

1 Streszczenie

Wstęp

Jednym z największych wyzwań współczesnej transplantologii jest poprawa wczesnych i odległych wyników przeżycia przeszczepianych narządów. Opóźniona czynność przeszczepu (*delayed graft function*, DGF), będąca charakterystyczną dla przeszczepionych nerek manifestacją ostrego uszkodzenia nerki (*acute kidney injury*, AKI), zwiększa ryzyko wystąpienia zarówno ostrego, jak i przewlekłego odrzucania przeszczepionej nerki, a tym samym ma wpływ na przeżycie przeszczepu. Wzrost liczby nerek pobieranych od dawców o rozszerzonych kryteriach (*expanded criteria donor*, ECD) powoduje, że przeszczepiane narządy są bardziej podatne na uszkodzenie niedokrwienno-reperfuzyjne (*ischaemia-reperfusion injury*, IRI), które pozostaje jednym z najważniejszych czynników wpływających na wczesne, jak i odległe przeżycie przeszczepu. Ciężkość IRI koreluje z częstością wystąpienia DGF, ostrym odrzucaniem (AR) oraz z przewlekłym włóknieniem przeszczepu. Ponieważ IRI w transplantologii jest traktowane jako odpowiednik AKI, tym samym biomarkery badane w AKI, takie jak NGAL, IL-18 czy klasteryna, mogą być ekstrapolowane do oceny stopnia uszkodzenia narządu w procesie pobrania i przeszczepienia. Efekty kliniczne przeprowadzenia procedury RIPC u dawców oraz wpływ zjawiska RIPC na stężenia biomarkerów związanych z AKI nie są jeszcze dobrze poznane.

Cel pracy

Głównym celem pracy było potwierdzenie hipotezy badawczej, która zakłada, że tzw. „hartowanie przez niedokrwienie”, czyli procedura RIPC wykonana u dawcy, zmniejsza zakres IRI przeszczepionej nerki, a w efekcie ogranicza ryzyko opóźnienia lub braku funkcji przeszczepu. Celem było również określenie wpływu cech klinicznych charakteryzujących dawcę na stężenia badanych biomarkerów (NGAL, IL-18, klasteryna) oraz na wynik przeszczepienia nerki. Ponadto została określona wartość diagnostyczno-rokownicza biomarkerów związanych z ostrym uszkodzeniem nerek (NGAL, IL-18, klasteryna) dla czynności przeszczepionej nerki

Material i metody:

Do badania włączono 44 zmarłych dawców (20K / 24M; $46,9 \pm 16,3$ lat), od których przeszczepiono łącznie 86 nerek. 17 dawców zostało poddanych procedurze RIPC, pozostałych 27 dawców stanowiło grupę kontrolną. Dokonano charakterystyki dawców i biorców z podziałem na grupę RIPC i grupę kontrolną. Procedura RIPC była wykonywana u dawcy w trakcie pobrania narządów. Materiał do oceny stężeń biomarkerów od wszystkich dawców pobierano bezpośrednio przed rozpoczęciem pobrania, dodatkowo w grupie RIPC po drugim cyklu RIPC oraz u wszystkich biorców w pierwszej dobie po transplantacji (w 6, 12 i 24 godz.). Biomarkery w surowicy krwi i moczu oznaczono za pomocą testów immunoenzymatycznych. Pacjentów poddano 3-letniemu okresowi obserwacji pod kątem oceny punktów końcowych badania: funkcji przeszczepionych nerek, częstości wystąpienia DGF, AR, przeżycia przeszczepu oraz przeżycia biorcy.

Wyniki:

Grupa dawców poddanych procedurze RIPC i grupa kontrolna pod względem danych charakteryzujących dawcę (wiek, płeć ECD, CVA, rodzaj pobrania - wielo- vs mononarządowe, KDRI, stężenie kreatyniny, eGFR) wykazała jedynie istotnie częstsze pobrania wielonarządowe w grupie kontrolnej ($p=0,008$). Biorców nerek również porównano z uwzględnieniem podziału na grupę RIPC i kontrolną. W grupie kontrolnej istotnie częściej wykonywano zabieg transplantacji z redukcją WIT (88,9 vs 53,1%, $p=0,003$), a nerki w grupie RIPC pochodziły istotnie częściej od dawców o rozszerzonych kryteriach (ECD, 59,4% vs 29,6%, $p=0,007$).

Porównanie niekorzystnych punktów końcowych badania wykazało istotnie częstsze występowanie DGF w grupie RIPC (34,4% vs 13,0%, $p=0,020$). Nie stwierdzono różnic między grupą RIPC i kontrolną w stosunku do innych punktów końcowych takich jak: AR, AR+DGF i oraz zgon z czynnym przeszczepem w ciągu 3 lat od transplantacji. Jednakże w grupie kontrolnej wszystkie punkty końcowe badania tj. DGF, AR, DGF+AR występowały u biorców, którzy otrzymali nerki od dawców, u który przyczyną zgonu były CVA.

Przeżycie przeszczepu w grupie RIPC po 1, 2 i 3 latach po transplantacji wynosiło niezmiennie 95%. Przeżycie przeszczepu w grupie kontrolnej po 1, 2 i 3 latach po transplantacji wynosiło odpowiednio 94%, 83%, 79%. Przeżycie przeszczepu nie różniło się istotnie pomiędzy badanymi grupami w żadnym punkcie czasowym (odpowiednio $p=0,716$, $p=0,178$,

p=0,108). Stwierdzono 2 zgony z czynnym przeszczepem w grupie RIPC w ciągu pierwszego roku po transplantacji.

Wpływ podstawowych parametrów dawcy na wyniki przeszczepienia oceniano z podziałem na grupy RIPC i grupę kontrolną. Parametrami predykcyjnymi dla funkcji nerki po przeszczepieniu były dla obu grup: wiek dawcy, wyższe wartości KDRI oraz kwalifikacja dawcy do grupy ECD. Regresja logistyczna wskazała KDRI oraz wykonanie RIPC jako czynniki niezależnie prognozujące wystąpienie DGF.

W pracy ponadto oceniono wartość diagnostyczno-rokowniczą stężeń NGAL, IL-18 oraz klasteryny dla czynności przeszczepionej nerki. Stężenie NGAL w moczu dawcy było predykcyjne dla funkcji przeszczepionej nerki przez cały okres 3-letniej obserwacji. Na zwiększenie stężenia NGAL w moczu dawcy wpływały: wiek dawcy ($r_s=0,38$, $p=0,019$); KDRI ($r=0,44$, $p=0,006$), CVA ($p=0,020$), ECD ($p=0,008$) oraz czynność nerek dawcy ($r_s=-0,51$; $p=0,001$). Ponadto na zwiększenie stężenia IL-18 i klasteryny w moczu dawcy wpływało upośledzenie funkcji filtracyjnej nerek (odpowiednio $r_s=-0,46$, $p=0,003$ i $r_s=-0,53$, $p=0,001$).

Spośród biomarkerów oznaczanych w pierwszej dobie po transplantacji predykcyjne dla wczesnej czynności nerki przeszczepionej były: stężenie NGAL w surowicy krwi i moczu oraz stężenie klasteryny w moczu.

Wnioski:

1. Wiek dawcy, KDRI oraz czynność nerek dawcy wpływają na wynik przeszczepienia definiowany jako wystąpienie opóźnionej czynności przeszczepu.
2. Wykonanie procedury RIPC u dawcy jest związane ze zwiększeniem ryzyka wystąpienia opóźnionej czynności przeszczepionej nerki, ale jednocześnie może wiązać się z lepszym długotrwałym przeżyciem przeszczepu.
3. Cechy charakteryzujące dawcę (wiek, KDRI, CVA jako przyczyna zgonu dawcy, kategoria ECD) wpływają na zwiększenie stężenia NGAL w moczu dawcy. Upośledzenie funkcji filtracyjnej nerek dawcy wpływa na zwiększenie stężenia NGAL, IL-18 i klasteryny w moczu dawcy.
4. Stężenia NGAL, jako biomarkera związanego z ostrym uszkodzeniem nerek, oznaczone w moczu dawców przed pobraniem są predykcyjne zarówno dla wczesnej, jak i późnej czynności nerki przeszczepionej. Stężenia biomarkerów oznaczonych w ciągu pierwszej

do 30 dni po transplatacji (stężenie NGAL w surowicy i moczu, stężenie klasteryny w moczu) są predykcyjne dla wczesnej czynności nerki przeszczepionej.

2 Abstract

Introduction

One of the greatest challenges of contemporary transplantology is to improve the early and late graft survival. Delayed graft function (DGF), which is a characteristic manifestation of acute kidney injury (AKI) of transplanted kidneys, increases the risk of both acute and chronic graft rejection, and thus affects the survival of the transplant. Increase in the number of kidneys retrieved from expanded criteria donors (ECD) make those organs more susceptible to ischaemia-reperfusion injury (IRI), which remains one of the most important factors influencing early and long-term graft survival. The severity of IRI correlates with the frequency of DGF, acute rejection (AR) and chronic graft fibrosis. Because IRI in transplantology is the equivalent of AKI, biomarkers studied in AKI, such as NGAL, IL-18 or clusterin, can be implemented to assess the degree of organ damage in the process of donation and transplantation. The effects of using the RIPC phenomenon in donors to reduce IRI in transplanted kidneys and its influence on AKI biomarkers are not well understood yet.

Objectives

The main aim of the study was to confirm the research hypothesis that the RIPC procedure performed in the donor reduces the IRI range of the transplanted kidney, and thus protects against delayed graft function or primary non function. Additionally, the influence of donor clinical characteristics on the concentrations of the studied biomarkers (NGAL, IL-18, clusterin) and on the kidney transplant outcome was determined. The diagnostic and prognostic value of biomarkers associated with acute kidney injury (NGAL, IL-18, clusterin) for the function of the transplanted kidney were also analyzed.

Materials and Methods

The study included 44 deceased donors (20F / 24M; 46.9 ± 16.3 years) from whom a total of 86 kidneys were transplanted. 17 donors underwent the RIPC procedure, the remaining 27 donors were the control group. The donors and recipients were characterized with division into the RIPC and control groups. The RIPC procedure was performed on the donor during organ donation. Material for the assessment of biomarker concentrations from all donors was collected immediately before organ retrieval, additionally in the RIPC group after the second RIPC cycle and in all recipients on the first day after transplantation (at 6, 12 and 24 hours).

The patients underwent a 3-year observation period to assess the function of transplanted kidneys, the frequency of DGF, AR and recipient as well as graft survival.

Results

The analysis of the characteristics of the donors included in the study such as: age, sex, ECD, CVA, type of donation (multi- vs mono-organ), KDRI, creatinine concentration and eGFR showed only more frequent multiorgan donations in the control group ($p=0.008$). Kidney recipients were also analyzed after division into the RIPC and control groups. In the control group transplantation was significantly more often performed with reduction of WIT (88.9 vs 53.1%, $p=0.003$), and kidneys in the RIPC group were significantly more frequently retrieved from ECD donors (59.4% vs 29.6%, $p=0.007$).

The comparison of the unfavorable endpoints of the study (DGF, AR, DGF+AR, death with active transplant) showed a significantly more frequent occurrence of DGF in the RIPC group (34.4% vs 13.0%, $p=0.020$). There were no differences between the RIPC group and the control group in relation to other endpoints such as: AR, AR+DGF and death with active transplant within 3 years of transplantation. However, in the control group, all study endpoints, i.e. DGF, AR, DGF + AR, occurred in recipients who received kidneys from CVA donors.

Transplant survival in the RIPC group at 1, 2 and 3 years after transplantation was invariably 95%. The transplant survival in the control group after 1, 2 and 3 years after transplantation was 94%, 83% and 79%, respectively. Graft survival did not differ significantly between the control group and the RIPC group at any time point ($p=0.716$, $p=0.178$, $p=0.108$, respectively). There were 2 deaths with functioning transplant in the RIPC group within the first year after transplantation.

The effect of basic donor parameters on transplant results was assessed in RIPC group and control group. The predictive parameters for kidney function after transplantation for both groups were: donor age, higher KDRI values, and donor qualification to the ECD group. Logistic regression indicated KDRI ($p=0.037$, OR 3.5, 95% CI 1.1–11.4) and RIPC ($p=0.037$, OR 3.3, 95% CI 1.1–9.9) as factors independently prognostic of DGF. Moreover, the diagnostic and prognostic values of NGAL, IL-18 and clusterin for the function of the transplanted kidney were assessed. Donor urinary NGAL concentration was predictive of kidney transplant function throughout the 3-year follow-up.

The following characteristics of the donor influenced the increase of NGAL urinary concentration: age ($rs=0.38$, $p=0.019$), KDRI ($rs=0.44$, $p=0.006$), CVA ($p=0.020$), ECD

($p=0.00$) and eGFR ($rs=-0.51$, $p=0.001$). Moreover, an increase in the urinary concentration of IL-18 and clusterin was also influenced by impaired filtration function of the kidneys (IL-18: $rs=-0.46$, $p=0.003$; clusterin: $rs=-0.53$, $p=0.001$).

On the other hand, among the biomarkers determined on the first day after transplantation, the predictors of early function of the transplanted kidney were: serum and urine NGAL concentration and urinary clusterin concentration.

Conclusion

1. Donor age, KDRI and kidney function influence the kidney allograft outcome defined by delayed graft function.
2. Performing the RIPC procedure in a donor is associated with an increased risk of delayed function of the transplanted kidney, but may also be associated with a better long-term survival.
3. Donor characteristics (age, KDRI, CVA as the cause of donor death, ECD category) increase donor urinary NGAL concentration. Deterioration of donor kidney filtration rate increases donor urinary concentration of NGAL, IL-18 and clusterin.
4. Donor urinary NGAL concentration, as a biomarker associated with acute kidney injury, is predictive of both early and late function of the transplanted kidney. Concentrations of biomarkers determined during the first day after transplantation (NGAL concentration in the serum and urine, concentration of clusterin in urine) are predictive of early function of the transplanted kidney.

