

# Utjecaj HLA podudarnosti primatelja i darivatelja bubrega na ishod transplantacije bubrega u Kliničkom bolničkom centru Osijek

---

Sabljo, Roberta

Master's thesis / Diplomski rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:262930>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-14**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Medicine Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**  
**MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**  
**SVEUČILIŠNI INTEGRIRANI PRIJEDIPLOMSKI I DIPLOMSKI**  
**STUDIJ MEDICINE**

**Roberta Sabljo**

**UTJECAJ HLA PODUDARANOSTI**  
**PRIMATELJA I DARIVATELJA**  
**BUBREGA NA ISHOD**  
**TRANSPLANTACIJE BUBREGA U**  
**KLINIČKOM BOLNIČKOM CENTRU**  
**OSIJEK**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2023.**

**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**  
**MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**  
**SVEUČILIŠNI INTEGRIRANI PRIJEDIPLOMSKI I DIPLOMSKI**  
**STUDIJ MEDICINE**

**Roberta Sabljo**

**UTJECAJ HLA PODUDARANOSTI**  
**PRIMATELJA I DARIVATELJA**  
**BUBREGA NA ISHOD**  
**TRANSPLANTACIJE BUBREGA U**  
**KLINIČKOM BOLNIČKOM CENTRU**  
**OSIJEK**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2023.**

Rad je ostvaren na Zavodu za nefrologiju Klinike za unutarnje bolesti Kliničkog bolničkog centra Osijek.

Mentor rada: doc. dr. sc. Tihana Šimundić, dr. med.

Rad ima 21 list i 9 tablica.

## Sadržaj

|  |    |
|--|----|
| 1. UVOD.....                                     | 1  |
| 1.1. Transplantacija bubrega .....               | 1  |
| 1.2. HLA sustav .....                            | 2  |
| 1.2.1. Geni HLA.....                             | 2  |
| 1.2.2. Funkcija i građa molekula HLA.....        | 2  |
| 1.2.3. Transplantacija bubrega i HLA sustav..... | 3  |
| 2. CILJEVI.....                                  | 5  |
| 3. ISPITANICI I METODE.....                      | 6  |
| 3.1. USTROJ STUDIJE .....                        | 6  |
| 3.2. ISPITANICI.....                             | 6  |
| 3.3. METODE.....                                 | 6  |
| 3.4. STATISTIČKE METODE .....                    | 6  |
| 4. REZULTATI.....                                | 7  |
| 5. RASPRAVA .....                                | 12 |
| 6. ZAKLJUČAK .....                               | 15 |
| 7. SAŽETAK .....                                 | 16 |
| 8. SUMMARY .....                                 | 17 |
| 9. LITERATURA.....                               | 18 |
| 10. ŽIVOTOPIS.....                               | 21 |

## POPIS KRATICA

TX – transplantacija bubrega

LD – živi darivatelj

DD – umrli darivatelj

SCD – darivatelji organa po standardnim kriterijima

ECD – darivatelji organa po proširenim kriterijima

DBD – darivatelj nakon moždane smrti

DCD – darivatelj nakon cirkulacijske smrti

DGF – odgođena funkcija presatka

HLA – humani leukocitni antigen

MHC – glavni kompleks molekula tkivne podudaranosti

APC – antigen-prezentirajuće stanice

PRA – panel reaktivna antitijela

DSA – donor specifična protutijela

MM – nepodudaranost

CM – križna reakcija

HR – omjer rizika

## 1. UVOD

### 1.1. Transplantacija bubrega

Transplantacija bubrega (Tx) kirurški je postupak kojim se nadomještava nepovratno izgubljena funkcija bubrega, te osigurava kvaliteta života bolesnicima sa završnim stadijem kroničnog bubrežnog zatajenja (1). U usporedbi sa dijalizom, Tx produžuje trajanje života bolesnika (2).

Opisani su mnogobrojni čimbenici koji utječu na ishod Tx, a među njima najvažnija je kvaliteta presatka dobivenog od darivatelja, pri čemu je Tx bubrega živih darivatelja (LD, engl. *living donor*) povezana s boljim učinkom (3). Razlozi zbog kojih je bubreg LD-a superiorniji u odnosu na bubreg mrtvog darivatelja (DD, engl. *deceased donor*) su precizna predtransplantacijska procjena bubrežne funkcije darivatelja, te kratko vrijeme hladne ishemije zbog čega presađeni bubrezi ranije počinju funkcionirati uz smanjenju potrebu za agresivnijom imunosupresivnom terapijom (3, 4).

Također, s boljim ishodom su povezani presađeni bubrezi darivatelja po standardnim kriterijima (SCD, engl. *standard criteria donor*). SCD su darivatelji osobe mlađe od 50 godina bez komorbiditeta. Dok su darivatelji organa prema proširenim kriterijima (ECD, engl. *expanded criteria donor*) zdravi preminuli darivatelji stariji od 60 godina ili osoba starija od 50 godina kod koje su pozitivna barem 2 od slijedećih navedenih kriterija: vrijednost serumskog kreatinina  $> 130 \mu\text{mol/l}$ , hipertenzija ili cerebrovaskularna bolest kao uzrok smrtnog ishoda (4, 5). ECD kriteriji su uvedeni radi povećanja broja mogućih darivatelja zbog porasta broja pacijenata na bubrežnoj transplantacijskoj listi (6). Korištenje bubrežnih presadaka od ECD darivatelja pokazalo se korisnim, a to su Merion i sur. pokazali u istraživanju u kojem je dokazano da je za 17% smanjen mortalitet primatelja koji su dobili presadak od ECD darivatelja u odnosu na preostale na transplantacijskoj listi (7).

U prošlosti su isključivo darivatelji nakon moždane smrti (DBD, engl. *donation after brain death*) razmatrani za uključivanje u transplantacijski program, a u posljednjim desetljećima zbog manjka organa, došlo je do ponovnog interesa za donacije nakon cirkulacijske smrti (DCD, engl. *donation after circulatory death*), te su uz DCD darivatelje u transplantacijski program uvršteni i darivatelji koji imaju kombinaciju stanja (DBCD, engl. *donor after brain death followed by circulatory death*) (8). Rezultati studije Muller i sur. pokazuju da su stope preživljavanja slične između DBD i DCD tijekom duljeg vremenskog razdoblja, unatoč tome što je DCD povezana s većom stopom odgođene funkcije presatka (DGF, engl. *delayed graft*

*function*) (9).

Od čimbenika vezanih za primatelja najvažniji su životna dob primatelja, etnička pripadnost, HLA podudaranost, HLA imunizacija, vrijeme provedeno na dijalizi te prateće kardiovaskularne bolesti (3).

## **1.2. HLA sustav**

Sustav humanog leukocitnog antigena (HLA, engl. *human leukocyte antigen*) skupina je genskog kompleksa koji kodira glavni kompleks molekula tkivne podudaranosti (MHC, engl. *major histocompatibility complex*). MHC molekule smještene su na staničnoj membrani leukocita u ljudi po čemu je i ovaj kompleks dobio ime. Kompleks gena HLA sustava smješten je na kratkom kraku 6. kromosoma (6p21) i obuhvaća oko 3,600 kilobaza DNK (10, 11). U svakoj se pojedinoj osobi HLA kodinantno izražava na kromosomu 6. Djeca od svakog roditelja nasljeđuju po jedan haplotip HLA, prema tome dijete može naslijediti četiri različite kombinacije haplotipa HLA od roditelja. Stoga postoji 25% šanse za nepodudaranje, 25% za podudaranjem i 50% šanse polovične podudaranosti između braće i sestara (12).

### **1.2.1. Geni HLA**

Dvije skupine polimorfnih gena HLA nalaze se na lokusu HLA. One kodiraju dvije skupine homolognih bjelančevina. Unutar lokusa HLA nalaze se i nepolimorfni geni koji kodiraju produkte važne u prezentiranju antigena (13). Skupina HLA-I gena sadrži HLA-A, HLA-B i HLA-C, koji su najopsežnijih polimorfni geni, te HLA-E, HLA-F i HLA-G čija je uloga u imunološkom sustavu ograničena. S druge strane, skupina HLA-II gena uključuje 3 lokusa molekula HLA-II, a to su HLA-DP, HLA-DQ i HLA-DR (13, 14). Najvažnije obilježje HLA sustava, koje ima ključnu ulogu u imunološkoj reakciji, pritom je važno i kod transplantacije organa i tkiva, je veliki broj aleličnih polimorfizama. HLA polimorfizmi omogućavaju prepoznavanje većeg broja peptidnih antigena koji se prezentiraju CD4<sup>+</sup> T limfocitima što omogućava adaptivni imunološki odgovor. Zbog navedenog postoji rizik akutnog/kroničnog odbacivanja transplantiranog organa u slučaju nepodudaranosti HLA antigena jer nakon izlaganja alo-HLA antigenima dolazi do produkcije anti-HLA antitijela, koja su rizični faktor za odbacivanje presatka (15).

### **1.2.2. Funkcija i građa molekula HLA**

#### **1.2.2.1. Molekule HLA razreda I**

Kao heterodimerni glikoproteini, molekule HLA razreda I građene su od dva polipeptidna lanca:  $\alpha$  lanca (ili teškog lanca), kodiranog genima HLA, i  $\beta$  lanca (ili  $\beta 2$  mikroglobulina)



kojeg geni HLA ne kodiraju.  $\alpha$  lanac sastoji se od izvanstaničnog dijela na koji se veže peptid, domene slične imunoglobulinu (Ig), hidrofobne transmembranske domene i citoplazmatske domene. Ključni je dio molekule HLA-I pukotina bogata polimorfnim aminokiselinskim ostacima koja svojom veličinom može vezati prerađene strane antigene veličine od 8 do 11 aminokiselina. Izvanstanični dio molekule HLA-I sastoji se od tri glikozilirane domene:  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  i  $\alpha 3$ . Domene  $\alpha 1$  i  $\alpha 2$  lanca  $\alpha$  bitne su u stvaranju pukotine, dok dio  $\alpha 3$  lanca  $\alpha$  formira Ig domenu koja je istovjetna u svim molekulama HLA-I. Na izvanstanični dio polimorfnog  $\alpha$  lanca nekovalentno veže se nepolimorfni  $\beta 2$  mikroglobulin, koji je kao i domena  $\alpha 3$  lanca  $\alpha$  u svim molekulama HLA-I istovjetan (13, 16).

### 1.2.2.2. Molekule HLA razreda II

Antigen prezentirajuće stanice (APC, engl. antigen presenting cell) i epitelne stanice timusa na svojoj površini eksprimiraju molekule HLA razreda II. Građa molekule HLA-II slična je molekulama iz razreda I. Glavni su dijelovi molekule HLA-II: izvanstanični dio koji veže peptid, domena slična imunoglobulinu (Ig), transmembranska domena i citoplazmatska domena. Kao heterodimerni glikoproteini, vezani za staničnu membranu, sastoje se iz dva polimorfna lanca:  $\alpha$  lanca i  $\beta$  lanca. Oba lanca podijeljena su na podjedinice  $\alpha 1$  i  $\beta 1$  koje tvore pukotinu koja veže antigenski peptid, te  $\alpha 2$  i  $\beta 2$  podjedinice čijim savijanjem nastane domena slična imunoglobulinu. Za pukotinu molekula HLA-II tipični su otvoreni krajevi pukotine koji omogućavaju antigenskim peptidima veličine veće od 30 aminokiselina lakše vezanje (13, 17).

### 1.2.2.3. Funkcije molekula HLA-I i HLA-II

Na površini svih stanica s jezgrom izražene su molekule HLA-I, dok su molekule HLA-II usko vezane uz stanice imunološkog sustava, te su izražene na APC, poput B limfocita i dendritičkih stanica. Funkcija molekula HLA-I i HLA-II povezana je s ulogom T limfocita. Molekule HLA-I prezentiraju CD8<sup>+</sup> citotoksičnim limfocitima T peptide koji su nastali razgradnjom oštećenih intracelularnih proteina, virusnih ili tumorskih proteina što dovodi do aktivacije imunoloških mehanizama s ciljem uništavanja stanice. S druge strane, CD4<sup>+</sup> limfociti T prepoznaju peptidne antigene (npr. bakterijske peptide) spregnute s molekulama HLA-II na površini APC, koji su nastali razgradnjom ekstracelularnih mikroorganizama (13, 18).

### 1.2.3. Transplantacija bubrega i HLA sustav

Glavni je razlog odbacivanja presatka prepoznavanje aloantigena od strane limfocita T.

Postoje dva puta prepoznavanja aloantigena: izravni i neizravni put. Limfociti T u izravnom putu prepoznaju intaktne alo-HLA antigene na površini stanica presatka, dok se u neizravnom putu prepoznaju peptidi dobiveni iz alo-HLA molekula vezane za vlastite HLA molekule. Također, u odbacivanju presatka imaju ulogu aktivirani limfociti B čijom proliferacijom nastaju plazma stanica koje proizvode specifična protutijela HLA (19).

Prije uvrštavanja pacijenta na transplantacijsku listu potrebno je napraviti imunološku obradu. Od testova se rade testiranje na ABO kompatibilnost, HLA tipizacija, testiranje na PRA (engl. *panel reactive antibodies*) i donor specifična protutijela (DSA, engl. *donor specific alloantibody*). Pošto stupanj HLA podudaranosti utječe na dugoročno preživljenje presatka, obavezno je testirati HLA antigene bilo molekularnom ili serološkom metodom (20). Potrebno je provesti tipizaciju za alele lokusa HLA-A, -B i -DR kod primatelja i davatelja. Manjim brojem nepodudaranosti (MM, engl. *mismatch*) između primatelja i darivatelja postiže se bolje dugoročno preživljenje presatka (21).

Zbog mogućnosti stvaranja protutijela HLA u slučaju prethodne transplantacije organa ili tkiva ili transfuzije krvnih pripravaka, prije prijave na transplantacijsku listu čekanja određuju se ista testom mikrolimfocitotoksičnosti ovisnim o komplementu (CDC). Testira se serum pacijenta s panelom limfocita poznate tipizacije HLA dok se kao postotak PRA označava dobiveni rezultat. Probir se seruma potencijalnih primatelja radi u tromjesečnom vremenskom intervalu kako bi se kontinuirano pratila HLA senzibilizacija. Osim CDC metode dostupne su za uporabu i metode kao što su ELISA, flow-citometar i najnovija Luminex metoda. Posljednji test koji se izvodi prije Tx bubrega je test križne reakcije (CM, engl. *cross match*) koji se također izvodi CDC metodom. CM testom isključuje se prisutnost DSA IgG protutijela koja se povezuju s hiperakutnim odbacivanjem organa. Apsolutnu kontraindikaciju za Tx bubrega predstavlja pozitivan test CM (21, 22).

## 2. CILJEVI

Planirani su ciljevi istraživanja:

1. Ispitati utjecaj HLA podudaranosti na preživljenje transplantanta
2. Ispitati individualni efekt 3 HLA lokusa (HLA-A, HLA-B i HLA-DR) na ishod transplantacije bubrega

### 3. ISPITANICI I METODE

#### 3.1. USTROJ STUDIJE

Studija je formirana kao presječno istraživanje.

#### 3.2. ISPITANICI

U istraživanje su bili uključeni bolesnici kojima je odrađena transplantacija bubrega u KBC-u Osijek u razdoblju od listopada 2008. do prosinca 2018. godine, te se kontroliraju na Zavodu za nefrologiju KBC-a Osijek.

#### 3.3. METODE

Za svakog pojedinog ispitanika (primatelja) relevantni demografski i klinički podatci prikupljeni su iz dostupne medicinske dokumentacije i bolničkog informatičkog sustava (BIS). Bilježili su se spol, dob, antropometrijski podatci (tjelesna masa, visina, BMI), laboratorijska obilježja (GUK, CRP, urati, kreatinin), anamnestički podatci (prijašnje bolesti), te vrijednosti kreatinina 12 mj., 24 mj. i 36 mj. nakon transplantacije.

Klinički podatci o darivateljima i o HLA podudaranosti dobiveni su iz baze Eurotransplant. Zapisivali su se podatci o spolu, dobi i antropometrijskim obilježjima (tjelesna masa, visina, BMI) darivatelja. CKD-EPI jednadžba korištena je za izračunavanje eGFR, a bazira se na koncentraciji serumskog kreatinina uz uključivanje drugih varijabli poput spola, dobi i rase.

#### 3.4. STATISTIČKE METODE

Kategorički su podaci predstavljeni apolutnim i relativnim frekvencijama. Normalnost raspodjele numeričkih varijabli testirana je Shapiro - Wilkovim testom, a zbog razdiobe koja ne slijedi normalnu, podaci su opisani medijanom i granicama interkvartilnog raspona. Za testiranje razlika kontinuiranih varijabli između tri i više skupina koristio se Kruskal Wallis test (post hoc Conover). Razlike po mjerenjima testirane su Friedmanovim testom. Sve P vrijednosti su dvostrane. Razina značajnosti je postavljena na  $\text{Alpha} = 0,05$ . Za analizu podataka korišten je statistički program MedCalc® Statistical Software version 20.100 (*MedCalc Software Ltd, Ostend, Belgium; <https://www.medcalc.org>; 2022*) i SPSS ver. 23 (*IBM Corp. Released 2015. IBM SPSS, Ver. 23.0. Armonk, NY: IBM Corp.*).

#### 4. REZULTATI

Istraživanje je provedeno na 81 transplantiranom bolesniku, od kojih su 44 (54 %) muškaraca i 37 (46 %) je žena. U skupini donora 53 (65 %) su muškarci, a 28 (35 %) su žene. Medijan dobi bolesnika je 60 godina (interkvartilnog raspona od 55 do 66 godina) u rasponu od 37 do 76 godina. Od komorbiditeta najučestalija je hipertenzija, kod 78 (96 %) bolesnika. Puši 13 (16 %) ispitanika (Tablica 1).

Tablica 1. Osnovna obilježja ispitanika

|                      | Broj (%) primatelja |
|----------------------|---------------------|
| <b>Spol</b>          |                     |
| Muškarci             | 44 (54)             |
| Žene                 | 37 (46)             |
| <b>Komorbiditeti</b> |                     |
| Hipertenzija         | 78 (96)             |
| Dijabetes            | 20 (25)             |

Dob primatelja i donora kao i ostali antropometrijski podatci prikazani su u Tablici 2.

Tablica 2. Dob i antropometrijski podatci primatelja i donora

|   | Medijan<br>(interkvartilni raspon) | Raspon<br>(minimum – maksimum) |
|---|------------------------------------|--------------------------------|
| <b>Primatelj</b>  |                                    |                                |
| Dob primatelja  | 60 (55 – 66)                       | 37 - 76                        |
| Dob primatelja kod transplantacije                            | 53 (47 – 59)                       | 27 - 74                        |
| Tjelesna visina (m)   | 1,69 (1,62 – 1,78)                 | 1,49 – 1,92                    |
| Indeks tjelesne mase (kg/m <sup>2</sup> )                     | 28,07 (25,39 – 32,44)              | 20,72 – 41,14                  |
| Indeks tjelesne mase kod transplantacije (kg/m <sup>2</sup> ) | 25,96 (23,75 – 29,28)              | 18,88 – 37,25                  |
| <b>Donor</b>  |                                    |                                |
| Dob donora  | 48 (40 – 57)                       | 16 - 75                        |
| Tjelesna masa primatelja (kg)                                 | 80 (70 – 90)                       | 50 – 130                       |
| Tjelesna visina (m)   | 1,75 (1,68 – 1,80)                 | 1,58 – 1,90                    |
| Indeks tjelesne mase (kg/m <sup>2</sup> )                     | 25,71 (23,37 – 27,78)              | 17,82 – 38,82                  |

Od rizičnih čimbenika, 13 (16 %) bolesnika puši, 78 (96 %) ih ima hipertenziju, a 20 (25 %) dijabetes. Ostali anamnestički podatci prikazani su u Tablici 3.

Tablica 3. Anamnestički podatci primatelja

|  | Broj (%) primatelja             |
|--|---------------------------------|
| Pušenje  | 13 (16)                         |
| Hipertenzija   | 78 (96)                         |
| Dijabetes  | 20 (25)                         |
| ACE  | 39 (48)                         |
| AIM  | 6 (7)                           |
| CVI  | 2 (3)                           |
|  | Medijan (interkvartilni raspon) |
| Tlak – sistolički  | 130 (120 – 143)                 |
| Tlak - dijastolički  | 80 (75 – 90)                    |
| Dislipidemija - kolesterol   | 5,62 (4,756 – 6,74)             |
| Sadašnji kreatinin (ummol/L)   | 123 (98 – 173)                  |
| Sadašnja bubrežna funkcija kod transplantiranog bolesnika EGFR ckd-EPI | 50 (33 – 62)                    |
| GUK  | 6,1 (5,45 – 6,80)               |
| CRP  | 3,6 (1,7 – 7,0)                 |
| Proteinurija   | 0 (0 – 1)                       |
| Urati  | 417,5 (362 – 482,5)             |

Vrijednosti kreatinina od transplantacije pa do sadašnje vrijednosti nisu se značajno mijenjale, za razliku od vrijednosti EGFR koje su značajno niže bile na kraju 1. godine u odnosu na drugu i treću, a sadašnja vrijednost je značajno niža u odnosu na drugu i treću godinu (Friedmanov test,  $P < 0,001$ )

Tablica 4. Promjena vrijednosti kreatinina i EGFR s obzirom na godine

|           | Medijan (interkvartilni raspon) |                     |                     |                     | $P^*$            |
|-----------|---------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|------------------|
|           | 1. godina                       | 2. godina           | 3. godina           | Sadašnja vrijednost |                  |
| Kreatinin | 118<br>(95 - 147,5)             | 113<br>(94,5 - 141) | 117<br>(93,5 - 135) | 123<br>(98 - 173)   | 0,05             |
| EGFR      | 54 (43 - 67)                    | 55 (44,5 - 67,5)    | 56 (44,5 - 68,5)    | 50 (33 - 62)        | <b>&lt;0,001</b> |

\*Friedmanov test

†na razini  $P < 0,05$  značajne su niže vrijednosti više vrijednosti 1. godine u odnosu na 2. i 3.; značajno su niže sadašnje vrijednosti u odnosu na 2. i 3. godinu

Zastupljenost HLA lokusa i ukupnog mismatch prikazan je u Tablici 5.

Tablica 5. Zastupljenost HLA lokusa

|                             |  | Broj (%)  |
|-----------------------------|--|-----------|
| A lokus u HLA podudarnosti  |  |           |
| 0                           |  | 19 (23,5) |
| 1                           |  | 43 (53,1) |
| 2                           |  | 19 (23,5) |
| B lokus u HLA podudarnosti  |  |           |
| 0                           |  | 13 (16)   |
| 1                           |  | 46 (56,8) |
| 2                           |  | 22 (27,2) |
| DR lokus u HLA podudarnosti |  |           |
| 0                           |  | 16 (19,8) |
| 1                           |  | 57 (70,4) |
| 2                           |  | 8 (9,9)   |
| Ukupni mismatch             |  |           |
| 0                           |  | 1 (1,2)   |
| 1                           |  | 6 (7,4)   |
| 2                           |  | 14 (17,3) |
| 3                           |  | 35 (43,2) |
| 4                           |  | 20 (24,7) |
| 5                           |  | 5 (6,2)   |

Značajno su više vrijednosti kreatinina prema 0 podudarnosti u A lokusu HLA podudarnosti u svim godinama nakon transplantacije i s obzirom na trenutni kreatinin. Vrijednosti EGFR nisu povezane s A lokusom u HLA podudarnosti (Tablica 6).

Tablica 6. Razlike u vrijednostima kreatinina i EGFR prema A lokusu u HLA podudarnosti

|                    | Medijan (interkvartilni raspon) kreatinina prema MM - A |                |                | $P^*$         |
|--------------------|---|----------------|----------------|---------------|
|                    | 0   | 1              | 2              |               |
| Kreatinin 1        | 156 (104 - 188)   | 107 (93 - 132) | 116 (95 - 131) | <b>0,03</b> † |
| Kreatinin 2        | 145 (112 - 163)   | 113 (90 - 135) | 106 (93 - 118) | <b>0,02</b> † |
| Kreatinin 3        | 139 (115 - 168)   | 102 (91 - 132) | 114 (91 - 128) | <b>0,03</b> † |
| Kreatinin trenutni | 166 (109 - 202)   | 123 (98 - 151) | 107 (85 - 144) | <b>0,04</b> † |
| EGFR 1             | 43 (28 - 68)  | 54 (48 - 67)   | 56 (48 - 67)   | 0,20          |
| EGFR 2             | 49 (33 - 60)  | 57 (47 - 66)   | 65 (51 - 73)   | 0,11          |
| EGFR 3             | 46 (34 - 64)  | 57 (49 - 68)   | 58 (40 - 71)   | 0,13          |
| EGFR sadašnji      | 38 (31 - 61)  | 51 (39 - 61)   | 57 (42 - 75)   | 0,12          |

\*Kruskal Wallis test (post hoc Conover)

†na razini  $P < 0,05$  značajno su više vrijednosti u (0) odnosu na (1) i (2)

Nema značajnih razlika kreatinina i EGFR prema B lokusu u HLA podudarnosti, u niti jednoj godini ni u sadašnjim vrijednostima (Tablica 7).

Tablica 7. Razlike u vrijednostima kreatinina i EGFR prema B lokusu u HLA podudarnosti

|                    | Medijan (interkvartilni raspon) kreatinina prema MM - B |                      |                        | P*   |
|--------------------|---|----------------------|------------------------|------|
|                    | 0   | 1                    | 2                      |      |
| Kreatinin 1        | 124 (83 - 152,5)  | 118 (95,8 - 150,3)   | 117 (94,5 - 148,5)     | 0,92 |
| Kreatinin 2        | 126 (87,5 - 152)  | 112 (86,8 - 130,8)   | 115,5 (96,5 - 139,25)  | 0,53 |
| Kreatinin 3        | 119 (88 - 133,5)  | 114,5 (92,3 - 134,2) | 123,5 (96,25 - 141,75) | 0,59 |
| Kreatinin trenutni | 131 (100,5 - 187)                                       | 121 (97,75 - 173,25) | 128 (96,25 - 175,25)   | 0,83 |
| EGFR 1             | 62 (45,5 - 67,5)  | 52 (43 - 63,25)      | 53,5 (42,75 - 68,25)   | 0,55 |
| EGFR 2             | 56 (44 - 69,5)  | 57 (46,5 - 68,75)    | 54,5 (43,75 - 67,5)    | 0,79 |
| EGFR 3             | 63 (51,5 - 68,5)  | 54 (43,75 - 72)      | 53,5 (42,75 - 68,25)   | 0,44 |
| EGFR sadašnji      | 49 (34 - 64)  | 51 (34,75 - 62,25)   | 50 (31 - 62,8)         | 0,99 |

\*Kruskal Wallis test

Nema značajnih razlika kreatinina i EGFR prema DR lokusu u HLA podudarnosti, u niti jednoj godini od transplantacije, niti u sadašnjim vrijednostima (Tablica 8).

Tablica 8. Razlike u vrijednostima kreatinina i EGFR prema DR lokusu u HLA podudarnosti

|                    | Medijan (interkvartilni raspon) kreatinina prema MM - DR |                    |                       | P*   |
|--------------------|--|--------------------|-----------------------|------|
|                    | 0  | 1                  | 2                     |      |
| Kreatinin 1        | 109 (88,3 - 141,5)                                       | 116 (94 - 153)     | 133 (121,75 - 163,25) | 0,25 |
| Kreatinin 2        | 109 (88,5 - 133,8)                                       | 113 (94 - 143)     | 128 (119,5 - 151)     | 0,23 |
| Kreatinin 3        | 114,5 (94 - 132,5)                                       | 115 (91 - 137)     | 125,5 (117,5 - 141,5) | 0,51 |
| Kreatinin trenutni | 118 (96,5 - 137)   | 122 (97,5 - 174,5) | 170 (128,25 - 188,25) | 0,22 |
| EGFR 1             | 60,5 (39 - 72,5)   | 53 (44 - 67)       | 53,5 (40 - 61,5)      | 0,76 |
| EGFR 2             | 60,5 (41,8 - 75,3)                                       | 55 (46 - 66,5)     | 50,5 (44,25 - 62,25)  | 0,57 |
| EGFR 3             | 56,5 (37,8 - 70,5)                                       | 56 (44,5 - 68,5)   | 52,5 (46 - 63,75)     | 0,96 |
| EGFR sadašnji      | 49,5 (39,8 - 61,8)                                       | 51 (32 - 63,5)     | 36,5 (31,5 - 57,3)    | 0,57 |

\*Kruskal Wallis test



Nema značajnih razlika u vrijednostima kreatinina i EGFR u odnosu na ukupni mismatch (Tablica 9).

Tablica 9. Razlike u vrijednostima kreatinina i EGFR prema ukupnom mismatch

|                    | Medijan (interkvartilni raspon) kreatinina prema ukupnom mismatch |                         |                          |                    |                         |                       | P*   |
|--------------------|---|-------------------------|--------------------------|--------------------|-------------------------|-----------------------|------|
|                    | 0<br>(n=1)  | 1                       | 2                        | 3                  | 4                       | 5                     |      |
| Kreatinin 1        | 101   | 130<br>(79,3 - 206,8)   | 117,5<br>(78,8 - 160)    | 129<br>(100 - 151) | 102,5<br>(93,5 - 124)   | 116<br>(97 - 218)     | 0,59 |
| Kreatinin 2        | 112   | 129<br>(72 - 180)       | 120,5<br>(84,8 - 152)    | 119<br>(98 - 137)  | 103,5<br>(93,3 - 130,8) | 111<br>(101,5 - 181)  | 0,92 |
| Kreatinin 3        | 98  | 140,5<br>(79,5 - 224,5) | 115,5<br>(85,5 - 145,8)  | 120<br>(98 - 135)  | 111<br>(91,8 - 131,8)   | 110<br>(91,5 - 181)   | 0,92 |
| Kreatinin trenutni | 98  | 127,5<br>(92,5 - 232,3) | 130,5<br>(107,5 - 182,8) | 123<br>(100 - 166) | 121,5<br>(90 - 179,8)   | 107<br>(91,5 - 213,5) | 0,83 |
| EGFR 1             | 68  | 47,5<br>(25,8 - 81,3)   | 57,5<br>(37 - 79,3)      | 52<br>(43 - 62)    | 56,5<br>(51 - 67)       | 53<br>(30,5 - 82,5)   | 0,62 |
| EGFR 2             | 60  | 46<br>(30,3 - 79)       | 55,5<br>(43,8 - 78)      | 54<br>(44 - 66)    | 58<br>(47,8 - 68,5)     | 55<br>(34 - 77,5)     | 0,97 |
| EGFR 3             | 69  | 40<br>(29 - 71,8)       | 59,5<br>(45,3 - 81,3)    | 54<br>(45 - 65)    | 57,5<br>(44,5 - 68,8)   | 51<br>(34 - 86)       | 0,72 |
| EGFR sadašnji      | 67  | 40,5<br>(24,3 - 67,3)   | 45,5<br>(32,5 - 58,3)    | 51<br>(36 - 61)    | 53,5<br>(31,5 - 64,5)   | 60<br>(31 - 84,5)     | 0,68 |

\*Kruskal Wallis test

## 5. RASPRAVA

U transplantaciji organa, HLA podudaranje pruža mnoge prednosti poput poboljšanja funkcije presatka, dužeg preživljenja presatka i smanjenja epizoda odbacivanja organa. S druge strane, neusklađenost HLA može rezultirati češćim epizodama odbacivanja presatka što onda zahtjeva povećanu uporabu imunosupresivne terapije (23). Zbog uporabe imunološke terapije, koja pospješuje preživljenje presatka i novijeg napretka u kirurškim tehnikama, danas se vodi rasprava o ulozi HLA sustava u preživljenju presatka (24).

Na uzorku od 81 bolesnika s bubrežnim presatkom, koji se kontroliraju u KBC-u Osijek, u našem istraživanju proučavali smo povezanost ishoda Tx bubrega s MM. Ishod Tx promatran je određivanjem koncentracija kreatinina primatelja 12, 24 i 36 mjeseci nakon Tx bubrega..

Medijan dobi primatelja bubrega, u našoj analiziranoj skupini, bio je 60 (55-66) godina, što odgovara podacima Eurotransplanta prema kojima je isti u porastu. S druge strane, prema podacima Eurotransplanta iz 2022. godine, medijan dobi umrlih darivatelja bio je 54 godine (25). U našem istraživanju, u kojem nismo vršili podjelu na LD i DD, medijan dobi darivatelja iznosi 48 (16-75) godina.

U nekoliko studija proučavan je utjecaj imunosupresivnih terapijskih protokola na minimaliziranje učinka HLA sustava. Jedna od njih je i studija Kaiesa i sur. u kojoj je istraživani utjecaj HLA MM na akutno odbacivanje presatka u slučaju pacijenata kojima su transplantirani bubrezi DD i koji su bili na takrolimus/mikofenolat mofetil imunosupresivnoj terapiji. Zaključak iste bio je da HLA-A, HLA-DR i HLA-DQ imaju minimalan utjecaj na preživljenje presatka, dok i dalje imaju važnu ulogu u akutnom odbacivanju presatka (26). Slične rezultate što se tiče utjecaja HLA-A i HLA-DR MM na preživljenje presatka, smo i mi u našem istraživanju dobili, no kod nas nisu prikupljeni podatci o imunosupresivnoj terapiji jer je cilj istraživanja bio ispitati općenito utjecaj HLA bez uključivanja ostalih čimbenika koji mogu utjecati na ishod transplantacije poput dobi, spola i imunosupresivne terapije.

Nadalje, u kohortnoj studiji Lynch S i sur. ispitivan je posebno učinak HLA-DR te je uočeno da primatelji s 0 podudaranosti u DR lokusu HLA imaju najniže stope odbacivanja presatka u odnosu na 1 i 2 HLA-DR MM. Za otkazivanje presatka cenzurirano za smrt i smrt s funkcijom presatka uočeni su slični obrasci (27). Nasuprot tome, u našem istraživanju, kao i u slučaju HLA-A i HLA-B, nije uočena statistički značajna povezanost ishoda Tx s HLA-DR

(0-2).

Osim našeg istraživanja napravljeno je i nekoliko drugih istraživanja, na ovakvu temu, na području Republike Hrvatske. Jedno takvo istraživanje je i studija Neretljaka I i sur., u kojem je ispitivan utjecaj različitih svojstava primatelja i darivatelja na ishod Tx, na uzorku od 472 pacijenata s presađenih 480 bubrega gdje je uočeno u multivarijantnoj analizi da HLA MM nije značajno povezana sa preživljenjem pacijenata, što odgovara rezultatima našeg istraživanja (28).

Utjecaj HLA MM u transplantacijama od LD istraživao je u velikoj kohortnoj studiji Williams RC i sur. koja je uključivala prve bubrežne transplantacije provedene u SAD-u u razdoblju od 25 godina. Na temelju provedene analize uočen je sa svakom HLA nekompatibilnošću značajan linearni nepovoljan utjecaj na preživljenje LD presatka. Također, pokazano je da su presadci bubrega LD povezani s 34% smanjenim rizikom od zatajenja bubrega u komparaciji s transplantacijama od DD među svim primateljima organa s HLA nepodudaranosti 1 do 6. Omjer rizika (HR, engl. *hazard ratio*) za presatke LD bio je manji u odnosu na presatke DD unutar iste kategorije neusklađenosti. Nadalje, zanimljiva činjenica iz studije je da se HR-ovi mnogih srodnih LD i nesrodnih LD s velikim HLA neslaganjem nisu značajno razlikovali od referentnih, pa bi se na temelju toga mogao izvesti zaključak da je u transplantaciji bubrega srodni LD ili nesrodni LD s mnogo HLA nepodudaranosti poželjan ili jednako vrijedan blisko podudaranom DD (24).

U velikoj međunarodnoj studiji Echterdiek F i sur. analiziran je utjecaj HLA nekompatibilnosti na ishod Tx bubrega u skupini ECD-a i u skupini donora veće starosne dobi (>70 godina). Nekoliko zaključaka doneseno je na temelju provedene studije: 1. Na rizik od epizoda odbacivanja presatka utjecaj HLA nekompatibilnosti bio je značajan za transplantacije od ECD-a, ali manje izražen u komparaciji s transplantacijama od SCD-a; 2. Utjecaj MM na odbacivanje presatka značajan je za transplantacije od ECD-a u dobi od  $\geq 70$  godina, no manji u usporedbi s transplantacijom skupine ECD-ova <70 godina; 3. Za transplantacije od ECD-a i SCD-a utjecaj HLA nekompatibilnosti usporediv je (29). U našem istraživanju nije se istraživao posebno utjecaj HLA nekompatibilnosti u ECD i SCD skupinama donora zbog malog broja Tx bubrega, na području Republike Hrvatske, koje uključuju donore po proširenim kriterijima.

Studija Foster BJ i sur. uključivala je pedijatrijsku populaciju, koja predstavlja manji udio pacijenata u transplantacijskim programima bubrega. U istoj je donesen zaključak da je

preživljenje bubrežnog presatka poboljšano za primatelje presatka od LD u odnosu na DD. Bolje rezultate imali su dobro podudarani (0-3 MM) stariji LD, nego loše podudarani (4-6 MM) mlađi DD. Taj podatak može se obrazložiti činjenicom da su većina LD u pedijatriji roditelji ili bliži srodnici (haploidni MM) te strogo procjenom darivatelja (30). Rezultate navedene studije ne možemo usporediti s našim rezultatima jer u našem istraživanju nisu bila uključena djeca jer se u KBC Osijek ista ne liječe niti kontroliraju. No unatoč tome, ova studija pokazuje koliko je za povoljan ishod transplantacije bitna što veća HLA podudaranost.

## 6. ZAKLJUČAK

Na temelju rezultata provedenog istraživanja mogu se izvesti sljedeći zaključci:

- Ukupni MM (0-6) nije bio povezan s razinama serumskog kreatinina i vrijednostima EGFR.
- 0 podudaranosti u HLA-A lokusu jedino je bilo povezano s povišenim razinama serumskog kreatinina u svakoj godini od transplantacije bubrega. S druge strane, prema 1 i 2 podudaranosti u HLA-A lokusu nema značajnih razlika u vrijednostima kreatinina.
- Vrijednosti EGFR i kreatinina nisu povezane sa lokusom B i DR u HLA podudaranosti.

## 7. SAŽETAK

**Cilj istraživanja:** Istražiti utjecaj molekula HLA-A, HLA-B i HLA-DR te ukupnog MM (engl. *mismatch*) na ishod transplantacije bubrega.

**Nacrt studije:** Studija je formirana kao presječno istraživanje.

**Ispitanici i metode:** U istraživanje je uključen 81 bolesnik kojima je bubrežni presadak transplantiran u Kliničkom bolničkom centru Osijek. Podatci o primateljima presatka pribavljeni su iz medicinske dokumentacije i bolničkog informatičkog sustava (BIS), dok su podatci o darivateljima presatka i HLA podudaranosti dobiveni iz baze Eurotransplantant. Podatci su statistički obrađeni pomoću MedCalc® Statistical Software (version 20.100) i SPSS (version 23).

**Rezultati:** U skupini primatelja medijan dobi bio je 60 (55-66) godina, a medijan dobi darivatelja bubrega iznosio je 48 (40-57) godine. Prema Kruskal Wallis testu nije pokazana povezanost ukupnog MM (0-6), HLA-B (0-2), HLA-DR (0-2) te 1 i 2 podudaranosti u A lokusu HLA s vrijednostima kreatinina u nijednoj godini nakon transplantacije, kao ni sa vrijednostima EGFR. Iznimka je 0 podudaranosti u A lokusu HLA koja je povezana sa značajno povišenim vrijednostima kreatinina u svakoj godini.

**Zaključak:** 0 podudaranosti u HLA-A lokusu jedino je bilo povezano s visokim razinama kreatinina u svakoj godini bez utjecaja na vrijednosti EGFR, dok ukupni MM, 1 i 2 podudaranosti u HLA-A, HLA-B i HLA-DR nisu bili značajno povezani s razinama kreatinina i EGFR.

**Ključne riječi:** HLA; HLA podudaranost; transplantacija bubrega

## 8. SUMMARY

### **Impact of donor/recipient HLA matching on outcome of kidney transplantation in Clinical Medical Center Osijek**

**Objectives:** To examine the influence of HLA-A, HLA-B and HLA-DR molecules and overall MM (mismatch) on the outcome of kidney transplantation.

**Study design:** The study is formed as a cross-sectional study.

**Participants and methods:** The study included 81 patients who received a kidney transplant at the Clinical Medical Center Osijek. Data on transplant recipients were obtained from medical records and the hospital information system (BIS), while data on transplant donors and HLA matching were obtained from the Eurotransplant database. Data were statistically processed using MedCalc® Statistical Software (version 20.100) and SPSS (version 23).

**Results:** In the recipient group, the median age was 60 (55-66), and the median age of kidney donors was 48 (40-57). According to the Kruskal Wallis test, no association of total MM (0-6), HLA-B (0-2), HLA-DR (0-2) and 1 and 2 matches in the A locus of HLA was shown with creatinine levels in any year after transplantation, nor with EGFR values. An exception is 0 matches in the A locus of HLA, which is associated with significantly higher creatinine levels in each year.

**Conclusion:** 0 matching in the HLA-A locus was the only one associated with higher creatinine levels in each year without affecting EGFR values, while total MM, 1 and 2 matching in HLA-A, HLA-B and HLA-DR were not significantly associated with levels of creatinine and EGFR.

**Key words:** HLA; HLA mismatch; kidney transplantation

**9. LITERATURA**

1. Garcia GG, Harden P, Chapman J. The global role of kidney transplantation. *Kidney Blood Press Res.* 2012; 35:299–304.
2. Purnell TS, Auguste P, Crews DC, Lamprea-Montealegre J, Olufade T, Greer R, i sur. Comparison of life participation activities among adults treated by hemodialysis, peritoneal dialysis, and kidney transplantation. *Am J Kidney Dis.* 2013;62(5):953-73.
3. Legendre C, Canaud G, Martinez F: Factors influencing long-term outcome after kidney transplantation. *Transpl Int.* 2014; 19-27.
4. Rao PS, Ojo A. The alphabet soup of kidney transplantation: SCD, DCD, ECD. Fundamentals for the practicing nephrologist. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4: 1827.
5. Jones KA, Windham A, Rao A. Pathology of Kidney Transplantation. *Contemporary Kidney Transplantation.* 2018. 76-78.
6. Monteoliva PB, Redondo-Pachon D, Garcia EM, Calabria ER. Kidney transplant outcome of expanded criteria donors after circulatory death. *Nefrologia.* 2022;42(2): 135-144.
7. Merion RM, Ashby VB, Wolfe RA, Distant DA, Hulbert-Shearon TE, Metzger RA, i sur. Deceased-donor characteristics and the survival benefit of kidney transplantation. *JAMA.* 2005;294:2726-33.
8. Roman J, Jalůvka K, Ostruszka P, Jelínek P, Hrubovčák J, Havránek P i sur. Post-kidney transplantation results after circulatory or brain death without pre-mortem heparin administration. *Med Sci Monit.* 2022; 28: e936877.
9. Müller AK, Breuer E, Hübel K, Lehmann K, Cippà P, Schachtner T i sur. Long-term outcomes of transplant kidneys donated after circulatory death. *Nephrol Dial Transplant.* 2022;37: 1181-1187.
10. Trowsdale J. Genomic structure and function in the MHC. *Trends in Genetics.* 1993; 9:117-122.
11. Horton R, Wilming L, Rand V, Lovering RC, Bruford EA, Khodiyar VK. Gene map of the extended human MHC. *Nat Rev Genet.* 2004 Dec;5(12):889-99.
12. Trivedi VB, Dave AP, Patel BC. Human leukocyte antigen and its role in transplantation biology. *Transplant Proc.* 2007;39(3):688-93.



13. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Stanična i molekularna imunologija. 8 izd. Zagreb: Medicinska naklada; 2018.
14. Williams TM. Human leukocyte antigen gene polymorphism and the histocompatibility laboratory. *J Mol Diagn.* 2001;3(3):98-104.
15. Laperrousaz S, Tiercy JM, Villard J, Ferrari-Lacraz S. HLA and non-HLA polymorphisms in renal transplantation. *Swiss Med Wkly.* 2012;142:w13668.
16. Bjorkman PJ, Saper MA, Samraoui B, Bennett WS, Strominger JL, Wiley DC. Structure of the human class I histocompatibility antigen HLA-A2. *Nature.* 1987; 329:506-512.
17. Jones E, Fugger L, Strominger JL, Siebold C. MHC class II proteins and disease: a structural perspective. *Nat Rev Immunol.* 2006;6:271-282.
18. Mosaad YM. Clinical role of human leukocyte antigen in health and disease. *Scand J Immunol.* 2015;82:283-306.
19. Vella JP, Spadafora-Ferreira M, Murphy B, Alexander SI, Harmon W, Carpenter CB i sur. Indirect allorecognition of major histocompatibility complex allopeptides in human renal transplant recipients with chronic graft dysfunction. *Transplantation.* 1997;64:795–800.
20. Sahay M. Immunology in transplantation: Basics for beginners. *Indian J Transplant.* 2018;12:1-6.
21. Katalinić N, Crnić Marčetić T, Balen S. Praćenje protutijela HLA prije transplantacije bubrega Luminex tehnikom. *Medicina fluminensis.* 2020; 56(4):490-497.
22. Žunec R, Grubić G, Balen S. Važnost imunogenetike u transplantaciji organa. *Medix.* 2011; (92/93): 208-213.
23. Zachary AA, Leffell MS. HLA mismatching strategies for solid organ transplantation – a balancing act. *Front. Immunol.* 2016; 7:575
24. Williams RC, Opelz G, Weil EJ, McGarvey CJ, Chakkeri HA. The Risk of Transplant Failure With HLA Mismatch in First Adult Kidney Allografts 2: Living Donors, Summary, Guide. *Transplant Direct.* 2017; 3(5):e152.
25. Eurotransplant. Eurotransplant Registry. Dostupno na adresi: <https://www.eurotransplant.org/cms/index.php?page=home>. Datum pristupa: 18.06.2023.

26. Kaies H, Ali IE, Mohamed M, Briggs D, Krishnan N. Impact of Hla-A, B DR and DQ on renal transplant outcomes in the Tacrolimus/Mmf Era: An Artificial Intelligence Approach, *Nephrol Dial Transplant*. 2022; Volume 37, Issue Supplement, gfac087.052
27. Lynch S, Tinckam K, Kim J. Increasing HLA DR mismatches is associated with inferior kidney allograft outcome in low immune risk living donor kidney transplant recipients. *Am J Transplant*. 2013; 13(suppl 5)
28. Neretljak I, Margeta I, Maksimović B, Jureković Ž, Zibar L, Čingel B i sur. Povezanost ishoda transplantacije bubrega s obilježjima primatelja i darivatelja. *Medicina Fluminensis*. 2020; 56 (4), 537-542
29. Echterdiek F, Latus J, Döhler B, Schwenger V, Süsal C. Impact of HLA compatibility in recipients of kidneys from expanded criteria donors: A Collaborative Transplant Study Report. *Int J Immunogenet*. 2021 Apr;48(2):201-210
30. Foster BJ, Dahhou M, Zhang X, Platt RW, Hanley JA. Relative importance of HLA mismatch and donor age to graft survival in young kidney transplant recipients. *Transplantation*. 2013; 96 (5):469–475

## 10. ŽIVOTOPIS

### OSOBNI PODATCI

Ime i prezime: Roberta Sabljo

Adresa: Vratnička 6B, 31431 Čepin

Datum rođenja: 12. lipnja 1993.

Mjesto rođenja: Osijek, Hrvatska

Mobitel: 095/7250018

E-mail: roberta.sabljo@gmail.com

### OBRAZOVANJE

2000. – 2008. Osnovna škola Vladimir Nazor, Čepin

2008. - 2012. Opća gimnazija u Osijeku

2012. – trenutno Medicinski fakultet Osijek, Integrirani preddiplomski i diplomski studij medicine