	11	42.96 ± 11.5	3.471	22.9 – 55.6	0.0001
> 55 (ml/min)	37	81.84 ± 29.6	4.869	31.6 – 148	

P (Student t-test)

Стапката на гломеруларна филтрациона рата на 12 месеци, покажа значајна разлика во однос на вредностите за серумскиот креатинин на 1 и 12 месеци од трансплантацијата ($p=0,015$ и $p=0,00001$), соодветно. (Табл. 25, Табл. 26)

Табл. 25 Разлика на ГФР на 12 месеци од трансплантацијата во однос на сКр на 1 месец

сКр на 1 месец од трансплатација	ГФР на 12 месец			p value
	n	< 55 (ml/min)	> 55 (ml/min)	
		n (%)	n (%)	
<109 ($\mu\text{mol/L}$)	25	3 (21.43)	22 (59.46)	0.015
>109 ($\mu\text{mol/L}$)	26	11 (78.57)	15 (40.54)	
вкупно	51	14	37	

Chi- squire test= 4,1 df= 1 $p=0,015$

Табл. 26 Разлика на ГФР на 12 месеци од трансплантацијата во однос на сКр на 12 месец

сКр 12 месец	Дескрптивна статистика (ГФР на 12				p value
	n	mean ± SD	std err	min - max	
< 109 ($\mu\text{mol/L}$)	21	88.69 ± 19.2	4.184	48.96 – 116.57	0.00001
> 109 ($\mu\text{mol/L}$)	30	60.84 ± 16.3	2.977	35.6 – 93.4	

p (Student t-tests)

Резултатите покажаа значајна разлика на ГФР на 12 и 24 месеци од трансплантацијата, во однос на квалитативното присуство на 24ч протеинурија

($p=0,015$ и $p=0,00001$), соодветно. (Табл. 27 Табл. 28)

Табл. 27 Разлики во вредностите за ГФР со однос на квалитатвното присуство на 24ч протеинурија на 12 месеци од трансплантацијата

24-час. протеинурија на 12 месец	Дескрптивна статистика ГФР на 12 месец од трансплатација (ml/min)				p value
	n	mean ± SD	std err	min - max	
<0.07(g/L.)	20	80.03 ± 23.1	5.177	37.9 – 116.57	0.044
>0.07(g/L.)	31	67.33 ± 20.4	3.665	35.6 – 110	

p (Student t-tests)

Табл. 28 Разлики во вредностите за ГФР со однос на квалитатвното присуство на 24ч протеинурија на 12 месеци од трансплантацијата

24-час. протеинурија на 12 месец	Дескрптивна статистика (ГФР на 24 месец од трансплатација (ml/min)				p value
	n	mean ± SD	std err	min - max	
<0.07(g/L)	20	84.73 ± 31.9	7,154	33.9 – 148	0.025
>0.07(g/L)	28	64.49 ± 28.2	5,331	22.9 – 120.5	

p (Student t-tests)

Стапката на ГФР на 12 месеци од трансплантацијата, значително се разликување за присуството на анти ХЛА антитела при ЛАБскрин анализата за за Класа I антитела (p= 0,027) и за присуството на антителата од различни класи (p= 0,049). ГФР исто така значајно се менува при клинички манифестно акутно отврлање со потреба од терапија (p= 0.00098) (Табл. 29, Табл. 30, Табл. 31)

Табл. 29 Разлики на ГФР во однос на присуството на анти-ХЛА-антите во ЛАБмикс анализата за Класа I на 12 месеци од трансплантација

ХЛА антитела класа I на 12 месец од трансплатација	ГФР на 12 месец			p value
	n	< 55 (ml/min)	> 55 (ml/min)	
		n (%)	n (%)	
< 5	38	7 (50)	31 (83.78)	0.27
>5	13	7 (50)	6 (16.22)	
вкупно	51	14	37	

p (Fisher exact test)

Табл. 30 Разлики за ГФР во однос на класите анти ХЛА антитела на 12 месеци од трансплантацијата.

анти-ХЛА-антитела на 12 месец од трансплатација	ГФР на 12 месец			p value
	n	< 55(ml/min)	> 55 (ml/min)	
		n (%)	n (%)	
нема детектирани антитела	34	8 (57.14)	26 (70.27)	0.049
класа I	8	2 (14.29)	6 (16.22)	
класа II	6	1 (7.14)	5 (13.51)	
класа I + класа II	3	3 (21.43)	0	
вкупно	51	14	37	

p (Fisher exact test)

Табл. 31 Разлики за ГФР во однос на класите анти ХЛА антитела на 12 месеци од трансплантацијата

клинички презентирано акутно отфрлање, лекувано со соодветна терапија	ГФР на 12 месец			p value
	n	<55(ml/min)	> 55(ml/min)	
		n (%)	n (%)	
нема	44	8 (57.14)	36 (97.3)	0.00098
има	7	6 (42.86)	1 (2.7)	
вкупно	51	14	37	

p (Fisher exact test)

5.3.5 Анализа на податоците во однос на 24ч протеинурија

Нашите резултати покажаа разлики за 24ч протеинурија во однос на сКр на 12 и 24 месеци од трансплантацијата (p= 0,00093 и p= 0,025) соодветно (Табл.32 Табл. 33)

Табл. 32 Разлики помеѓу вредностите за 24ч протеинурија и сКр на 12 месеци од трансплантацијата

сКр на 12 месец	Дескриптивна статистика (24-час. протеинурија на 12 месец од трансплатација)				p value
	n	mean ± SD	median	IQR	
< 109 (µmol/L)	21	0.14 ± 0.1	0.07	0.07 – 0.15	0.00093
> 109 (µmol/L)	30	0.58 ± 0.6	0.435	0.08 – 0.9	

p (Mann-Whitney U Test)

Табл. 33 Разлики за квалитативно присуство на 24ч протеинурија

сКр на 24 месец од трансплатација	24-час. протеинурија на 12 месец			p value
	n	<0.07(g/L) n (%)	>0.07(g/L) n (%)	
<109 (µmol/L)	22	13 (65)	9 (29.03)	0.025
>109 (µmol/L)	29	7 (35)	22 (70.97)	
вкупно	51	20	31	

Chi-square test= 6,4, df=1 p=0,0113

Квалитативното присуство на 24ч протеинурија , покажа значајни разлики во однос на присуството на анти-ХЛА-антителата воопшто, но и за присуството на антитела од Класа I при ЛАБскрин анализата на 12 месеци од трансплантацијата (p= 0,016 и p= 0,041) соодветно. (Табл. 34, Табл.35)

Табл. 34 Разлики во квантитативните вредностите за 24ч протеинурија, во однос на присуството на анти-ХЛА-антитела

анти-ХЛА -антитела	Descriptive Statistics (24-час. протеинурија на 12 месец од трансплатација)				p value
	n	mean ± SD	median	IQR	
	позитивни	17	0.64 ± 0.6	0.4	
негативни	34	0.27 ± 0.4	0.075	0.07 - 0.32	

Z (Mann-Whitney U Test)

Табл. 35 Разлики во квалитативното присуство на 24ч протеинурија во однос на присуството на анти-ХЛА-антитела од класата I на 12 месеци од трансплантацијата при ЛАБмикс анализата

анти-ХЛА-антитела класа I на 12 месец од трансплатација	24-час. протеинурија на 12 месец			p value
	n	<0.07(g/Dlu.) n (%)	>0.07(g/Dlu.) n (%)	
<5	38	18 (90)	20 (64.52)	0.041
>5	13	2 (10)	11 (35.48)	
вкупно	51	20	31	

Chi-square test= 4,16 df=1 p=0,0415

Резултатите покажаа значајна разлика и на 24ч протеинурија во 1 месец од трансплантацијата, со наодот на Ц3 комплемент при имунофлуоресцентна процена на ткивото од биопсијата на бубрегот. (Табл. 36)

Табл. 36 Разлики помеѓу наодите на имунофлуоресцентната проценка и квантитативното присуство на 24ч протеинурија.

ИФ наод Ц3>2	Descriptive Statistics (24-час. протеинурија на 1 месец од трансплатација)				p value
	n	mean ± SD	median	IQR	
	има	16	1.24 ± 1.3	0.85	
нема	33	0.51 ± 0.5	0.4 0.85	0.16 – 0.7 0.3 – 1.745	

Z (Mann-Whitney U Test)

Присуството на 24ч протеинурија исто така се разликуваше и во однос на класите според Vanff класификацијата ($p=0,037$) како и за наодот на класа 2 (АБМР) ($p=0,037$) (Табл. 37 Табл. 38)

Табл. 37 Разлики во однос на квалитативното присуство на 24ч протеинурија во однос на категориите по класификацијата на Vanff

категории по Vanff	24-час. протеинурија на 12 месец			p value
	n	<0.07(g/Dlu.) n (%)	>0.07(g/Dlu.) n (%)	
	1	15	8 (42.11)	
2	1	1 (5.26)	0	
5	2	2 (10.53)	0	
6	2	0	2 (6.67)	
7 (мешани)	29	8 (42.11)	21 (70)	
вкупно	49	19	30	

p (Fisher exact test)

Табл. 38 Разлики во квантитативното присуство на 24ч протеинурија, помеѓу прупите со категорија 2 (АБМР), останатите категории и категоријата 1.

Banff категории	Descriptive Statistics (24-час. протеинурија на 12 месец од трансплатација)				p value
	n	mean ± SD	median	IQR	
	Кат 2 (АБМР)	16	0.52 ± 0.5	0.395	
Кат 3,4,5,6	17	0.54 ± 0.6	0.19	0.07 – 0.95	
Кат 1	16	0.16 ± 0.2	0.07	0.07 – 0.23	

P (Kruskal- Wallis)

Резултатите покажаа значајна разлика на квалитативното присуство на 24ч протеинурија во однос на видот на калцинеурински инхибитор. (Табл. 39)

Табл. 39 Разлики во квалитативното присуство на 24ч протеинурија во однос на видот на калцинеурински инхибитор

Вид на калцинеурински инхибитор на 12 месец од трансплатација	24-час. протеинурија на 12 месец			p value
	n	<0.07(g/L) n (%)	>0.07(g/L) n (%)	
	Циклоспорин А	20	4 (20)	
Такролимус	31	16 (51.61)	15 (48.39)	
вкупно	51	20	31	

Chi-square test= 5,01 df=1 p=0,024

5.4 Анализа на фактори на предикција

5.4.1 Регресиона Анализа за зависна варијабла сКр

Во Униваријантната Линеарна Регресиона анализа, како предиктивни фактори за серумскиот креатинин се покажаа: возраста на донорот ($p=0.031$), спорото опоравување на функцијата на бубрегот непосредно по трансплантација ($p=0.005$), ДСА антителиа ($p<0.001$), и антителиа за сите класи со вредности за МФИ сите >2500 ($p=0.025$). (Табл. 40)

Табл. 40 Униваријантна Линеарна Регресиона Анализа за зависна варијабла сКр

Униваријантна Линеарна Регресиона Анализа				
Варијабла	Unstandardized		95.0 % C.I. for EXP(B)	
	Coefficients (B)	p - value	Lower B.	Upper B.
пол	-15.795	0.4	-53.181	21.59
возраст	1.005	1.408	-0.43	2.441
трансфузија	25.477	0.209	-14.724	65.678
ИТМ >29.0	30.806	0.095	-5.518	67.129
ИТМ < 25.0	-9.694	0.671	-55.228	35.839
пушач	-30.043	0.079	-63.716	3.631
донор пол	20.063	0.241	-13.874	54
донор возраст	1.57	0.031	0.152	2.988
донор коморбидитет	23.564	0.191	-12.138	59.265
Несовпаѓање 1	-9.964	0.578	-45.76	25.832
Несовпаѓање 2	-6.04	0.838	-65.283	53.203
индукциона терапија	-24.505	0.159	-58.962	9.952
ДГФ	37.318	0.205	-21.035	95.67
СО	58.068	0.005	18.554	97.581
Циклоспорин/такролимус 12 месеци	-8.974	0.602	-43.3	25.352
Кат.3,4,5,6	-1.206	0.946	-36.855	34.444
Нон ДСА	9.24	0.6	-25.929	44.409
ДСА	100.924	0	50.756	151.091
МФИ за поединечни класи < 2500	26.712	0.38	-33.919	87.343
МФИ за поединечни класи > 2500	43.212	0.021	6.685	79.739
МФИ за сите класи < 2500	13.574	0.656	-47.257	74.404
МФИ за сите класи > 2500	43.17	0.025	5.643	80.696

Зависна варијабла: серумски креатинин

Варијаблите кои се покажаа како сигнификантни фактори во предикција на серумскиот креатинин, беа аналиизрани со методот на Мултиваријантна Линеарна регресиона анализа. Резултатите од оваа анализа како независни сигнификантни предиктори ги потврдија: спорото опоравување на функцијата на бубрегот непосредно по трансплантација ($p=0.001$) и ДСА антителата ($p<0.001$) (табл. 41)

Во овој модел, вредноста на Adjusted R square од 0.452 покажува дека овие варијабли објаснуваат 45.2% од варијабилитетот на зависната варијабла креатинин во плазма.

Табл. 41 Мултиваријантна Линеарна Регресиона Анализа за зависна варијабла СКр

Мултиваријантна Линеарна Регресиона Анализа							
Adjusted R square = 0.452							
Варијабла	Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients Beta	t	p-value	95.0 % C.I. for EXP(B)	
	B	Std. Error				Lower B.	Upper B.
Constant	39.801	34.967		1.138	0.261	-30.765	110.368
—	1.063	0.598	0.205	1.778	0.083	-0.144	2.269
ДГФ 1	35.723	25.037	0.164	1.427	0.161	-14.804	86.251
СО 2	55.569	15.904	0.377	3.494	0.001	23.474	87.665
ДСА	105.490	26.214	0.536	4.024	0.000	52.588	158.391
МФИ за поединечни класи < 2500	101.157	62.214	0.465	1.611	0.115	-25.548	227.862
МФИ за поединечни класи > 2500	67.987	45.033	0.518	1.510	0.139	-22.893	158.867
МФИ за сите класи < 2500	-98.215	62.715	-0.451	-1.566	0.125	-224.780	28.349
МФИ за сите класи > 2500	-58.071	47.313	-0.432	-1.227	0.227	-153.551	37.410

Зависна варијабла: серумски креатинин

5.4.2 Регресиона анализа за зависна варијабла 24ч протеинурија

Во Униваријантната Линеарна Регресиона анализа, како предиктивни фактори за зависната варијабла 24ч протеинурија се покажаа ИТМ > 29,0 ($p= 0,030$), возраста на донорот ($p=0,030$), наодот за АБМР на Vanff класификацијата ($p= 0,029$) како и наодите од категориите 3,4,5,6 од Vanff класификацијата ($p= 0,020$), ДСА ($p= 0,003$), антителата од поединечните класи со МФИ < 2500 и > 2500 ($p= 0,028$ и $p= 0,040$, соодветно). (Табл. 42)

Табл. 42 Униваријантна Линеарна Регресиона Анализа за зависка варијабла 24ч протеинурија

Униваријантна Линеарна Регресиона Анализа				
Варијабла	Unstandardized Coefficients (B)	p - value	95.0 % C.I. for EXP(B)	
			Lower B.	Upper B.
Примател Пол	-0.143	0.363	-0.455	0.170
Промател возраст	0.000067	0.991	-0.012	0.012
трансфузија	0.224	0.185	-0.111	0.560
ИТМ >29.0	0.333	0.030	0.033	0.633
ИТМ < 25.0	0.022	0.906	-0.354	0.398
пушач	-0.081	0.578	-0.371	0.209
донор пол	0.129	0.369	-0.157	0.415
донор возраст	0.013	0.030	0.001	0.025
донор коморбидитет	0.274	0.071	-0.024	0.573
Несовпаѓање 1	0.095	0.522	-0.201	0.390
Несовпаѓање 2	-0.222	0.367	-0.710	0.267
индукциона терапија	-0.268	0.064	-0.552	0.016
ДГФ	0.284	0.269	-0.227	0.796
СО	0.329	0.062	-0.018	0.675
Циклоспорин/ такролимус	-0.052	0.718	-0.340	0.236
Кат. 2АБМР	0.363	0.029	0.038	0.688
Vanff кат. 3,4,5,6	0.383	0.020	0.063	0.703
Нон ДСА	0.222	0.153	-0.085	0.530
ДСА	0.696	0.003	0.257	1.134
МФИ за поединечни класи < 2500	0.560	0.028	0.063	1.057
МФИ за поединечни класи > 2500	0.315	0.040	0.015	0.614
МФИ за сите класи < 2500	0.351	0.168	-0.153	0.854
МФИ за сите класи > 2500	0.365	0.022	0.054	0.675

Зависна варијабла: 24ч протеинурија

Варијаблите кои се покажаа како сигнификантни фактори во предикција на 24ч протеинурија, беа анализрани со методот на Мултиваријантна Линеарна регресиона анализа. Резултатите од оваа анализа како независни сигнификантни предиктори го потврдија само присуството на ДСА ($p=0,035$). (Табл. 43)

Табл. 43 Мултиваријантна Линеарна Регресиона Анализа за зависна варијабла 24ч протеинурија

Мултиваријантна Линеарна Регресиона Анализа Adjusted R square = 0.286							
Варијабла	Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients Beta	t	p - value	95.0 % C.I. for EXP(B)	
	B	Std. Error				Lower B.	Upper B.
Constant	-0.563	0.348		-1.617	0.114	-1.266	0.141
донор возраст	0.012	0.006	0.270	1.969	0.056	0.000	0.024
ИТМ >29.0	0.208	0.144	0.203	1.447	0.156	-0.082	0.498
ИТМ < 25.0	-0.048	0.178	-0.037	-0.270	0.789	-0.408	0.312
Vanff кат. 2 (АБМР)	0.090	0.166	0.085	0.540	0.593	-0.246	0.425
Vanff кат.3,4,5,6	0.246	0.154	0.236	1.597	0.118	-0.065	0.556
ДСА	0.569	0.261	0.345	2.178	0.035	0.041	1.097
МФИ поединечни класи < 2500	0.529	0.644	0.290	0.821	0.417	-0.774	1.831
МФИ поединечни класи < 2500	0.133	0.448	0.121	0.297	0.768	-0.772	1.038
МФИ за сите класи < 2500	-0.142	0.641	-0.078	-0.221	0.826	-1.438	1.154
МФИ сите класи < 2500	-0.037	0.464	-0.033	-0.080	0.937	-0.975	0.901

Зависна варијабла: 24ч протеинурија

5.4.3 Регресиона анализа за зависна варијабла ГФР

Во Униваријантната Линеарна Регресиона анализа, како предиктивни фактори за зависната варијабла ГФР се покажаа возраста на примателот ($p=0,013$) и возраста на дарителот ($p=0,000$). (Табл. 44)

Табл. 44 Униваријантна Линеарна Регресиона Анализа за зависна варијабла ГФР

Варијабла	Unstandardized Coefficients (B)	p - value	95.0 % C.I. for EXP(B)	
			Lower B.	Upper B.
Пол примател	-1.590	0.822	-15.722	12.542
Возраст примател трансфузија	-0.665	0.013	-1.181	-0.150
ИТМ >29.0	-3.793	0.621	-19.095	11.510
ИТМ < 25.0	1.657	0.811	-12.195	15.508
ИТМ < 25.0	-11.892	0.175	-29.255	5.472
Пушење примател	8.634	0.182	-4.179	21.447
донор пол	-1.203	0.852	-14.123	11.716
донор возраст	-1.020	0.000	-1.496	-0.545
донор коморбидитет	-7.171	0.298	-20.865	6.523
Несовпаѓање 1	-1.488	0.825	-14.945	11.968
Несовпаѓање 2	-4.713	0.672	-26.984	17.558
индукциона терапија	4.729	0.473	-8.405	17.863
ДФГ	-17.621	0.128	-40.520	5.278
СО	-13.102	0.096	-28.608	2.404
Циклоспогин/Такролимус 12 месец	6.516	0.311	-6.271	19.304
Vanff 1	-0.579	0.941	-16.221	15.063
Vanff 2	1.275	0.868	-14.121	16.671
Класа 1 и Класа 2 антитела	-3.811	0.611	-18.793	11.171
ДСА антитела	-14.886	0.168	-36.257	6.485
МФИ поединечни класи <2500	-10.517	0.374	-34.102	13.069
МФИ поединечни класи > 2500	-9.314	0.194	-23.523	4.895
МФИ за сите класи <2500	-5.241	0.660	-29.033	18.550
МФИ за сите класи > 2500	-7.631	0.301	-22.308	7.046

Зависна варијабла: ГФР

Варијаблите кои се покажаа како сигнификантни фактори во предикција на ГФР, беа анализирани со методот на Мултиваријантна Линеарна регресиона анализа. Резултатите од оваа анализа како независни сигнификантни предиктори ја потврдија самовозраста на донорот ($p=0,001$). (Табл. 45)

Табл. 45 Мултиваријантна Линеарна Регресиона Анализа

Мултиваријантна Линеарна Регресиона Анализа							
Adjusted R square = 0.282							
Варијабла	Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	p - value	95.0 % C.I. for EXP(B)	
	B	Std. Error	Beta			Lower B.	Upper B.
Constant	137.796	14.332		9.614	0.000	108.979	166.614
Возраст примател	-0.381	0.242	-0.199	-1.571	0.123	-0.868	0.107
Возраст донор	-0.896	0.246	-0.460	-3.635	0.001	-1.391	-0.400

Зависна варијабла: ГФР

5.4.4 Логистична регресиона анализа за зависна варијабла Ванф класификација

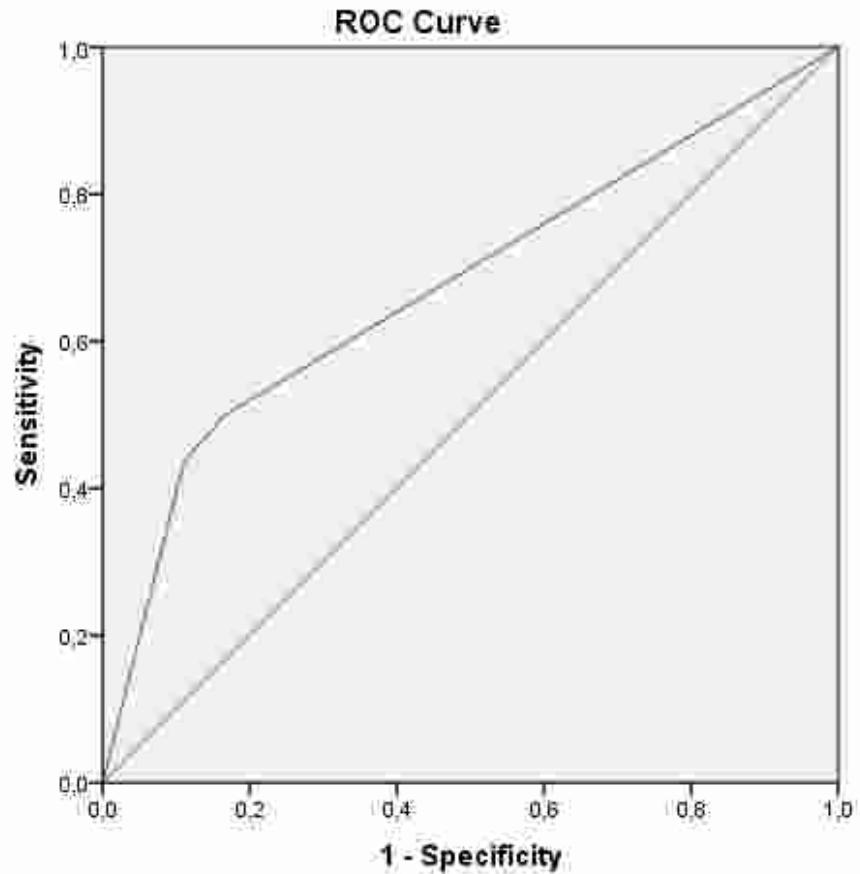
Во табела број 46, прикажани се резултатите од Униваријантната Логистичка Регресиона анализа за детерминирање на предиктивните фактори за АБМР.

Во униваријантната Логистичка Регресиона анализа како статистички сигнификантен предиктор се потврди само вредностите на МФИ за поединечните класи анти ХЛА антите со вредност > 2500 ($p=0.039$).

Пациентките со вредностите на МФИ за поединечните класи анти-ХЛА-антитела > 2500 , имаат за околу 6.5 пати поголема веројатност за присуство на АБМР, споредено со пациентките со вредностите на МФИ за поединечните класи анти ХЛА антитела < 2500 (OR: 6.562, 95% CI 1.095 – 39.324).

Табл. 46 Униваријантна Логистичка Регресиона анализа за предикција на патохистолошките промени според Banff класификацијата

Варијабла	OR	Crude CI 95%	p - value
пол			
мажи	ref (1)		
жени	0.224		0.549
возраст - реципиент			
возраст	1.002	0.949 – 1.058	0.944
трансфузија			
не примале	ref (1)		
примале	0.462	0.094 – 2.269	0.341
Body mass index (БМИ)			
нормален	ref (1)		
поголем (> 29.9)	4.800	0.979 – 23.544	0.053
помал (< 25)	3.600	0.454 – 28.562	0.225
пушач			
не пуши	ref (1)		
пуши	0.909	0.215 – 3.843	0.897
пол - донор			
мажи	ref (1)		
жени	0.495	0.119 – 2.062	0.334
возраст - донор			
возраст	1.039	0.971 – 1.111	0.269
коморбидитет - донор			
нема	ref (1)		
има	2.100	0.467 – 9.440	0.333
miss match			
нема несовпаѓање	ref (1)		
има несовпаѓање во еден локус	1.750	0.390 – 7.859	0.465
има несовпаѓање во два локуси	0.292	0.025 – 3.372	0.324
има несовпаѓање во три локуси	0.000	0	1.000
Индукциона терапија			
симулект	ref (1)		
анти-тимоцитен глобулин	0.750	0.190 – 2.964	0.682
функцијата на бубрегот непосредно по трансплатација			
Добра функција	ref (1)		
ДГФ	1.846	0.148 – 23.070	0.634
СО	0.185	0.019 – 1.816	0.147
Вид на калцинеурински инхибитор			
Циклоспорин	ref (1)		
Такролимус	0.389	0.097 – 1.564	0.183
Анти-ХЛА-антитела			
антитела	ref (1)		
Класа 1 и Класа 2	2.500	0.445 – 14.037	0.298
ДСА	30290	0	0.999
МФИ поединечни			
МФИ поединечни класи	ref (1)		
МФИ < 2500	1.875	0.103 – 34.131	0.671
МФИ >2500	6.562	1.095 – 39.324	0.039
МФИ сите			
МФИ за сите класи	ref (1)		



Diagonal segments are produced by ties.

Граф. Рок крива за специфичност и сензитивност на МФИ на антителата за вредности > 2500, во предикцијата на хистопатолошките промени за кат. 2 (АБМР) од Vanff класификацијата (Сензитивност 56%, специфичност 84%).

6. ДИСКУСИЈА

6.1. Анти ХЛА антитела и функција на графтоот

6.1.1. Серумски креатинин

Присуството на новоформираните анти-ХЛА-антитела беше детектирано 30 дена, 12 и 24 месеци после трансплантацијата. 17 болни од 51 (33.3%) развија анти ХЛА антитела, од кој 7 донор специфични. Бројките воглавно се поклопуваат со наодите од литература. Дистрибуцијата на анти ХЛА антителата во однос на типот (класа 1 и 2), активација на комплементот и средниот интензитет на имунофлуоросценција се дадени во табелите и графиконите во секцијата Резултати. Од анализата на нивото на серумскиот креатинин 12 месеци после трансплантација кај болните со присутни или отсутни антитела, се гледа дека постои значаен пораст на истиот, кој се повторува и во анализата после 24 месеци. Како што се гледа од Табела 11, овој пораст е повеќе изразен кај болните со детектирани ХЛА антитела од било која класа и дефиниран со статистичка значајност ($p = 0.027$). Кога ќе се анализира односот на анти ХЛА антителата со МФИ повеќе од 800 и нивото на серумскиот креатинин после 12 месеци од трансплантацијата, статистичката значајност е сеуште присутна, овој пат со $p=0.049$. Толкувањето на порастот на серумскиот креатинин во однос на детектираните антитела се врзува со влошување на функцијата на графтоот кога има присутни анти ХЛА антитела. Ова е потврдено од повеќе автори во светот а како дел од оваа анализа е веќе објавен (60). Кога ќе се елиминираат останатите можни причини за пораст на креатининот (циклоспоринска токсичност, акутното бубрежно оштетување, дехидратација, влијание на различни потенцијално нефротоксични лекови, инфекции и слично) тогаш еден ваков чист статистички значаен сооднос, зборува повеќе во прилог дека присуството на анти ХЛА антитела, особено ако се донор специфични е врзано со оштетување на графтоот поредизвикано од можно отфрлање предизвикано со истите тие антитела. Наодот пак на истите антитела во серумот на болниот и во биопсијата на графтоот во исто време со сигурност означува дека истите се токму тие кои се виновни за постоење на бубрежно оштетување. Така основен заклучок што произлегува од нашата анализа, дека детектираните антитела, било да се донор специфични или донор неспецифични се статистички асоцирани со порастот на креатининот, а со тоа и влошување на функцијата на графтоот. (57, 58, 59, 60, 61, 62) Поделбата на групите

болни со вредност над и под 109 микромола/лит овозможи да се земат предвид и најмалите отстапувања во нивото на серумскиот креатинин затоа што понекогаш се работи за навистина суптилни промени и затоа оваа анализа добива повеќе во значење. Некогаш и минималниот пораст на серумскиот креатинин може да означи процес на отфрлање и треба секогаш да се земе предвид, особено ако е асоциран со детекција на анти ХЛА антитела од било која група. Но нормалниот креатинин не го исклучува отфрлањето како процес, особено ако анти ХЛА антителата се присутни во серумот. (63, 64, 65, 66) Современата БАНФФ класификација вклучува и форма на таканаречено субклиничко отфрлање, каде хистолошки се детектираат промени на графтоот и во услови на нормален креатинин. Анализата на серумскиот креатинин после 24 месеци практично ја следи промената која се констатира на 12 месеци со тоа што таа вредност и натаму е значајно покачена од онаа после 1 месец. Стагнацијата на серумскиот креатинин во анализата 24 месеци после трансплантација може да се толкува дека и самиот процес на можно отфрлање е успорен но не и елиминиран. (67,68,69)

Појавата на клинички изразено отфрлање во било кој период до 12 месеци после трансплантацијата значајно влијае врз серумскиот креатинин. На табела 19 претставена е асоцијацијата на серумскиот креатинин на 12 месеци и присутното верифицирано и третирано клиничко отфрлање во периодот после трансплантација. Кај болните кои пројавиле отфрлање кое било лекувано, се потврди поголема вредност на серумскиот креатинин на 12 месец и достојна статистичка значајност изразена со $p = 0.033$.

6.1.2. Стапка на гломеруларната филтрација

Определувањето на гломеруларната филтрација е најдобар метод за процена на функцијата на графтоот. Од класичниот ендеген креатинин клиренс, преку инсулин клиренсот па се до новите формули кои ја пресметуваат гломеруларната филтрација само врз основа на серумскиот креатинин. И покрај тоа што е општа познато дека таканаречената изведена (проценета) стапка на ГФР ја натценува или потценува вистинската вредност, таа сепак широко се употребува денес во светот. Најчести формули според кои се пресметува се оние на Кокрофт и Голт, МДРД, ЕПИ или Нанкивел. Во оваа студија беше користена формулата МДРД која најчесто и се употребува кај болните со трансплантиран бубрег. Оваа формула во пресметката го внесува полот и староста на болните што

ја прави пообјективна заради тоа што е добро познато дека со секоја измината година условно здравите луѓе губат 1 мл од својата ГФР после навршени 40 години. Тоа значи дека на 80 години просечно сите губат од својата нормална ГФР за околу 40 мл/мин.

Болните со трансплантиран бубрег практично никогаш немаат стриктно нормална гломеруларна филтрација. И покрај нормалниот серумски креатинин тие најчесто се наоѓаат помеѓу вториот и третиот степен на Хронична бубрежна болест. Причините за ова се бројни. Прво, како што е општо познато, се трансплантира еден бубрег кој колку да е интактен, тој носи во најдобар случај барем 50% од претходната функција на дарителот. Во случај да се работи за идеална нефректомија изведена по сите принципи на анатомска презервација тој сепак трпи промени во таканаречената топла и студена исхемија. Согласно должината на времетраењето на процедурите кога е бубрегот исклучен од циркулација, промените во бубрежното ткиво се значајни. Графтот се оштетува натаму и во процедурата на презервација споредно која течност се употребува за процедурата. Графтот кај трансплантираните болни од овој труд се презервираа со КУстодиол, презервациски раствор кој е доста популарен но не и најдобар. Употребата на многу нови раствори подобро го презервираат бубрегот затоа што процесот никако не треба да се сфати дека е чисто механичко испирање туку тој треба истовремено да го одржува ткивото во физиолошка состојба и со што помал степен на оштетување. Освен тоа, ГФР на графтот во многу нешта е условена и од природата на самиот дарител. Доколку политиката на Центарот за трансплантацијата е да прифаќа таканеречени маргинални дарители, или како што се викаат “дарители со проширени индикации” тогаш и реципиентот ќе добие помалку вреден бубрег со веќе намалена гломеруларна филтрација. (12, 13) Во овие дарители со проширени индикации спаѓаат и оние во постара возраст, односно над 65 години. Истото се однесува за бубрезите добиени од починати дарители каде што целата процедура вклучувајќи ги времињатана топла и студена исхемија е пролонгирана а со тоа и шансите бубрегот да се оштети се поголеми.

Анализата на ГФР кај болните со детектирани анти ХЛА антитела после 12 месеци од трансплантацијата потврди дека истата е значајно намалена. Табелите 30 и 31 покажуваат дека кога ќе се употреби лаб скрин методата со Кат Оф од 5 и кога ќе се идентифицираат и класифицираат анти ХЛА антителата како класа 1 и 2, се наоѓа статистички значајна поврзаност меѓу детектираните антитела и висината на гФР. (табели 29 и 30, $p=0.027$ и $p=0.049$). За постетување, оваа анализа е направена со оние анти ХЛА антитела кои имаат МФИ над 800, што укажува на тоа дека се работи за значајна активност на истите. Значи, покрај

серумскиот креатинин и ГФР покажува статистичка асоцираност со присуството на анти ХЛА антителата, со што се потврдува неповолниот ефект на истите врз структурите на графтоот. (60, 61, 62, 63, 64, 65, 66) Иако изведените формули за ГФР потекнуваат базично од серумскиот креатинин, останатите параметри кои дел од истите како телесната тежина, староста, телесната површина и слично, сепак и даваат посебност на ГФР како валидна метода за процена на бубрежната функција. Како заклучок, недвосмислено се докажува дека присуството на анти ХЛА антитела во серумот било да се донор специфични или донор неспецифични имаат неповолен ефект врз функцијата на графтоот а тоа е врзано и со патоанатомските промени детектирани на протокол биопсија на 12 месеци после трансплантација. Овде логички се наметнува прашањето околу неповолниот ефект на таканаречените донор неспецифични анти ХЛА антитела кои, како што докажавме, имаат исто така неповолен ефект врз графтоот и неговата функција. Овој тип на антитела, и покрај тоа што не е усмерен кон некој детерминиран ХЛА сепак има деструктивно дејство врз структурите на графтоот. (39, 40, 41, 42,) Објаснувањето на еден ваков ефект може да се наоѓа во таканаречените вкрстени реакции кога одделни анти ХЛА антитела можат да реагираат со слични локуси од групата А, Б и ДР. Вкрстените реакции се опишани од повеќе автори, но многу повеќе во периодот кога ХЛА типизацијата се изведуваше по серолошки пат. Тие се значително поретки денес во периодот кога ХЛА типизација се изведува по молекуларен пат. Ове секако треба да се спомене и фактот дека според сегашното ниво и опсег на молекуларната ХЛА типизација, не можевме секогаш да сметаме на целосна ХЛА типизација која ќе вклучи и локуси како што се ДК и ДП, така да постоењето на анти ХЛА антитела кон тие локуси не е исклучено. Но и покрај тоа, се повеќе се зборува за можноста детектираните антитела да реагираат со посебни епитопи од ХЛА молекулата, А, Б, или ДР. Значи во принцип не е исклучена реакцијата кој посебни епитопи од ХЛА антигенот од страна на анти ХЛА антителата и покрај тоа што тие не се усмерени детерминирано кон тој антиген. Уште повеќе, современите анализи зборуваат за можност од уште посспецифично и поселективно дејство дури во рамките на еден епитиоп, односно него епитет. Сложеноста на овие реакции и нивното реално постоење, може да го објасни ефектот на донор неспецифичните антитела врз графто, како што е тоа во нашата студија. (48, 49, 61, 67, 68)

6.2.Протеинурија

Протеинуријата претставува феномен кој е секогаш поврзан со сериозно бубрежно заболување и кој е составен дел од бубрежно оштетување кај болните

со трансплантиран бубрег. Согласно основните нефролошки принципи таа укажува дека вообичаено се работи за гломеруларно оштетување и покрај тоа што во процена на селективната протеинурија се откриваат и други причини како што се тубуларни оштетувања и неспособност за адекватна реабсорпција на протеинските структури во дефинитивната урина. Тубуларните оштетувања и патолошки процеси во интерстициумот никогаш нема да дадат значајна протеинурија која ќе се доближи до нивото да биде нефротска. Оттаму, протеинуријата кај болните со трансплантиран бубрег е еден од првите знаци за гломеруларно оштетување или пак е дел од постоечко васкуларно отфрлање. И појавата на гломерулонефрит и васкуларното отфрлање се дел од хуморалното отфрлање, или отфрлањето предизвикано од антитела. Анализата на протеинуријата и нејзината асоцираност со присутните анти ХЛА антитела може да се смета и како дел од нарушена функција на графтоот и затоа се анализира во ова поглавје. Нашата анализа покажа дека серумскиот креатинин и ГФР значајно асоцираат со протеинуријата. Како што се гледа од 27 и 33, асоцијацијата на протеинуријата со серумскиот креатинин и ГФР достигна статистичка значајност од $p=0.011$ $p=0.044$. Оваа статистички значајна асоцијација се потврди и во анализата направена после 24 месеци која е прикажана на табелите 21 I 28. Поврзаноста на серумскиот креатинин, ГФР и протеинуријата укажува на тоа дека во суштина се работи за еден процес кои се одвива на ниво на васкуларните и гломеруларните структури. Во табелата пак 30 се потврдува асоцијацијата на протеинуријата со присутните Анти ХЛА антитела. Како што се гледа присуството на анти ХЛА антитела во серумот на болниот после 12 покажа статистички значајна асоцијација со протеинуријата и достигна вредност за $p = 0.04$. Во исто време анализата на патохистолошките промени поделени во 6 категории исто така потврдија значајна асоцијација со протеинуријата на 12 месеци со $p= 0.037$ (табела 34 и 35). Присуството на анти ХЛА антитела во серумот, ДСА или не-ДСА, покачениот креатинин, намалената ГФР и појавата на некој промени во патохистолошката слика потврдува асоцираност на сите параметри во севкупниот патолошки процес на отфрлање на графтоот. Како заклучок, недвосмислено се докажува дека присуството на анти ХЛА антитела во серумот било да се донор специфични или донор неспецифични имаат неповолен ефект врз функцијата на графтоот а тоа е врзано и со патоанатомските промени детектирани на протокол биопсија на 12 месеци после трансплантација. (48, 49, 61, 66, 67, 68, 69, 70)

Натамошната анализа на протеинуријата кај болните со пресаден бубрег потврди и асоцијација на нејзината појава и употребената имуносупресија. Како што се гледа од табела 39, болните на циклоспорин покажуваат значајно повисока

протеинурија од оние на такролимус. Оваа асоцијација е статички сигнификантна и достигнува $p = 0.024$. Овој наод има повеќестепено значење заради тоа што дискусијата околу тоа кој од овие два калцинеурински медикаменти е подобар и помалку токсичен сеуште траат. Анализите во последните години потврдуваат сепак дека такролимус е супериорен во односна имunosупресивниот ефект во споредба со циклоспоринот. Како протеинуријата во нашата анализа е тесно поврзана со покачениот креатинин, намалената ГФР и патохистолошките промени на графтоот после 12 месеци, може да се заклучи дека такролимус и во оваа анализа покажува позначан имunosупресивен ефект од циклоспоринот. Оваа анализа уште еднаш го потврдува значењето на имunosупресивната терапија со калцинеуринските инхибитори во појавата на бубрежни лезии предизвикани од процесот на отфрлање. За односот на имunosупресивната терапија и патохистолошките промени ќе стане збор понатаму.

6.3. Анти ХЛА антитела и имunosупресија

6.3.1. Анти ХЛА антитела и калцинеурински инхибитори (Такролимус и Циклоспорин)

Во претходното поглавје накратко се анализираше поврзаноста на протеинуријата со имunosупресијата и се заклучи дека оние болни кои се на циклоспорин покажуваат поголема протеинурија од оние што се на такролимус. Таа асоцијација е потврдена и после 12 месеци од трансплантацијата како што е прикажано на табела 13, со $p = 0.042$. Присуството на анти ХЛА антитела во нашата студија покажа дека истите се значајно асоцирани со употребената имunosупресивна терапија. Уште повеќе оваа асоцијација се потврдува кога се анализираат хистолошките промени по БАНФФ при што постои значајна разлика меѓу оние болни кои се наоѓаат на Циклоспорин и Такролимус (Табела 13). Слично на асоцијациите со протеинуријата, имunosупресивната терапија има влијание врз целокупната клиничка и субклиничка форма на процесите на отфрлање. И овде супериорноста на такролимус се докажува повеќекратно. Оттаму генералната препорака од оваа студија треба да биде калцинеуринските инхибитори, специјално такролимус, да бидат составен дел од имunosупресијата и тоа да биде дефинитивна терапија. Секоја промена на одржувачката имunosупресија треба да се направи крајно внимателно и после проверена и сигурна евиденција дека тоа мора да се направи (биопсионо докажана циклоспоринска токсичност, појава на малигна болест, потреба од други посспецифични лекови како што е Екулизумаб како анти С5

блокирачко антитело при ХУС итн). Супериорноста на такролимус е во согласност со големата студија Симфони која ја промовираше токму триплата терапија со овој калцинеурински инхибитор. Во проспективна студија на околу 800 болни со пресаден бубрег издвоени се 4 групи кои се третираат со различни протоколи во однос на калцинеуринските инхибитори и тоа:

- Група со Циклоспорин
- Група со Такролимус
- Група со редуциран Циклоспорин
- Група со mTOR инхибитор (Еверолимус)

Болните не се разликувале во однос на двата други субјекта на имуносупресијата како што се Микофеноличната киселина и стероидната терапија, ниту пак по индукционата терапија која е применета. Исто така сите групи имаат слични демографски карактеристики и не се разликуваат статистички значајно меѓу себе. Едногодишното следење покажало супериорно преживување на графтоот како и отсуство од отфрлање кај групата со Такролимус во однос на другите три кохорти. (71, 72, 73) Супериорноста на Такролимус која се потврди и во нашата студија може да се објасни со неговото помоќно дејство врз блокадата на калцинеуринот како дел од цитоплазматскиот систем на активација на Т лимфоцитот и тоа уште во рана фаза. Оваа блокада се одвива преку врзување со значаен цитоплазматски пептид кој се нарекува ФКБП (во минатото Такролимусот беше познат под името ФК506, оттаму е и името на споменатиот цитоплазматски пептид), додека Циклоспоринот го блокира Циклофилинот, кој е веројатно послабоп моќен во однос на ФКБП.) Токму во овој дел од активацијата на Т4 лимфоцитот се наоѓа и единствената разлика меѓу двата калцинеурински инхибитори, Такролимус и Циклоспорин. Активираниот Т4 лимфоцити натаму продолжува веќе по познат каскаден систем да ги доведе до силна селективна Т клеточна пролиферација која треба да се упати кон графтоот и во исто време да ги активира Б лимфоцитите за продукција на антитела. Имуносупресивниот протокол во оваа студија сметаше на двата калцинеурински инхибитори, со тоа што оние што Циклоспоринот беше употребуван во порана фаза на следењето на болните, во период кога Такролимусот не беше достапен. Втората половина на студијата практично се изведуваше со Такролимус. Оваа поделба овозможи и добра основа за компаративна анализа во однос на ефектот на дцата медикамента. Инаку сеуште многу нешта не се решени околу употребата на Циклоспоринот и/или Такролимусот во секојдневната клиничка пракса. Она што е значајно е дека Такролимусот е супериорен во однос на нефротоксичноста и имуносупресивниот ефект, како на целуларниот така и на хуморалниот тип на

отфрлање, но покажува позначајно дијабетогено и атеросклеротично дејство што не е без значење особено во однос на долготрајното преживување на графтоот, кардиоваскуларниот морбидитет и морталитет, како и склоноста кон малигни болести. Во секој случај и покрај сите обиди да се воспостават протоколи кои во себе си нема да содржат калцинеурински инхибитор, сепак Такролимус и Циклоспорин остануваат и натаму како значајни играчи во имunosупресивната протекција на графтоот. (74)

6.3.2. Анти ХЛА антитела и индуциона терапија

За одбележување се и наодите на асоцираност на анти ХЛА антителата со употребата на Антитимоцитарен Глобулин (АТГ) и Анти Интерлеукин-25 рецептор блокаторите како што е Базиликсимабот. И покрај тоа што податоците од лиетарура му даваат предност на АТГ како гарант за долготрајна и ефикасна имunosупресија, нашата студија не покажа статистички значајна разлика меѓу АТГ и Базиликсимаб како индуциона терапија. Навистина статистичката анализа покажа само тенденција во корист на АТГ но тоа достигна вредност од $p=0.06$, што е гранична вредност, но не и статистички значајна. (Tabela 14) Од анализата, клиничките искуства и непосредното следење на болните, треба да се смета дека АТГ е сепак посупериорен во однос на ефектите на глобалната имunosупресија во однос на Базиликсамб. Согласно глобалните препораки а и сопственото искуство, АТГ како индуциона терапија треба да се дава максимум до 5 дена за да се избегнат евентуалните токсични дејства како што е тромбоцитопенија, анемија и леукопенија. Искуствата од оваа анализа потврдуваат дека АТГ не само што го редуира опсегот на продукција на новосоздадени антитела, туку има значајно влијание врз продукцијата на анти ХЛА антителата од 2 калса кои се сметаат за помоќни во однос на вкупниот деструктивен ефект на истите. Доколку сепак се создадат кај болните под индуција со АТГ, нивниот вкупен МФИ е значајно понизок од оној добиен со употреба на Базиликсимаб. Овој ефект на АТГ е потврден во една наша претходна студија а е посочен и во литературата. Дејството на АТГ во однос на ДГФ (Доцно воспоставување на функцијата на графтоот) не се потврдени во клиничката пракса и не се дел од интернационалните гајдлајнси. Вообичаена пракса е АТГ да се употреби кај оние болни кои се наоѓаат во групата со повисок имунолошки ризик (претходна трансплантација, рекурентни нефропатии, ХЛА класа 2 инкомпатибилност, АБО инкомпатибилна трансплантација и слично). (75, 76, 77) Во однос на имunosупресијата треба да се спомене дека постојат и други силни имunosупресивни средства кои се наоѓаат како дел во различни протоколи

во светот. На пример моноклоналното антитело кое го блокира рецепторот C52 кое се вика Кампат кое се покажува како силно средство со кое се прави обид да се постигне конечно толеранција, односно трансплантација со минимална или никаква имunosупресија. Но иако Кампат се употребува пред се како индукциона терапија, сепак клиничката употреба е сеуште далеку од редовна и регуларна. Сепак, како препорака треба да се прифати како дел од индукционата терапија кај болни со висок имунолошки ризик. Понатаму во посебни случаи се употребува Ритуксимаб, моноклонално антитело кое ги блокира Б лимфоцитите, односно токму оние кои продуцираат антитела. И покрај силното дејство, сепак Ритуксимаб не влезе како регуларна индукциона терапија, освен како елемент на мултицентрично студии и при АБО и ХЛА инкомпатибилната трансплантација. Интересни се наодите од употребата на таканаречените фузиони интравенски протеини кои го блокираат таканаречениот косигнал, односно сигналот 2 кои се одвива преку маркерите ЦД80 и ЦД 86. Препаратот познат како Белатацепт се покажа како ефикасен особено онаму каде постои неподносливост на калцинеуринските инхибитори. Белатацепт е ефикасен имunosупресор но и покрај тоа сеуште сме далеку од толеранцијата како феномен. Предноста му е евидентна во однос на останатите имunosупресори затоа што се дава во вид на една инфузија на 30 дена но сеуште го нема доказот дека превенира развој на анти ХЛА антитела а со тоа и отфрлање на графтоот како долготраен процес кои има влијание врз преживување како на графтоот така и на бполниот. Во смисол на темата која се работи сега, а тоа е важноста на анти ХЛА антителата и хуморалното отфрлање на графтоот, не може а да не се спомене Екулизумабот кој селективно го блокира комплементот 5. Активацијата на комплементот 5 во каскадата на активација на комплементот воопшто е врзана со појава на Тромботична микроангиопатија во состав на Хемолитичко уремиски синдром. Се работи за силно активирано васкуларно отфрлање при што е силно активиран C5 во услови на постоење на антитела. Употребата на селективен блокатор е единствениот можен лек во оваа состојба но исходот и покрај тоа е неизвесен. Обидите Екулизумаб да се употреби како индукциона терапија со цел превенција на отфрлањето предизвикано со антитела кое вклучува активација на комплемент, сеуште немаат клиничка препорака. Ова се однесува и за сите потенцијални други блокатори на различните степени на каскадата на активираниот комплемент. Во секој случај, отфрлањето предизвикано со анти ХЛА антитела е предизвик денес во светот и испитувањата во однос на природата на реакцијата и нејзината блокада е современ научен тренд. (78, 79, 80)

6.3.3. Анти ХЛА антитела и хистопатологија на графот

Протокол биопсијата која се спроведе точно на истекот на 12 месеци после трансплантација донесе повеќе неочекувани од очекувани промени. Од пристигнаите наоди после сите толкувања од еден компетентен патолог се заклучува дека само 15 болни од вкупно 51 немаат никаков наод, односно имаат нормален наод и во БАНФФ класификацијата се означуваат со категорија 1. Сите останати покажуваат некаков наод. Огромен процент од нив и покрај некогаш сериозен патоанатомски наод немаат никаква клиничка експресија дека нешто се случува. Богатството на добиените наоди во потполност ја оправдува примената на протокол биопсиите кои откриваат промени кои бараат соодветен третман или се предмет на интензивно следење. Како што е прикажано на Табела 9, 16 болни се сместени во категорија 1 (33%) кои имаат стриктно нормален хистолошки наод, додека чисто клеточно и чисто аотфрлање поредизвикано од антитела покажале само по 1 болен. 5 наоди се класифицирани во гранично целуларно отфрлање (категорија 3), 5 се протолкувани како интерстициелна фиброза и тубуларна атрофија (Категорија 5) а 5 се прочитани како промени од неимунолошки карактер (Категорија 6). 17 болни покажале хистолошки наод кои има делови од повеќе категории и се нарекуваат едноставно како наод на мешано отфрлање. Хистолошките наоди кои се наоѓаат во оваа група се комбинација од повеќе категории и се прикажани на Табела 10. Од аспект на натамошна анализа, сите наоди во кои има елементи на отфрлање предизвикано со антитела се сметани како хуморално отфрлање. Овие нови сфаќања околу природата и сложеноста на процесот на отфрлање предизвикано со антитела се темелат на новите препораки од последните митинзи БАНФФ од 2015 и 2017 година кога се воведени и нешто проширени критериуми кога се работи за хуморалното отфрлање. (81, 82, 83, 84) Така на пример се дозволи употребата на таканереченото “ суспектно“ отфрлање предизвикано со антитела каде што е доволно некогаш само присуство на C4d во хистопатолошкиот наод без да бидат докажани анти ХЛА антитела, донор специфични или не. Во контекст на тоа се и најновите препораки околу дефиницијата на АБМР само врз основа на васкуларни воспалителни наоди. Употребата на термот “суспектни“ промени е аналоген на терминот бордерлајн кај целуларното отфрлање. Освен тоа, повторно според насоките на БАНФФ од 2013, се отфрли и условот C4d да биде задолжително присутен за да сезначи едно отфрлање како условено од антитела, затоа што се потврди дека типични хистолошки промени за АБМР се јавуваат и кога е нагативен наодот за комплементот. На овој начин како АБМР се значија повеќе болни кои имаат сега

проширени критериуми за дијагностика. (85, 86) Оттаму е релативно големото присуство на АБМР и меѓу нашите болни кое, од друга страна, скоро никогаш не се јавува како “чиста“ туку секогаш здружено со останатите хистолошки посебности. Воведувањето на С4d негативната форма на АБМР укажа и на тоа дека реакциите на анти ХЛА антителата со ендотелот на крвните садови може да се изведе независно од комплементот кој не е секогаш неопходен за истата. (87, 88) Овој труд ги прифати препораките на последните БАНФФ состаноци и се обиде да го унифицира терминот АБМР во кои ќе влезат сите облици за кои стана збор погоре. Хистолошките наоди се егзактни доколку се толкуваат од еден искусен патолог и тие се застапени во овој труд онака како се прочитани. Прифаќањето на овој принцип на “унификација“ и ставање во ставка АБМР се што има било какво обележје веќе дефинирано во критериумите за истото, овозможи и поедноставна статистичка процедура. (89, 90) Доколку сега целата група со позитивни наоди ја поделиме на подгрупа со елементи на отфрлање предизвикано со антитела и подгрупа со сите останати наоди и ја анализираме евентуално асоцијацијата со анти ХЛА антителата, тогаш се констатира дека постои статистички значајна поврзаност со ДСА ($p = 0.016$). Исто така постои статистички значајна асоцијација меѓу степенот на присутните анти ХЛА антитела изразен како МФИ во однос на овој тип на отфрлање. Овие соодноси се добиени со АНОВА анализа и достигнуваат сатистичка значајност од $p=0.049$ (Табела 40).

Овие наоди ја потврдуваат поврзаноста на серумскиот наод на анти ХЛА антителата со хистолошките промени во состав на отфрлањето предизвикано со антитела. (91, 92, 93, 94) Од клинички аспект оваа констатција е суштествена затоа што се потврди оправданоста на следењето на анти ХЛА антитела во периодот после трансплантација на бубрег во било кое и време и фреквенција. Од практични причини контролата на анти ХЛА антителата треба да се изведува во правовремени временски интервали и тоа во првата година на секој 3 месеци а потоа најмалку 1 годишно. Оваа студија само го потврди клиничкото значење на детекцијата на анти ХЛА антитела поврзувајќи го со функцијата и хистологијата на графотот. Натамошни студии ќе треба да одговорат на прашањето што и како треба да се направи од аспект на терапија и промени што ќе значат превенција на развивање на посериозна патологија но и значајно ќе го зголемат преживувањето на графотот и дарителот.

Но, протокол биопсиите направени на 12 месеци не само што го потврдија присуството на АБМР и нивната поврзаност со анги ХЛА антителата, тие разоткрија и цел спектар на патохистолошки промени кои имаат големо значење во толкувањето на она што навистина се случува во графотот. Особено е интересно

кога елементи на АБМР ќе се најдат во еден ист хистолошки наод со наоди на целуларно отфрлање (категорија 4) или барем со бордерлајн промени на целуларното отфрлање (категорија 3). Повторно од практичен аспект и заради статистичката анализа, бордерлајн промените беа сметани како дел од таканареченото целуларно отфрлање. Присуството на АБМР и ТЦМР не може да ја исклучи интер-реакцијата на двата процеса и покрај тоа што тие се одвиваат на различно место. Како имунолошката основа на отфрлањето како основен процес е сепак познато, тогаш мора да се смета дека обата процеса се обусловени еден од друг. Од теоретски аспект, многу е поверојатно дека ТЦМР е тоа што му претходи на АБМР но обратниот механизам исто така не се исклучува. Во секој случај, богатството на комбинирани наоди во нашата анализа цврсто го потврди постоењето на таканареченото “ Мешано отфрлање“ кое секако дека си има свое значење во вкупното толкување на овој долготраен процес кој води до финална деструкција на органот. (95, 96, 97, 98, 99)

Хистопатолошката анализа на протокол биопсиите на 12 месеци после трансплантација го потврди и присуството на Интерстициелната Фиброза и Тубуларната атрофија(ИФ/ТА) која долго време се претпоставуваше дека е чисто дегенартивен процес кој зависи од пред се од самиот дарител, починат или жив, односно од квалитетот на бубрежното ткиво кое се трансплантира. Некои автори ова го нарекуваат “ Бубрежна Доза“, односно квантум на благороден паренхим кој дарителот му го пренесол на домакилот. Во услови кога се употребуваат се повеќе дарители со проширени индикации во кои влегуваат оние со напредната возраст, хиупертензија или дијабет, секогаш е можно графотот да има претходни лезии кои значајно ја определуваат натамошната судбина на истиот. Оттаму и таквото сфаќање за ИФ/ТА. Меѓутоа последните анализи и препораки упатуваат се повеќе на тоа дека и ИФ/ТА може да се смета како дел од процесот на отфрлање кое ги зафаќа и овие структури. Наодот на воспалителни клетки околу овие структури потврдуваат дека овој процес не е дегенаритивен туку воспалителен, а тоа значи дека е гтој само последица од АБМР или мешан тип на отфрлање. Нашата анализа покажа дека чиста ИФ/ТА форма е најдена само кај 5 болни, додека кај 7 овие промени беа комбинирани со АБМР и се дел од “Мешаното Отфрлање“. Ова сега за сега само укажува дека интерстициелната фиброза е директна последица од присутното АБМР и васкуларната инфламација. Продлабочената генетска анализа исто така потврди прииситство на гени кои управуваат со имунолошки условено воспаление што оди во прилог дека ИФ/ТА е далеку од обичен дегенаритивен процес. (100, 101)

Согласно она што е наведено погоре, очигледно е дека АБМР е многу

покомпликувана приказна отколку што се мислеше. Богатството на наоодите некогаш не нуди и вистинско решение туку создава и блага конфузија во толкувањето на резултатите и полезноста од агресивната процедура како што е бубрежната биопсија. Токму заради тоа во препораките на БАНФФ од 2013, 2015 и 2017 се вовеле и нов критериуми токму за АБМР а тоа е “ Зголемена Експресија на генетски транскрипт типичен за ендотелно оштетување познат како ЕНДАТ. Тоа значи дека еден од критериумите, особено во случаите кои се недоволно јасни е генетскиот транскрип, односно наодот на типични промени условени од активирани гени одговорни за овие промени во состав на ендотелот. Оваа анализа за жал во моментот не е секаде достапна. (102, 103, 104, 105) Сеуште ексклузивитетот го има Универзитетот во Алберта во Канада каде сега за сега се изведува. Но дали и тоа ќе го реши проблемот на хуморалното отфрлање и дали ќе биде достапно кон секојдневната клиничка пракса во моментот е во најмала рака неизвесно.

6.4. Регресиони анализи, зависност и предикција

6.4.1.Анализирана варијабла - Креатинин

Таблеите 40 и 41 ги прикажуваат резултатите од уни и мултиваријантната анализа во однос на варијаблата серумски креатинин која во досегашните испитувања се наметна како една од најдоминантните промени во текот на следењето на болните,. Униваријантната анализа ја потврди зависноста на серумскиот креатинин од возраста на дарителот, спорото опоравување на графтоот непосредно после трансплантација, присутните ДСА како и вредноста на МФИ над 2500. Статистичката значајност е прикажана на Табела 40. Зависноста на серумскиот креатинин е веќе дискутирана претходно и е во согласност со наодите на повеќе автори (12, 15, 60). После спроведување на мултиваријантната регресиона анализа се потврди како значајна само зависноста со присутните антитела и средниот интензитет на имунофлуоресценција (Табела 41). На овој начин уште еднаш се потврди значењето на анти ХЛА ДСА антителата и квантумот на нивното пројавување во серумот на болниот. Со тоа се потврди и примарната претпоставка дека наодот на анти ХЛА антитела во серумот на болниот е во директна корелација со серумскиот креатинин како параметар за бубрежната функција. Втората варијабла, спорото опоравување на графтоот исто така се потврди како значен фактор кој корелира со висината на креатининот. Одлошената функција на графтоот (ДГФ) е варијабла која е анализирана во многу

студии, но овде, во нашата студија не се работи за класичен ДГФ каде треба да се користи хемодијализа во услови на пролонгирана олигоанурија, туку само споро опоравување на графтоот, кое може да биде резултат на повеќе фактори меѓу кои и отфрлање.

6.4.2.Анализирана варијабла протеинурија

Регресиониите анализи за варијаблата протеинурија се прикажани на Табела 42 и 43. Униваријатната регресиона анализа покажа дека појавата на протеинурија значајно корелира со возраста на дарителот, индексот на телесната маса на болниот, присуство на АБМР, или категорија 2 според БАНФФ, присуство и на останатите категории според БАНФФ, присуство на анти ХЛА антители (ДСА) и интензитетот на имунофлуоресценција повеќе од 2500. Статистичката значајност е прикажана на Табела 42. Сите фактори кои се наброени и имаат значајна корелација со протеинуријата се потврдени и од други автори. За оваа студија е значајно тоа што повторно и овде се докажуваат анти ХЛА антителата и МФИ како значајни фактори за развој на протеинуријата. (27, 29, 89, 91) Практично протеинуријата е појава која се врзува воглавно за гломеруларни оштетувања и васкуларните воспаленија на бубрегот а тие се дел од комплексот на АБМР или мешаното отфрлање во кои има елементи и за АБМР.

Мултиваријатната анализа на варијаблата протеинурија ја потврди зависноста од Анти ХЛА антителата и тоа ДСА. (Табела 43)

6.4.3. Анализирана варијабла ГФР

Униваријантаната и мултиваријантаната анализа за ГФР потврдија значајна зависност само со возраста на дарителот.

6.4.4 Логистична регресиона анализа за зависна варијабла Банфф класификација

Во табела број 46, прикажани се резултатите од Униваријантаната Логистичка Регресиона анализа за детерминирање на предиктивните фактори за АБМР.

Во униваријантаната Логистичка Регресиона анализа како статистички сигнификантен предиктор се потврди само вредностите на МФИ за поединечните класи анти ХЛА антите со вредност >2500 ($p=0.039$).

Пациентките со вредностите на МФИ за поединечните класи анти ХЛА антитела >2500, имаат за околу 6.5 пати поголема веројатност за присуство на АБМР, споредено со пациентките со вредностите на МФИ за поединечните класи анти ХЛА антитела <2500(OR: 6.562, 95% CI 1.095 – 39.324).

На графикон е прикажана Рок крива за специфичност и сензитивност на МФИ на антителата за вредности > 2500, во предикцијата на хистопатолошките промени за кат. 2 (АБМР) од Банфф класификацијата. На овој начин се потврдува основната претпоставка на трудот дека болните со присутни анти ХЛА антитела со МФИ над 2500 имаат 6 пати поголема можност да имаат АБМР или некој тип на мешано отфрлање во кое има елементи и на АБМР. (27, 29, 89) Со оглед на тоа што се потврди зависноста на анти ХЛА антителата од сите видови со вредноста на креатининот, протеинуријата и ГФР, тогаш истите се од првостепено клиничко значење во следењето на болниот и директно влијаат врз долготрајноста на животот на графотот и болниот. Оттаму слењето на антителата треба да влезе во нормалните протоколи во сите центри кои следат болни со пресаден бубрег или орган.

7. ЗАКЛУЧОЦИ

1. Присуството на новосоздадените анти ХЛА антитела и тоа од Класата I и ДСА, кај нашите испитаници покажа влијание на функцијата на бубрегот, манифестирано со појава на значајно повисоки вредности за сКр, 24ч протеинурија и поголемо присуство на елементи на АБМР при хистоморфолошката процена на ткивото на трансплантираниот бубрег.

2. Според Банфф класификацијата само кај еден од пациентите беше нотирана чиста АБМР, додека кај остатите беа присутни во мешан наод со другите категории.

3. Анти ХЛА антителата од Класа I и мешани Класа I +II, предизвикуваат повеќе патохитолошки промени од класата 2 на АБМР, додека поединечното присуство на Класа I или Класата II, промени од останатите категории 3,4,5,6 по Банфф класификацијата.

4. На 12 месеци од трансплантацијата, постои асоцираност помеѓу новосоздадените анти ХЛА антитела со вредностите за сКр и 24 часовната протеинурија, која клинички се манифестира со нивни повисоки вредности, споредено со пациентите кои немаа анти ХЛА антитела. Присуството на анти ХЛА антитела при ЛАБмикс анализата за Класа I антитела, како и присуството на антитела од сите класи при САБ анализата покажа значајна асоцираност со пониски вредности за ГФР.

5. Видот на индукциона терапија, во нашата студија не покажа разлика во продукција на анти ХЛА антителата. Додека видот на калцинеурински инхибитор т.е. употребата на Такролимус е поврзана со намалена продукција на анти ХЛА антителата..

6. Во нашата студија се покажа поврзаност помеѓу анти ХЛА антителата од Класа II со категоријата 2 (АБМР) , а како мешавина со Класата I и со останатите категории 3,4,5,6 од Банфф класификацијата.

7. Наодот на елементи за АБМР во примерокот ткиво кај пациенти без детектибилни анти ХЛА антитела, може да сугерира на т.н. “тивка” АБМР

8. Присуството на ДСА, спорото опоравување на бубрегот после трансплантација и МФИ на антителата > 2500 претставуваат значаен предиктивен фактор за функцијата на трансплантираниот бубрег. Додека МФИ на антителата > 2500 претсавува значаен предиктор за појавата на категорија 2 (АБМР) од класификацијата по Банфф. Но, исто така нивното присуство се покажа специфично и сензитивно за промените од категорија 2 (АБМР) според Банфф класификација.

8. ЛИТЕРАТУРА

1. **Andre M** et al. The UNOS Transplant Registry: Review of the Last Decade. Clin Transplant 2014
2. **Eurotransplant** - Annual report 2016
3. **Kramer A**, Pippias M, Noordzij M et al. ERA – EDTA Registry: Annual Report 2015. CKJ 2018.;11: 108-122
4. **Australia&New Zealand Dialysis and Transplant registry 2016**
5. **Richet G**. Jean Hamburger 1909-1992. Kidney Int 1992; 42: 810-812
6. **Merrill JP**, Murray JE, Harrison H et al. Successful Homotransplantation of the Human Kidney Between Identical Twins. JAMA 1984; 251(9): 2566-2571
7. **Jean Dausset** . HLA complexe majeur d'histocompatibilite de l'homme. Flammarion, Paris 1982
8. **Starzl T**. Drug Immunosuppression .The official Thomas Starzl Web Side.
9. **Calne R**. Immunosuppression in liver transplantation N Eng J Med 1994; 331: 1154 – 1155
10. **Popov Z**, Ivanovski N, Kolevski P. Transplantation renale en Macedoine. Ann Urol. 2000; 34: 294-301
11. **Ivanovski N**. 50 transplantacii na bubreg vo Republika Makedonija. Mak Med Pregled. 1994 ; 40: 1-6.
12. **Ivanovski N**, Popov Z, Kolevski P, Cakalaroski K, Stojkovski L, Spasovski G, Zafirovska K. Living related renal transplantation- the use of advanced age donors. Clin Nephrol. 2001; 55: 309-312.
13. **Ivanovski N**, Masin J, Kolevski P, Stojceva-Taneva O, Popov Z. Use of Elderly Living Kidney Donors: Twenty Years' Experience in the Balkans. Transplant Proc. 2011; 43: 3415-3417
14. **Ivanovski N**, Popov Z, Kolevski P, Cakalaroski K, Masin J, Zafirovska K. Living Emotionally Related Renal Transplantation- Single Center Experience in the Balkans. Annals of Transplantation. 2004; 9: 48-49.
15. **Ivanovski N**, Masin J, Kolevski P, Stojceva-Taneva O, Popov Z. Use of Elderly Living Kidney Donors: Twenty Years' Experience in the Balkans. Transplant Proc. 2011; 43: 3415-3417
16. **Ivanovski N**, Popov Z, Kolevski P, Cakalaroski K, Stojkovski L. The Donor Organ Shortage in the Balkans: Accept Everyone! Transpln Proc. 1997: 3397-3398.

17. **Ivanovski N**, Severova – Andreevska G, Masin-Spasovska J, Trajceska L, Danilovska I, Cakalaroski K, Popov Z. La transplantation renale ABO incompatible – Leçons de l'expérience balkanique. Archives of the Balkan Medical Union. 2014; 49: 397-400
18. **Ivanovski N**, Popov Z, Kolevski P, Cakalaroski K, Spasovski G, Sikole A, Paneva-Masin J, Interleukin-2R Antagonists in the Prevention of Acute Rejection in Living Donor Transplantation. Transplant Proc. 2001; 33: 1-2.
19. **Wood K**. Mechanisms of Rejection: Current Perspectives. Transplantation 2012; 93: 1-10
20. **Nankivell B**, Alexander S. Rejection of the Kidney Allograft. N Engl J Med 2010; 363: 1451-1458
21. **Terasaki P**. A Personal Perspective: 100-Year History of the Humoral Theory of Transplantation. Transplantation 2012; 93: 751-756
22. **Legendre C**. Transplantation Rénale. Book. Médecine Science Publication Lavoisier, Paris 2014
23. **Colvin R**. Antibody – Mediated Renal Allograft Rejection: Diagnosis and Pathogenesis. J Am Soc Nephrol 2007; 18: 1146-1156
24. **Puttarajappa C**, Shapiro R, Tan H. Antibody – Mediated Rejection in Kidney Transplantation : A Review. Journal Of Transplantation 2012; 2012: 193724
25. **Djamali A**, Kaufman DB, Ellis TM et al. Diagnosis and Management of Antibody-Mediated Rejection: Current Status and Novel Approaches. American Journal of Transplantation 2014; 14: 255-271
26. **Koenig A**, Mariat C, Moussen C et al. B Cells and Antibodies in Transplantation. Transplantation 2016; 100: 00
27. **Lefaucheur C**, Kopy a, Vernerey D et al. Antibody-Mediated Vascular Rejection of Kidney Allografts : A Population-based Study. Lancet 2013; 381: 313-319
28. **Garces JC**, Guisti S, Staffeld- Coit C, et al. Antibody – Mediated Rejection: A Review. Ochsner Journal 2017; 17: 46-55
29. **Hill G**, Nochy D, Bruneval P et al. Donor-Specific Antibodies Accelerate Arteriosclerosis after Kidney Transplantation. J Am Soc Nephrol 2011; 22: 975-983
30. **Garcia-Carro C**, Dorje C, Asberg A et al. Inflammation in Early Kidney Allograft Surveillance Biopsies With and Without Associated Tubulointerstitial Chronic Damage as a Predictor of Fibrosis Progression and Development of De-Novo Donor Specific Antibodies. Transplantation 2016; 100: 1-6

31. **Curci C**, Castellno G, Stasi A et al. Endothelial-to-mesenchymal transition and renal fibrosis in ischaemia/reperfusion injury are mediated by complement anaphylatoxins and Akt pathway. *Nephrol Dial Transplant* 2014; 29: 799-808
32. **Farris AB**, Chan S, Climenhaga B et al. BANFF Fibrosis Study: Multicenter Visual Assessment and Computerized Analysis of Interstitial Fibrosis in Kidney Biopsies. *American Journal of Transplantation* 2014, 14: 897-907.
33. **Wiebe C**, Gibson W, Blydt- Hansen et al. Evolution and Clinical Pathologic Correlations of De Novo- Specific HLA Antibody Post Kidney Transplant. *American Journal of Transplantation* 2012;12:1157-1167
34. **Loupy A**, Hill G, Jordan S. The Impact of Donor – Specific anti-HLA Antibodies on Late Kidney Allograft Failure. *Nature* 2012; 8: 348-357
35. **Archdecon P**, Chan M, Neuland C et al. Summary of FDA Antibody-Mediated Rejection Workshop. *American Journal of Transplantation* 2011; 11: 896-906
36. **Akalin E** et Pascual M. Sensitization after Kidney Transplantation. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006; 1: 433-440
37. **Tinckam K**, Chandraker A. Mechanisms and Role of HLA and non-HLA Alloantibodies. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006; 1 : 404-44
38. **Süsal C**, Wettsten BS, Döhler B et al. Associated of Kidney Graft Loss With De Novo Produced Donor-Specific and Non-Donor-Specific Antibodies Detected by Single Antigen Testing. *Transplantation* 2015; 99: 1976-1980
39. **Krishnan N**, Zehnder D, Daga S, et al. Behaviour of Non-Donor Specific Antibodies during Rapid Re-Synthesis of Donor Specific HLA Antibodies after Antibody Incompatible Renal Transplantation. *PLOS one* 2013; 8(7): e68663
40. **Hourmant M**, Cesborn-Gautier A, Terasaki P, et al. Frequency and Clinical Implication of Development of Donor-Specific and Non-Donor- Specific HLA Antibodies after Kidney Transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 2804-2812
41. **Cai J**, Terasaki P, Mmao Q, et al. Development of Nondonor- Specific HLA-DR Antibodies in Allograft Recipients is Associated with Shared Epitopes with Mismatched Donor Dr Antigens. *Am J Transplant* 2006; 6: 2947-2954
42. **Mueller T**, Gerritsen K, van Breemen K, Ruesi B, et al. Even Non-Donor-Specific HLA Antibodies Are Associated with a Progressive Decline in Kidney Transplant Function. *Am J Transplant*. 2017;17 (suppl 3)
43. **Lucas D**, Leffell M, Zachary A. Differences in Immunogenicity of Ia Antigens and the Impact of Cross-Reactivity on the Humoral Response. *Transplantation* 2015;99: 78-86

44. **Loopy A**, Lefaucheur C, Vernerey D et al. Complement- Binding Anti HLA Antibodies and Kidney – Allograft Survival. *N Engl J Med* 2013; 369: 1215-1226.
45. **Brachenberg C**, Papadimitriou J. Endothelial Injury in Renal Antibody-Mediated Allograft Rejection: A Schematic View Based on Pathogenesis. *Transplantation* 2013; 95: 1073-1083.
46. **Bachelet T**, Couzi L, Lepreux S et al. Kidney Intragraft Donor-Specific Antibodies as Determinant of Antibody- Mediated Lesions and Poor Graft Outcome. *American Journal of Transplantation* 2013; 13:2855-2864
47. **DeVos J**, Osama Gaber A, Knight R et al. Donor-Specific HLA-DQ Antibodies May Contribute to Poor Graft Outcome After Renal Transplantation. *Kidney Int* 2012; 82: 598-604
48. **Pollinger HS**, Stegall MD et Gloor JM. Kidney Transplantation in Patients with Antibodies Against Donor HLA Class II. *American Journal of Transplantation* 2007; 7:857-863.
49. **Phayphet M**, Alamartine E, Mariat C et al. Harmful Effect of Anti-Class II Antibodies in Kidney Transplant Patients who Experienced an Acute Rejection Episode. *Transplantationsmediizin* 2006; 18: 78-82
50. **Yamamoto T**, Watarai Y, Takeda A et al. De Novo Anti-HLA DSA Characteristics and Subclinical Antibody-Mediated Kidney Allograft Injury. *Transplantation* 2016; 100: 2194-2202
51. **Eskandary F**, Bond G, Kozakowski N et al. Diagnostic Contribution of Donor-Specific Antibody Characteristics to Uncover Late Silent Antibody-Mediated Rejection – Results of a Cross-Sectional Screening Study. *Transplantation* 2016; 100: 1-11
52. **Maluf DG**, Mueller TF et Mas VR. Hidden Inflammatory molecular Signatures in Graft Kidney biopsies: Silent Markers of Graft Rate *American Journal of Transplantation* 2016; 16: 1947-1948
53. **Yamanaga S**, Watarai Y, Yamamoto T, et al. Frequent development of subclinical chronic antibody-mediated rejection within 1 year after renal transplantation with pre-transplant positive donor-specific antibodies and negative CDC crossmatches. *Hum Immunol* 2013; 74: 1111-8
54. **Haas M**, Sis B, Racusen L, et al. BANFF 2013 Meeting Report: Inclusion of C4d – negative Antibody-Mediated Rejection and Antibody-Associated Arterial Lesions. *Am J Transplant* 2014; 14: 272-283
55. **Seron D et Moreso F**. Protocol Biopsies in Renal Transplantation : Prognostic Value of Structural Monitoring. *Kidney Int* 2007 ; 72 : 690-697.

- 56. Henderson LK**, Nankivell BJ, Chapman JR. Surveillance Protocol Kidney Transplant Biopsies: Their Evolving Role in Clinical Practice. *Am J Transplant* 2011; 11: 1570-1575
- 57. Lionaki S**, Panagiotellis K, Iniotaki A et al. Incidence and Clinical Significance of De Novo Donor Specific Antibodies after Kidney Transplantation. *Clinical and Developmental Immunology* 2013; 1-9
- 58. Salvadori M** and Bertoni E. Chronic Renal Allograft Dysfunction Antibody-Mediated: An Update. *EMJ Neph.* 2014;1: 91-99.
- 59. Valenzuela N** and Reed E. Antibodies in Transplantation: The Effect of HLA and Non-HLA Antibody Binding and Mechanisms of Injury. *Methods Mol Biol.* 2013; 1034: 41-70.
- 60. Severova G**, Nikolov I, Cakalaroski Km Sikole A, Trajceska L, Spasovski G, Dimitrovski K, Rambabova-Busljetic I, Ivanovski N. De Novo Anti HLA Antibodies After Kidney Transplantation: Clinical Significance and Association with Graft Function. *Archives of the Balkan Medical Union* 2017; 52: 377-383
- 61. McCaughan JA** and Courtney AE. The Clinical Course of Kidney Transplant Recipients After 20 Years of Graft Function. *Am J Transplant* 2015; 15: 734-740
- 62. McCaughan JA** and Courtney AE. The Clinical Course of Kidney Transplant Recipients After 20 Years of Graft Function. *Am J Transplant* 2015; 15: 734-740
- 63. Valenzuela N**, Mc-Namara J and Reed E. Antibody-Mediated Graft Injury: Complement-Dependent and Complement-Independent Mechanisms. *Curr Opin Orga Transplant.* 2014; 19(1): 33-40.
- 64. McCaughan JA** and Courtney AE. The Clinical Course of Kidney Transplant Recipients After 20 Years of Graft Function. *Am J Transplant* 2015; 15: 734-740
- 65. Opelz G**, Dohler B, Ruhstroth A et al. The Collaborative Transplant Study Registry. *Transplant Rev* 2013; 27: 43-45
- 66. Mao Q**, Terasaki P, Cal J, et al. Extremely High Association Between Appearance of HLA Antibodies and Failure of Kidney Grafts in a Five-Year Longitudinal Study. *Am J Transplant* 2007; 7: 864-871.
- 67. El Ters M**, Grande JL, Keddish MT et al. Kidney Allograft Survival After Acute Rejection, the Value of Follow-Up Biopsies. *Am J Transplant* 2013; 13: 2334-2341.
- 68. Gubensek J**, Buturovic-Ponikvar J et al. Treatment of Antibody-Mediated Rejection After Kidney Transplantation – 10 Years Experience With Apheresis at a Single Centre. *Therapeutic Apheresis and Dialysis* 2016; 20: 240-245
- 69. Maier M** and Takano T. Changing Paradigms in the Management of Rejection in Kidney Transplantation: Evolving From Protocol-Based Care to the Era of P4 Medicine. *Canadian Journal of Kidney Health and Disease* 2017; 4: 1-12

- 70. Tait B**, Süsal C, Gebel H et al. Consensus Guidelines in the Testing and Clinical Management Issues Associated With HLA and Non-HLA Antibodies in Transplantation. *Transplantation* 2013; 95: 19-46
- 71. Naesens M** and Lerut E. Calcineurin Inhibitor Nephrotoxicity in the Era of Antibody-Mediated Rejection. *Transplantation* 2016; 100: 1599- 1560.
- 72. O'Leary J**, Samaniego M, Crespo Barrio M et al. The Influence of Immunosuppressive Agents on the Risk of De Novo Donor-Specific HLA Antibody Production in Solid Organ Transplant Recipients. *Transplantation* 2016; 100: 39-53
- 73. Nankivel B**, P'Ng C, O'Connell P, et al. Calcineurin Inhibitor Nephrotoxicity Through the Lens of Longitudinal Histology: Comparison of Cyclosporin and Tacrolimus Eras. *Transplantation* 2016; 100: 1723-1731.
- 74. Beland MA**, Lapointe I, Noel R, et al. Higher calcineurin inhibitor levels predict better kidney graft survival in patients with de novo donor-specific anti-HLA antibodies: a cohort study. *Transplant Int* 2017; 30: 502-509.
- 75. Mourad G**, Morelon E, Noel C et al. The Role of Thymoglobulin Induction in Kidney Transplantation : an update. *Clin Transplant* 2012; 26: E450-E464
- 76. Brokhof M**, Sollinger H, Hager D et al. Antithymocyte Globulins Associated With a Lower Incidence of De Novo Donor-Specific Antibodies in Moderately Sensitized Renal Transplant Recipients. *Transplantation* 2014, 97: 612-617
- 77. Ferrandiz I**, Cony-Jolivet N, Del Bello A et al. Impact of Early Blood Transfusion After Kidney Transplantation on the Incidence of Donor-Specific Anti-HLA Antibodies. *Am J Transplant* 2016; 16: 2661-2669
- 78. Brennan D**, Daller JA, Kathleen D et al. Rabbit ATG versus Basiliximab in Renal Transplantation. *N Eng J Med* 2014; 355: 1967
- 79. Kaufman DB**, Leventhal JR, L.Gallon LG. Alemtuzumab Induction and Prednisone Free Maintenance Immunotherapy in Simultaneous Pancreas-Kidney Transplantation Comparison With ATG Induction – Long term Results. *A J Transplant*. 2006; 6: 311-339
- 80. Wang D**, Chen W, Wu S et al. One Year Results of Preoperative Single Bolus ATG Induction Therapy in Sensitized Renal Transplant Recipients. *Transplant Proc* 2007; 39: 69-72
- 81. Loupy A**, Haas M, Solez K, et al. The BANFF 2015 Kidney Meeting Report : Current challenges in Rejection Classification and Prospects for Adopting Molecular Pathology. *Am J Transplant* 2017; 17: 28-41.
- 82. Broecker V** and Mengel M. The significance of histological diagnosis in renal allograft biopsies in 2014. *Transplant Int* 2015; 28: 136-145

- 83. Aryal G** and Shah DS. Histopathological evaluation of renal allograft biopsies in Nepal: interpretation and significance. *Journal of Pathology of Nepal* 2012; 2: 172-179.
- 84. Katsuma Ai**, Yamakawa T, Yasuyuki N et al. Histopathological findings in transplanted kidneys. *Renal Replacement Therapy* 2017; 3: 6
- 85. Halloran FP**, Lopez M and Baretto Pereira A. Identifying Subphenotypes of Antibody-Mediated Rejection in Kidney Transplants. *A J Transplant* 2016; 16: 908-920
- 86. Devadass WC**, Vanikar VA, Nigam KL et al. Evaluation of Renal Allograft Biopsies for Graft Dysfunction and Relevance of C4d Staining in Antibody Mediated Rejection. *Journal of Clinical and Diagnosis Research* 2016; 10: 11-15.
- 87. Wehmeier C**, Amico P, Hirt-Minkovski P, et al. Acute Rejection Phenotypes in the Current Era of Immunosuppression: A Single-Centre Analysis. *Transplantation Direct* 2017; 3
- 88. Haas M**, Mirocha J, Reinsmoen N et al. Differences in pathologic features and graft outcomes in antibody-mediated rejection of renal allografts due to persistent /recurrent versus de novo donor specific antibodies. *Kidney Int* 2017; 91: 729-737
- 89. Severova-Andreevska G**, Grcevska L, Petrushevska G, Cakalaroski K, Sikole A, Stojceva-Taneva O, Danilovska I, Ivanovski N. The Spectrum of Histopathological Changes in the Renal Allograft – a 12 Months Protocol Biopsy Study. *Open Access Maced J Med Sci* 2018; 30(4): 606-612.
- 90. Gonzales-Molina M**, Ruiz-Esteban P, Caballero A et al. Immune Response and Histology of Humoral Rejection in Kidney Transplantation. *Nefrologia* 2016; 36(4): 354-367
- 91. Legendre C**. Antibody-mediated vascular rejection of kidney allograft: characterization of different kidney allograft rejection phenotypes via histology, C4d deposition and donor-specific antibodies. *Clinical and Experimental Immunology* 2014; 178: 59-60
- 92. O'Connell P**, Zhang W, Menon M et al. Biopsy transcriptome expression profiling to identify kidney transplants at risk of chronic injury: a multicentre, prospective study. *Lancet*. 2016; 388: 983-93
- 93. Heounjeong Go**, Shin S, Kim HY et al. Refinement of the criteria for ultrastructural peritubular capillary basement membrane multilayering in the diagnosis of chronic active/acute antibody-mediated rejection. *Transplant Int* 2017; 30: 398-409
- 94. Masin Spasovska J**, Spasovski G, Dzikova S et al. Do We Have to Treat Subclinical Rejections in Early Renal Allograft Biopsies. *Transplantation Proceedings* 2007; 39: 2550-2553

- 95. Parajuli S**, Reville P, Ellis T, Djamali A, Mandelbrot D. Outcomes of Protocol Allograft Kidney Biopsy in DeNovo Donor Specific Antibodies. [abstract]. *Am J Transplant*. 2017; 17 (suppl 3).
- 96. Lefaucheur C**, Gosset C, Rabant M, Viglietti D, Verine J, Aubert O, Louis K, Glotz D, Legendre C, Duong Van Huyen JP, Louty A. T cell-mediated rejection is a major determinant of inflammation in scarred areas in kidney allografts. [Am J Transplant](#). 2018 Feb;18(2):377-390.
- 97. Halloran FP**, Chang J, Famulski K, et al. Disappearance of T Cell-Mediated Rejection Despite Continued Antibody-Mediated Rejection in Late Kidney Transplant Recipients. *J Am Soc Nephrol* 2015; 26: 1711-1720.
- 98. Tait B**, Süsal C, Gebel H et al. Consensus Guidelines in the Testing and Clinical Management Issues Associated With HLA and Non-HLA Antibodies in Transplantation. *Transplantation* 2013; 95: 19-46
- 99. Morath C**, Opelz G, Zeier M, et al. Clinical Relevance of HLA Antibody Monitoring after Kidney Transplantation. *Journal of Immunology Research*. 2014; Article 845040: 1-5
- 100. Ishihara H**, Ishida H, Unagami K, et al. Evaluation of Microvascular Inflammation in ABO- Incompatible Kidney Transplantation. *Transplantation* 2017; 101: 1423-1432.
- 101. Mehta R**, Sood P, and Hariharan S. Subclinical Rejection in Renal Transplantation: Reappraised. *Transplantation* 2016; 100: 1610-1618.
- 102. Louty A**, Vernerey D, Tinel C, et al. Subclinical Rejection Phenotypes at 1 year Post-Transplant and Outcome of Kidney Allografts. *J Am Soc Nephrol* 2015; 26: 1-11.
- 103. El Ters M**, Grande JL, Keddish MT et al. Kidney Allograft Survival After Acute Rejection, the Value of Follow-Up Biopsies. *Am J Transplant* 2013; 13: 2334-2341.
- 104. Tasaki M**, Saito K, Nagawa Y, et al. 20-Year Analysis of Kidney Transplantation : A single Center in Japan. *Transplant Proc* 2014; 46: 437-441
- 105. Wang HJ**, Skeans MA and Israni AK. Current Status of Kidney Transplant Outcomes: Dying to Survive. *Adv Chronic Kidney Dis*. 2016; 23: 281-266
- 106. Traynor C**, Jenkinson A, Williams Y et al. Twenty-Year Survivors of Kidney Transplantation. *Am J Transplant* 2012; 12: 3289-3295

107. Matas AJ, Gillingham KJ, Humar A et al. 2,202 Kidney Transplant Recipients with 10 Years of Graft Function: What Happens Next? Am J Transplant 2008; 8: 2410-2419

108. Prattschke J, Dragun D, Hauser I et al. Immunological risk assessment: The key to individualized immunosuppression after kidney transplantation. Transplantation Reviews 2016; 30: 77-84

109. Davis S and Cooper J. Acute antibody-mediated rejection in kidney transplant recipients. Transplantation reviews 2017; 31: 47-54

110. Jordan SC, Lorant J, Choi J et al. IgG Endopeptidase in Highly Sensitized Patients Undergoing Transplantation. N Engl J Med 2017; 377: 442-53

Haarberg K, Tambur A. Detection of donor – specific antibodies in kidney transplantation. British Medical Bulletin 2014; 110: 23-34