

lek. med. Jacek Rubik

TYTUŁ PRACY:

WPLÝW STĘŻENIA TAKROLIMUSU OZNACZANEGO PRZED
KOLEJNĄ DAWKĄ NA ODLEGŁĄ CZYNNOŚĆ PRZESZCZEPU
NERKI U DZIECI MIERZONĄ SZACOWANYM WSKAŹNIKIEM
FILTRACJI KŁĘBUSZKOWEJ (eGFR)

Rozprawa na tytuł doktora nauk medycznych

Promotor: prof. dr hab. n. med. Ryszard Grenda

Klinika Nefrologii, Transplantacji Nerek i Nadciśnienia Tętniczego

Instytut Pomnik – Centrum Zdrowia Dziecka

Warszawa 2021

Dziękuję doktorowi Maciejowi Sobczyńskiemu za opracowanie statystyczne.

Projekt okładki:

Marcin Józwiak

Dream Focus

www.dreamfocus.pl

© Copyright ©by Wydawnictwo Instytut „Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka”, Warszawa 2021.

ISBN: 978-83-960041-3-0

Wydawca: Wydawnictwo Instytut „Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka”

Al. Dzieci Polskich 20, 04-730 Warszawa

<https://nauka.czd.pl/biblioteka-naukowa/wydawnictwo-ipczd/wydawnictwa-wlasne>

SPIS TREŚCI

WSTĘP	14
I. Transplantacja nerki	14
II. Leczenie immunosupresyjne	20
III. Leczenie takrolimusem	23
IV. Monitorowanie leczenia takrolimusem	26
V. Przeszczepianie nerek w Instytucie Pomnik Centrum Zdrowia Dziecka	31
VI. Uzasadnienie hipotezy badawczej	32
CELE PRACY	33
MATERIAŁ I METODY	34
I. Grupa badana	34
II. Kryterium włączenia pacjenta do analizy	34
III. Kryteria wyłączenia z analizy	34
IV. Zakończenie obserwacji	36
V. Zakres zebranych danych	38
VI. Zdefiniowanie zabranych danych	39
VII. Metodyka laboratoryjna	40
VIII. Założenia przyjęte na potrzeby analizy	40
IX. Metody analizy statystycznej	42
X. Tabele źródłowe	44
WYNIKI	57
I. Charakterystyka opisowa biorców	57
II. Charakterystyka opisowa dawców	62
III. Analiza zmian wartości eGFR w czasie po transplantacji nerki	68
IV. Analiza zmian stężenia C_0 TAC we krwi biorców po przeszczepieniu	70
V. Analiza zależności wskaźnika filtracji kłębuszkowej (eGFR) i stężenia takrolimusu C_0	73
VI. Analiza wpływu znanych cech klinicznych na stwierdzoną zależność między TAC C_0 i Δ eGFR	81

VII.	Konsekwencje kliniczne stwierdzonych zależności	85
VIII.	Związek cech klinicznych ze średnią wartością eGFR w pierwszym półroczu po przeszczepieniu	89
IX.	Korelacja pomiędzy stężeniem C_0 TaC, a wartością eGFR ocenioną po upływie co najmniej 1 roku od oznaczenia C_0	93
X.	Podsumowanie wyników	96
DYSKUSJA		97
WNIOSKI		120
PIŚMIENNICTWO		126

WPLYW STĘŻENIA TAKROLIMUSU OZNACZANEGO PRZED KOLEJNĄ DAWKĄ NA ODLEGŁĄ CZYNNOŚĆ PRZESZCZEPU NERKI U DZIECI MIERZONĄ SZACOWANYM WSKAŹNIKIEM FILTRACJI KŁĘBUSZKOWEJ (eGFR)

STRESZCZENIE

W transplantologii narządów unaczynionych podstawowym lekiem stosowanym w podtrzymującej immunosupresji jest inhibitor kalcyneuryny - takrolimus, stosowany zazwyczaj w skojarzeniu z innymi lekami w tzw. terapii trójlekowej. Leczenie takrolimusem prowadzi się w oparciu o monitorowanie jego stężenia we krwi pełnej, oznaczanego przed podaniem kolejnej dawki (C_0), ze względu na stwierdzone korelacje między tym właśnie stężeniem, a wynikami leczenia. Zgodnie z powszechnie akceptowanymi zaleceniami, u stabilnych pacjentów z niskim ryzykiem immunologicznym, w przewlekłym leczeniu akceptuje się stężenia leku bliskie dolnego zakresu przedziału uznanego już wiele lat temu za optymalny tj. 5 - 10 ng/ml. W ostatnich latach rozpoznano nowe zagrożenie, jakim jest skłonność do produkcji swoistych dla niezgodnych antygenów przeszczepu przeciwciał (*Donor Specific Antibodies*; DSA), których obecność jest podłożem rozwoju humoralnego przewlekłego odrzucania i przyspieszonej w czasie utraty przeszczepu. Zjawisko to jest wyrazem nieadekwatnej immunosupresji związanej z brakiem adherencji bądź akceptacją zbyt niskich stężeń leku. Szczególnej uwagi wymaga ten ostatni powód, gdyż dotyczy on również pacjentów przestrzegających zaleceń. Przedmiotem pracy była weryfikacja zakresu terapeutycznego stężenia takrolimusu uznawanego dotąd za optymalny, zwłaszcza w odniesieniu do jego wartości minimalnej.

Celem podstawowym było zbadanie, czy stężenie takrolimusu C_0 ma niezależny od innych czynników wpływ na odległą czynność przeszczepu nerki u dzieci, mierzoną szacowanym wskaźnikiem filtracji kłębuszkowej (eGFR)?

Celami dodatkowymi, było ustalenie:

- czy zawężenie szerokiego zakresu stężeń w okresie dawkowania podtrzymującego (5-10 ng/ml), może zapewnić korzyści w odniesieniu do odległej czynności przeszczepu (mierzonej eGFR)?
- czy można wskazać grupę pacjentów, dla których korzystne byłoby trwałe ograniczenie zakresu stężenia takrolimusu C_0 ?

- czy inne znane cechy kliniczne pacjentów modyfikują wpływ stężenia leku C_0 na czynność przeszczepu nerki (eGFR)?

Material i metody: Grupę badaną (N=94) stanowiły dzieci, którym w czasie od 01.01.2014 do 01.07.2018 roku (data zamknięcia bazy danych) w Instytucie Pomnik – Centrum Zdrowia Dziecka przeszczepiono nerkę i które w ramach immunosupresji podtrzymującej otrzymywały takrolimus. Jedynym kryterium włączenia pacjenta do analizy było przyjmowanie przez niego takrolimusu w ramach immunosupresji podtrzymującej (w dniu wypisu do domu po hospitalizacji związanej z transplantacją nerki).

Kryteriami wyłączenia pacjentów z analizy, były: - wczesne (< 6 miesięcy) zakończenie obserwacji z powodu przekazania pacjenta pod opiekę innego ośrodka; - zastosowanie immunosupresji podtrzymującej bez takrolimusu; - wczesne (w czasie hospitalizacji związanej z transplantacją) odstawienie takrolimusu z powodu powikłań i działań niepożądanych; - przeszczepienie wątroby i nerki; - wczesna (w czasie hospitalizacji związanej z przeszczepieniem) utrata przeszczepu. Parametrem oceny czynności przeszczepu był szacowany wskaźnik filtracji kłębuszkowej (eGFR wg. wzoru Schwartz) wyliczony na podstawie wielokrotnych oznaczeń stężenia kreatyniny. Parametrem oceniającym przebieg monitorowania leczenia takrolimusem były wszystkie oznaczenia stężenia C_0 takrolimusu. Dodatkowo zebrano dane dotyczące wyjściowej charakterystyki biorcy, dawcy, procedury transplantacji, towarzyszącej immunosupresji oraz ważnych zdarzeń klinicznych powodujących zakończenie obserwacji i badano ich wpływ na zależność między eGFR i stężeniem takrolimusu C_0 . Analizę zależności zmian czynności nerki przeszczepionej wyrażonej jako dynamika zmian eGFR [zmienna zależna] w całym okresie obserwacji po transplantacji od stężenia takrolimusu C_0 [zmienna niezależna] przeprowadzono na specjalnie opracowanym i zwalidowanym statystycznie modelu. Badania regresji zostały ograniczone do tych etapów analizy, w których dysponowano pewnymi (co do istnienia) i niezmiennymi w czasie cechami klinicznymi, oceniając ich wpływ na stwierdzoną zależność między wielkością eGFR i stężeniem takrolimusu C_0 .

Wyniki. Wykazano, że dynamika zmian czynności przeszczepu nerki u dzieci mierzonej wskaźnikiem eGFR zależy od jego wyjściowej wartości. U pacjentów z bardzo dobrą czynnością przeszczepu (eGFR >95 ml/min/1,73m²) stwierdzono postępujący spadek wartości eGFR, podczas gdy u pacjentów z gorszą wyjściową czynnością przeszczepu (eGFR < 95 ml/min), czynność nerki w okresie obserwacji nie pogarszała się. Dawkowanie takrolimusu prowadzone w oparciu o monitorowanie stężenia leku przed kolejną dawką

skutecznie zapewniało osiągnięcie i utrzymywanie zalecanych wartości stężenia (w granicach 5-10 ng/ml).

U pacjentów z wyjściową wysoką wartością eGFR (> 95 ml/min/1,73m²) tempo pogarszania czynności przeszczepu (ubytek eGFR) zależało od stężenia C₀ takrolimusu i o ile przekraczało ono 6 ng/ml - szybkość obniżania się eGFR ulegała zahamowaniu. Podwyższenie stężenia leku u tych chorych do 8 ng/ml (wartości pozostającej nadal w zakresie terapeutycznym), powodowało dodatkowy efekt zmniejszenia spadku wartości eGFR w czasie. U pacjentów, u których wyjściowa wartość eGFR nie była aż tak wysoka (GFR < 95 ml/min/1,73m²) stężenie leku nie wpływało na tempo pogarszania się czynności nerki przeszczepionej. Z analizowanych cech klinicznych, statystycznie udowodniony wpływ na zależność między stężeniem leku i wartością eGFR w czasie, miał jedynie zakres doboru HLA, bowiem zahamowanie spadku wielkości eGFR (zależne od stężenia leku > 6 ng/ml), było tym większe, im lepiej dobrana była nerka. Niemniej, wykazano, że efekt niedoboru HLA miał niewielkie znaczenie dla całości tej zależności, za którą w ok. 90% odpowiada stężenie leku.

WNIOSKI

Stężenie C₀ takrolimusu wykazuje niezależny od innych czynników wpływ na odległą czynność przeszczepionej nerki, ocenianą wartością szacowanego wskaźnika filtracji kłębuszkowej (eGFR) u chorych z wysokimi wartościami tego wskaźnika.

Zawężenie zakresu docelowego stężenia C₀ takrolimusu wynoszącego w leczeniu podtrzymującym 5-10 ng/ml, przez podwyższenie jego dolnego progu może zapewnić korzyści w odniesieniu do odległej czynności przeszczepu nerki polegające na zmniejszeniu tempa obniżania się eGFR.

Utrzymanie stężeń C₀ takrolimusu > 6 ng/ml zmniejsza tempo pogarszania się czynności przeszczepu u pacjentów z bardzo dobrą jego wyjściową czynnością (eGFR > 95 ml/min/1,73m²), co oznacza, że unikanie nadmiernej „minimalizacji” leczenia takrolimusem może chronić ich przed postępującym w czasie ubytkiem wartości eGFR.

Wykazano, że zahamowanie spadku wielkości eGFR (zależne od stężenia leku > 6 ng/ml), było tym większe, im lepiej dobrana była nerka. Niemniej, efekt niedoboru HLA miał niewielkie znaczenie dla całości tej zależności, za którą w ok. 90% odpowiada stężenie leku.

THE EFFECT OF PRE-DOSE TACROLIMUS CONCENTRATION ON LONG-TERM KIDNEY ALLOGRAFT FUNCTION IN CHILDREN, EXPRESSED BY THE ESTIMATED GLOMERULAR FILTRATION RATE (eGFR)

SUMMARY

The basic drug used in maintenance immunosuppression in solid organ recipients is a calcineurine inhibitor – tacrolimus (TAC), usually given in combination with other drugs in the so-called three-drug regimen. Treatment with tacrolimus is carried out on the basis of monitoring of its concentration in the whole blood, determined before the sequential dose (C_0 ; trough level), due to the confirmed correlation between this parameter and long-term outcome of treatment. According to common recommendations, in stable patients with low immunological risk, maintaining TAC concentrations close to lower limit of the therapeutic range, accepted for years as optimal (5 -10 ng/ml), is appropriate during chronic treatment. In recent years, a main cause of long term allograft dysfunction has been identified, which is chronic humoral rejection, developing with time and with production of specific antibodies against incompatible transplant antigens (*Donor Specific Antibodies*; DSA). This phenomenon is attributed to inadequate immunosuppression or due to non-compliance, or due to low range of recommended TAC concentration. The second option deserves careful verification, as concerns all patients, including those who follow the therapeutic protocol.

The primary objective was to investigate whether the concentration of tacrolimus C_0 had an independent effect on long term kidney transplant function in children, expressed by estimated glomerular filtration rate (eGFR)?

The additional objectives were:

- to establish whether narrowing wide range of TAC maintenance concentrations (currently 5-10 ng/ml) will provide any benefit for long-term kidney allograft function (measured as eGFR value)?
- to identify patients who will gain the most significant benefit from this narrow limit?
- to identify clinical characteristics of graft recipient, which modify the effect of C_0 on kidney transplant function (eGFR)?

Patients and methods: The study group (N=94) included children who had a kidney transplanted in Children's Memorial Health Institute between 01.01.2014 and 01.07.2018 (database closure date) and who received tacrolimus as a part of maintenance immunosuppression. The only criterion for the patient's inclusion in the analysis was his taking of tacrolimus on the day of discharge home after hospitalization related to kidney transplantation.

The criteria for excluding patients from the analysis were: - early (< 6 months) termination of observation due to the transfer of the patient to the care of another center; - use of maintenance immunosuppression without tacrolimus; - early (during hospitalization related to transplantation) discontinuation of tacrolimus due to complications and side effects; - liver and kidney transplantation - early (during transplant-related hospitalisation) loss of the transplant. The parameter for the evaluation of kidney graft function was estimated glomerular filtration rate (eGFR according to the modified Schwartz formula), calculated on the basis of multiple serum creatinine determinations. TAC trough concentration (C_0) was used for monitoring of exposure to tacrolimus. Data on the baseline characteristics of the recipient, donor, transplantation procedure, associated immunosuppression and important clinical events resulting in termination of observations were collected and their effect on the relationship between eGFR and C_0 concentration were analysed.

An analysis of the relationship between dynamics of eGFR changes [variable dependent], and concentrations of tacrolimus C_0 [independent variable] in post-transplant follow-up was performed using a specially developed and qualified statistical model. Regression analyses were limited to those stages of evaluation, where predefined and unchanged (over time) clinical data were available. Their effect on established relationship between eGFR and C_0 tacrolimus concentrations was then evaluated.

Results: The baseline value of eGFR was shown to be a significant factor for dynamics of changes of kidney function. Patients with very good kidney graft function (eGFR >95 ml/min/1.73m²) had a progressive decrease in eGFR, while patients with inferior baseline transplant function (eGFR < 95 ml/min/1.73m²) had no deterioration of renal function during the follow-up period. The doses of tacrolimus adjusted to C_0 concentration were effective in maintaining the recommended thresholds (within 5-10 ng/ml).

In patients with high baseline eGFR ($> 95 \text{ ml/min/1.73m}^2$), the rate of further deterioration of kidney transplant function (eGFR loss) depended on the C_0 concentration of tacrolimus. Once it exceeded 6 ng/ml, the rate of decrease in eGFR was inhibited. Moreover, an increase in TAC concentration (in the same patients) to 8 ng/ml (a value still within the therapeutic range) resulted in an additional effect of reducing the decrease in eGFR over time. In patients whose baseline eGFR was not that high ($\text{GFR} < 95 \text{ ml/min/1.73m}^2$), the drug concentration did not affect the rate of deterioration of the function of the kidney graft. Out of all clinical characteristics analysed, the statistically proven effect on the relationship between drug concentration and eGFR over time was shown to quality of HLA matching, as the inhibition of the decrease in eGFR (depending on the concentration of $> 6 \text{ ng/ml}$) was the greater, as the better was the kidney matching. However, the meaning of HLA matching has minor effect on the overall association, as this was mainly related (in approx. 90%) to TAC concentration.

Conclusions:

The C_0 concentration of tacrolimus has an independent effect on long-term function of kidney transplant assessed by the estimated glomerular filtration rate (eGFR) in patients with high baseline rate.

Narrowing the target range of tacrolimus C_0 within traditional range of 5-10 ng/ml in maintenance treatment, by increasing its lower threshold may provide benefits for long-term kidney graft function by reducing the rate of further eGFR reduction.

Maintaining C_0 concentrations of tacrolimus $> 6 \text{ ng/ml}$ reduces the rate of deterioration of kidney graft function in patients with very good baseline function ($\text{eGFR} > 95 \text{ ml/min/1.73m}^2$), which means that avoiding excessive "minimization" of tacrolimus treatment may protect them from time-progressive loss of eGFR.

The inhibition of the decrease in eGFR (depending on the concentration of $> 6 \text{ ng/ml}$) was shown to more significant in better matched kidneys, however this correlation was of minor general importance, compared to drug concentration effect.

Słowa kluczowe: transplantacja nerki, dzieci, czynność przeszczepu, takrolimus, stężenie leku

Keywords: kidney transplantation, children, kidney graft function, tacrolimus, drug concentration

WYKAZ SKRÓTÓW

ABCB1 - transporter wiążący ATP typu B1 (ang. *ATP binding cassette B1*)

AMR - odrzucanie zależne od przeciwciał (ang. *antibody mediated rejection*)

AUC - pole pod krzywą stężenia leku (ang. *area under the curve*)

AZA - azatiopryna

C4d - składnik dopełniacza C4d

CaN - kalcyneuryna (ang. *calcineurin*)

CAKUT - wady układu moczowego i budowy nerek (ang. *congenital anomalies of kidney and urinary tract*)

ChPL - Charakterystyka Produktu Leczniczego

CIT - czas zimnego niedokrwienia (ang. *cold ischemia time*)

CMV - wirus cytomegalii

CNI - inhibitor kalcyneuryny (ang. *calcineurin inhibitor*)

Co TAC - stężenie takrolimusu przed kolejną dawką

CS - kortykosteroidy

CsA - cyklosporyna A

CV - współczynnik zmienności (ang. *coefficient of variation*)

CYP3A5 - cytochrom P450 3A4

dd-cfDNA - pozakomórkowe swoiste DNA dawcy (ang. *donor-specific cell-free DNA*)

DGF - opóźnienie czynności przeszczepu (ang. *delayed graft function*)

DNA - kwas dezoksyrybonukleinowy

dnDSA - swoiste przeciwciała przeciw antygenom dawcy powstałe „de-novo”(ang. *de novo donor specific antibodies*)

DO – dializa otrzewnowa

DSA - swoiste przeciwciała przeciw antygenom dawcy (ang. *donor specific antibodies*)

EBM - medycyna oparta na dowodach naukowych (ang. *evidence based medicin*)

eGFR - szacowany wskaźnik filtracji kłębuszkowej (ang. *estimated glomerular filtration rate*)

EVR - everolimus

FKBP12 - białko 12 wiążące FK506 (ang. *FK506-binding protein 12*)

FK506 - kod takrolimusu w czasie prowadzenia badań klinicznych

HD - hemodializy

HLA - ludzkie antygeny leukocytarne (ang. *human leukocyte antigens*)

IPV - zmienność wewnątrzsobnicza (ang. *intra-patient variability*)

KIM -1 - cząsteczka 1 uszkodzenia nerek (ang. *kidney injury molecule-1*)

LCMS/MS - chromatografia cieczowa i spektrometr mas (ang. *liquid chromatography mass spectrometry*)

MEIA - mikrocząsteczkowy test immunoenzymatyczny (ang. *microparticle enzyme immunoassay*)

MFI - średnia intensywność fluorescencji (ang. *mean fluorescence intensity*)

MMF - mykofenolan mofetylu

mTOR - inhibitor mTOR (ang. *mTOR inhibitor*)

NAPRTCS - amerykański rejestr dotyczący przeszczepiania nerek u dzieci (ang. *North American Pediatric Renal Trials and Collaborative Studies*)

NFAT - jądrowy czynnik aktywowanych limfocytów T (ang. *nuclear factor of activated T-cells*)

NGAL-1 - lipokaina 1 związana z żelatynazą neutrofilii (ang. *neutrophil gelatinase-associated lipocalin*)

PRA - panel reaktywnych przeciwciał (ang. *panel reactive antibodies*)

RAPA - rapamycyna

SD - odchylenie standardowe

TAC - takrolimus (ang. *tacrolimus*)

TDM - terapeutyczne monitorowanie leczenia (ang. *therapeutic drug monitoring*)

VEGF - czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego (ang. *vascular endothelial growth factor*)

WSTĘP

Transplantacja nerki

Transplantacja nerki jest rutynową metodą leczenia schyłkowej (piątej) fazy przewlekłej choroby nerek zarówno u dorosłych, jak i dzieci. Jej celem jest zastąpienie przez możliwie długi czas czynności niewydolnych nerek własnych.

Metoda ta, w porównaniu z leczeniem dializami, zapewnia pacjentowi dłuższe przeżycie, lepszą jakość życia i jest tańsza (poza okresem okołoperacyjnym). Szczególne znaczenie ma to w przypadku dzieci, gdyż w większym stopniu niż leczenie dializami umożliwia ich prawidłowy rozwój i wzrastanie. Na przestrzeni lat doszło do istotnej poprawy wyników leczenia transplantacją nerki. Z eksperymentu klinicznego, który rozpoczął się w połowie ubiegłego wieku metoda stała się standardowym leczeniem, dostępnym dziś dla większości pacjentów pediatrycznych na całym świecie. W tym czasie bardzo poprawiły się wyniki. Z ponad 55 do około 13% zmniejszyła się częstość ostrego odrzucania w pierwszym roku po transplantacji i przestało być ono najczęstszą przyczyną utraty przeszczepu. Wydłużył się czas przeżycia przeszczepu. Wg rejestru NAPRTCS w latach 1987-1996, roczne i pięcioletnie przeżycie przeszczepu nerki u dziecka wynosiło odpowiednio 80% i 63%, gdy pochodził on od dawcy zmarłego i około 92 i 82% dla przeszczepu od dawcy żywego. W latach 2007-2017 wskaźnik ten wyniósł już około 96 i 84% w przypadku dawców zmarłych oraz 98 i 86%, gdy przeszczep pochodził od dawcy żywego.[1] Poprawiły się również wskaźniki przeżycia pacjenta, które w latach 1987-1996 wynosiły 96 i 92% odpowiednio po roku i pięciu latach w przypadku nerek od dawców zmarłych oraz 97 i 94% dla nerek od dawców żywych, a w latach 2007-2017 było to około 98% po roku i około 97% po pięciu latach, a różnice dotyczące wpływu pochodzenia narządu na ten parametr wydają się zanikać.[1] Kształt krzywych przeżycia (wg. Kaplana-Meiera) wskazuje na to, że większa poprawa dotyczy wczesnych lat po transplantacji oraz na to, że w ostatnich latach szybkość zmian w kierunku dalszej poprawy rokowania jest wolniejsza.

Mimo prowadzenia intensywnych badań nad dalszą optymalizacją postępowania trudno jest poprawić uzyskane już tak dobre wyniki. Należy jednak podkreślić, że transplantacja nerki nie powoduje trwałego wyleczenia przewlekłej choroby nerek, a część pacjentów umiera z powodu powikłań lub wskutek schorzeń towarzyszących. Ocenia się, że do zgonu dziecka z czynnym przeszczepem dochodzi w 7,6 przypadkach na 1000 pacjento-lat prowadzenia tego leczenia. Dla porównania, wartość ta wynosi 36,1 na 1000 pacjento-lat dla pacjentów

leczonych dializami po utracie przeszczepu.[2] Najczęstszymi przyczynami zgonów są infekcje (27,9%), powikłania chorób towarzyszących, w tym głównie układu sercowo-naczyniowego (14,5%), nowotwory (11,3%) i odległe powikłania związane z uprzednim leczeniem dializami (3%). Wiele z nich wykazuje bezpośredni i pośredni związek z przewlekłym leczeniem immunosupresyjnym. W niemal połowie (48%) przypadków zgonów, biorcy dziecięcy umierają z nadal dobrze funkcjonującym przeszczepem.[1] Ok. 12% przypadków utraty przeszczepu ma związek z przedwczesnym zgonem. Pozostałe, częste przyczyny utraty przeszczepu to przewlekłe humoralne odrzucanie, głównie zależne od przeciwciał (AMR – *antibody mediated rejection*) (21,8%), ostre odrzucanie (15%), zakrzepica naczyń (10,5%) i nawrót choroby podstawowej (9,8%).[1] Duży i trudny do oszacowania odsetek przypadków odrzucania przeszczepu ma związek z nieprzestrzeganiem zaleceń co do przyjmowania leków, zjawiska powszechnego u młodocianych pacjentów (ang. *non-adherence*). Dane procentowe na ten temat są bardzo zróżnicowane, zależnie o liczebności badanej populacji oraz przyjętego kryterium rozpoznania *non-adherence*, ale w niektórych raportach sięgają od 30 do 50%.

Do utraty przeszczepu może dojść nagle, wskutek ostrego odrzucania lub doraźnego powikłania, takiego jak zakrzepica, zakażenia, uraz, bądź wystąpienie choroby nowotworowej. Zwykle proces ten przebiega jednak powoli, ze stopniowym pogarszaniem się czynności przeszczepu, aż do całkowitej utraty jego czynności.[3] Uważa się, że aż w 60% przyczyną późnej utraty przeszczepu jest przewlekłe uszkodzenie przeszczepu nerki przez swoiste przeciwciała anty HLA (DSA – *donor specific antibodies*), pojawiające się *de novo* (dnDSA), lub obecne już przed przeszczepieniem wskutek uczulenia.[4] Szybkość pogarszania się czynności nerki przeszczepionej wyrażona jako spadek wartości szacowanego wskaźnika przesączania kłębuszkowego (ang. *estimated glomerular filtration rate*; eGFR) zależy od wielu czynników. Według najnowszego raportu NAPRTCS istotny wpływ na szybkość spadku wielkości eGFR ma: wyjściowa jego wartość (po 30 dniach od transplantacji), wiek biorcy, płeć biorcy, rasa, pochodzenie narządu (od dawcy żywego lub zmarłego), wystąpienie (lub nie) opóźnienia czynności przeszczepu (ang. *delayed graft function*; DGF), retransplantacja, wybór podstawowego leku immunosupresyjnego (korzystniejszy efekt takrolimusu, w porównaniu z cyklosporyną), wystąpienia (lub nie) wczesnego ostrego odrzucania w czasie 30 dni po przeszczepieniu oraz częstości wizyt kontrolnych.[1] Oczywiście czynniki te u każdego pacjenta mogą nakładać się na siebie, kumulując się, lub odwrotnie - wykazując przeciwstawny wpływ na czynność przeszczepu. Proces obniżania się wartości eGFR przebiega różnie szybko i podobnie jak w przypadku

zaawansowanej przewlekłej choroby nerek, po przekroczeniu pewnego progu (tzw. punktu bez powrotu; ang. *point of no return*) ma charakter samodzielnie postępujący. Średnio wartość eGFR zmniejsza się o ok 1,4 - 1,5 ml/min/1,73m²/rok.[5] Zaobserwowano także, że u części pacjentów w czasie 5 letniej obserwacji dochodzi do zwiększania się (co występuje u ok. 20% pacjentów) lub utrzymywania się (30% pacjentów) eGFR na stałym poziomie, co tłumaczy się m.in. przerostem nerki związanym z hiperfiltracją (analogicznie, jak w przypadku żywego dawcy nerki) i zmniejszaniem z upływem czasu po transplantacji wielkości dawek nefrotoksycznych leków, np. inhibitora kalcyneuryny.[5,6] Zjawiska tego (stabilizacji eGFR) nie obserwowano we wcześniejszych latach, co przemawia za tym, że związane jest ono z uzyskaniem większej kontroli nad procesami immunologicznymi, a to daje szansę ujawniania się przewagi innych procesów.[6] Jeśli pogarszanie czynności nerki przebiega powoli, to jego początek może być trudny do zauważenia. Powszechnie stosowaną metodą monitorowania czynności przeszczepionej nerki jest powtarzane oznaczanie stężenia kreatyniny w surowicy i wyliczanie na tej podstawie wskaźnika eGFR. W przypadku dzieci najczęściej stosuje się do tego zmodyfikowany wzór Schwartza,[7] w przypadku dorosłych korzysta się z kilku, a jednym z częściej stosowanych jest wzór Cockcrofta-Gaulta.[8] Problemem jest mała swoistość wskaźników opartych na oznaczaniu stężenia kreatyniny. Podwyższenie jej stężenia może być związane nie tylko z postępującym procesem toczącym się w przeszczepie, np. ostrym lub przewlekłym odrzucaniem, toksycznością inhibitora kalcyneuryny i innych leków, nawrotem choroby podstawowej, wystąpieniem *de-novo* choroby przeszczepu, zwężeniem tętnicy nerkowej, ale też z odwracalnym procesem pozanerkowym, takim jak odwodnienie, zakażenie lub pogorszenie warunków hemodynamicznych przepływu krwi przez nerkę.[9] Dodatkowo, szacunkowe metody pomiaru filtracji kłębuszkowej wykorzystujące oprócz stężenia w surowicy kreatyniny i cystatyny C także parametry antropometryczne jak masa ciała oraz wzrost i demograficzne, jak wiek, płeć i rasa są mało czułe. Zawyżają lub zaniżają wartości klirensu w stosunku do wymiaru rzeczywistego, najprecyzyjniej zmierzonego metodą referencyjną, czyli klirensem egzogennej inuliny.[10] Dobrze się sprawdzają w monitorowaniu czynności przeszczepu pojedynczego pacjenta, a już nie w porównywaniu jej między pacjentami. Inne metody oceny czynności przeszczepu, jak np. izotopowe pomiary klirensu okazały się bardziej czułe i swoiste, nie znalazły jednak praktycznego zastosowania ze względu na koszty, małą dostępność, stopień skomplikowania i trudność zastosowania w warunkach klinicznych, w tym zwłaszcza ambulatoryjnych.[9,11] Od lat trwają próby zdefiniowania optymalnego biomarkera, który umożliwiłby pogłębioną ocenę stanu przeszczepionego narządu, wczesne wykrycie ewentualnych nieprawidłowości i ustalenie rokowania co do jego dalszej czynności.

Jednym z nich jest obraz patomorfologiczny biopsji nerki, oceniany pólnościowo w skali Banff.[12] W niektórych ośrodkach wykonuje się w tym celu protokolarne biopsje nerki.[13] Argumentem za ich wykonywaniem było m.in. wykazanie na podstawie wyniku 833 biopsji wykonanych w 26 tygodniu po przeszczepieniu, że obecność subklinicznych, nieswoistych zmian zapalnych (choć nie spełniających kryteriów Banff[12] rozpoznania odrzucania) może korelować z gorszą czynnością przeszczepu po 1 i 2 latach,[14] a włóknienie, zapalenie i glomerulopatia potwierdzone w biopsji wykonanej po 1 roku po transplantacji pozwala przewidzieć pogorszenie czynności przeszczepu i jego utratę, niezależnie od czynności nerki w chwili biopsji.[15] Już w 1990 roku wykazano, że kliniczna manifestacja ostrego odrzucania może być słabo wyrażona wzrostem stężenia kreatyniny u małego dziecka po przeszczepieniu „dużej” nerki pobranej od dorosłego i w razie podejrzenia odrzucania nie należy odraczać wykonania biopsji, ale w tym czasie nie stosowano jeszcze takrolimusu, a częstość odrzucania była istotnie wyższa.[16] O tym, że podejmowanie decyzji terapeutycznych w oparciu o wyniki biopsji może korzystnie wpływać na odległą czynność przeszczepu przemawiała retrospektywna obserwacja pacjentów pediatrycznych w badaniu, w którym porównano grupę, gdzie na wykonanych 57 biopsji w 42% stwierdzono zmiany patologiczne będące powodem zmiany leczenia z grupą, w której biopsji nie wykonywano (n=51). Zmiana leczenia polegała na zwiększeniu dawki takrolimusu w razie stwierdzenia zmian typu „borderline” (11%), podaniu wysokich („pulsowych”) dawek metyloprednizolonu w razie stwierdzenia odrzucania (15%) i zmniejszeniu dawki takrolimusu w razie stwierdzenia toksyczności (8%), lub nefropatii *Polyoma* BK (BKVN; 1 przypadek). Różnica eGFR po 3,5 roku od transplantacji była istotna statystycznie na korzyść grupy, w której leczenie zmieniano w oparciu o wynik protokolarnej biopsji ($57 \text{ ml/min/1,73m}^2 \pm 17$ vs. $46 \text{ ml/min/1,73m}^2 \pm 20$).[17] Przeciwno rutynowemu wykonywaniu powtarzanych biopsji protokolarnych, oprócz stresu dla dziecka i konieczności stosowania znieczulenia ogólnego (w części przypadków) przemawia fakt, iż w większości przypadków wynik późno wykonanej biopsji (to jest po 2 latach po transplantacji) nie wpływał w ogóle na zmianę postępowania, a efekty leczenia kortykosteroidami tzw. zmian granicznych we wcześniej wykonanej biopsji są niejednoznaczne.[18] Protokolarną biopsję przeszczepu nerki wykonuje się tylko w 17% ośrodków prowadzących pacjentów dorosłych. Globalny odsetek ośrodków pediatrycznych wykonujących tę procedurę jest nieustalony, a odpowiednie publikacje są nieliczne. W jednym z badań patologiczny obraz nerki stwierdzono w przypadku 51% spośród wszystkich 82 biopsji wykonanych po 3, 6 i 12 miesiącach od transplantacji, ale tylko w 11% przypadkach zdecydowano się na tej podstawie na interwencję terapeutyczną. Największy problem stanowiła zdaniem autorów obiektywność różnicowania (przy braku

objawów klinicznych odrzucania) zmian o domniemanym podłożu immunologicznym ze zmianami zapalnymi występującymi u dzieci z dysfunkcją dolnych dróg moczowych, powtarzanym cewnikowaniem pęcherza.[19] Problemem jest też tzw. „efekt próbki” związany z nierównomiernym rozmieszczeniem zmian patologicznych w miększu przeszczepu, o czym świadczą istotne różnice w ocenie dwóch biopciatów pobranych od jednego pacjenta. W 50% spośród 71 podwójnych biopsji nasilenie zmian oceniane przez tego samego doświadczonego patologa różniło się o więcej niż jeden stopień w skali Banff.[13] Również wyniki opublikowanej ostatnio pracy dotyczącej 86 biopsji protokolarnych potwierdziły, że patologiczne zmiany stwierdzane w biopsji, o ile nie towarzyszy im pogorszenie czynności przeszczepu (kryterium: obniżenie eGFR o $> 20\%$ od wartości wyjściowej, stwierdzone w chwili biopsji) nie wykazały związku z pogorszeniem czynności przeszczepu po 6 miesiącach.[20] Nie udało się również zwiększyć „czułości” wykrywania wczesnych etapów uszkodzenia nerki przeszczepionej u dzieci dodając do klasycznego badania histopatologicznego dodatkowe badania biomarkerów, takich jak P-seletyna, ligant glikoproteiny-1, wimentyna, α -aktyna mięśni gładkich, czy też kolagen IV. Najważniejszym predyktorem obniżania się eGFR było nasilenie zmian IF/TA wg. klasyfikacji Banff.[21]

W większości pediatrycznych ośrodków transplantacyjnych biopsje nerki przeszczepionej wykonuje się ze wskazań klinicznych, to jest w celu wykluczenia odrzucania, nefrotoksyczności, glomerulopatii lub zapalenia śródmięszkowego w przebiegu zakażenia BKV. Najczęstszym wskazaniem jest istotne pogorszenie czynności przeszczepu (czego kryterium jest obniżenie eGFR o $> 20\%$ od wartości wyjściowej, uznanej za właściwą w konkretnym przypadku) i/lub pojawienie się *de-novo* lub narastanie miana (reprezentowanego przez wartości MFI; *mean fluorescence intensity*) przeciwciał DSA obecnych przed transplantacją. Argumentem za wyborem takiego postępowania jest stwierdzenie w dużym, randomizowanym badaniu, że u pacjentów leczonych trójlekową immunosupresją (takrolimus, mykofenolan mofetylu i steroidy) prawdopodobieństwo stwierdzenia w kolejnych 4 biopsjach subklinicznego odrzucania jest niskie (4,6%), a jego leczenie nie powoduje żadnych korzyści w zakresie utrzymania czynności nerki mierzonej eGFR.[22] Powtarzane oznaczanie obecności DSA, w tym szczególnie metodami o dużej czułości (Luminex L-SAB) wydaje się być obecnie najważniejszym parametrem oceny ryzyka wystąpienia AMR, pogorszenia czynności przeszczepu i jego utraty. Okazało się, że obecność i narastanie miana (wyrażonego MFI) przeciwciał DSA zwiększa ryzyko utraty przeszczepu, nawet gdy w chwili ich oznaczenia czynność przeszczepu mierzona eGFR jest stabilna, a w wykonanej biopsji nie ma cech uznawanych dawniej za typowe dla AMR, tzn.

brak jest obecności składowej C4d układu dopełniacza w kapilarach okołocewkowych.[4] Jeśli za kryterium rozpoznania AMR przyjąć zmiany zapalne kapilar kłębuszka i obecność DSA, nawet bez stwierdzenia obecności C4d (co dopuszcza zaktualizowana skala Banff[12]), to 63% przypadków utraty przeszczepu po wykonanej biopsji przypisać można odrzucaniu zależnemu od przeciwciał.[23] Pojawienie się dnDSA zwiększa prawdopodobieństwo, że w biopsji wykonanej ze wskazań klinicznych stwierdzone zostaną zmiany typowe dla AMR i z czasem dojdzie do pogorszenia czynności przeszczepu.[24] U około 49% pacjentów z prawidłowym obrazem protokolarnej biopsji wykonywanej w 3 miesiącu po transplantacji i obecnością DSA w kolejnych biopsjach ujawniły się zmiany zapalne w kapilarach, którym nie towarzyszyło pogorszenie czynności nerki i białkomocz.[25] Z innych obserwacji wynika jednak, że sama obecność DSA, przy braku cech odrzucania i zmian zapalnych w kapilarach kłębuszków nie zwiększa ryzyka niewydolności i utraty przeszczepu.[26] Obecność DSA w chwili wykonania biopsji w materiale 1102 biopsji ze wskazań klinicznych wiązała się z wystąpieniem odrzucania w przyszłości, ale już nie ryzykiem utraty przeszczepu.[27] Wydaje się też, że istotne znaczenie ma nie sama obecność DSA, ale ich inwazyjność, wyrażona jako zdolność wiązania dopełniacza (C1q) i klasa, do której należą (IgG3, IgG4). Dopiero dokładna analiza DSA umożliwi stratyfikację ryzyka odrzucania i utraty przeszczepu. Wymaga to wykonania dodatkowych badań, w wielu ośrodkach niedostępnych.[28] Różnice w metodyce oznaczania DSA mogą być powodem niejednoznacznych obserwacji, w tym wykazania braku wpływu obecności przeciwciał na odległe rokowanie przeszczepu nerki u dzieci.[29] Wspomniane wyniki stawiają pod znakiem zapytania zasadność zmiany leczenia u pacjentów tylko na podstawie pojawienia się przeciwciał DSA, jak też wykonywania protokolarnej biopsji u pacjentów bez wskazań klinicznych. Z tego powodu, jak też braku dostępności nowoczesnych metod, w wielu ośrodkach decyzje kliniczne w większości przypadków podejmowane są na podstawie obserwacji eGFR.

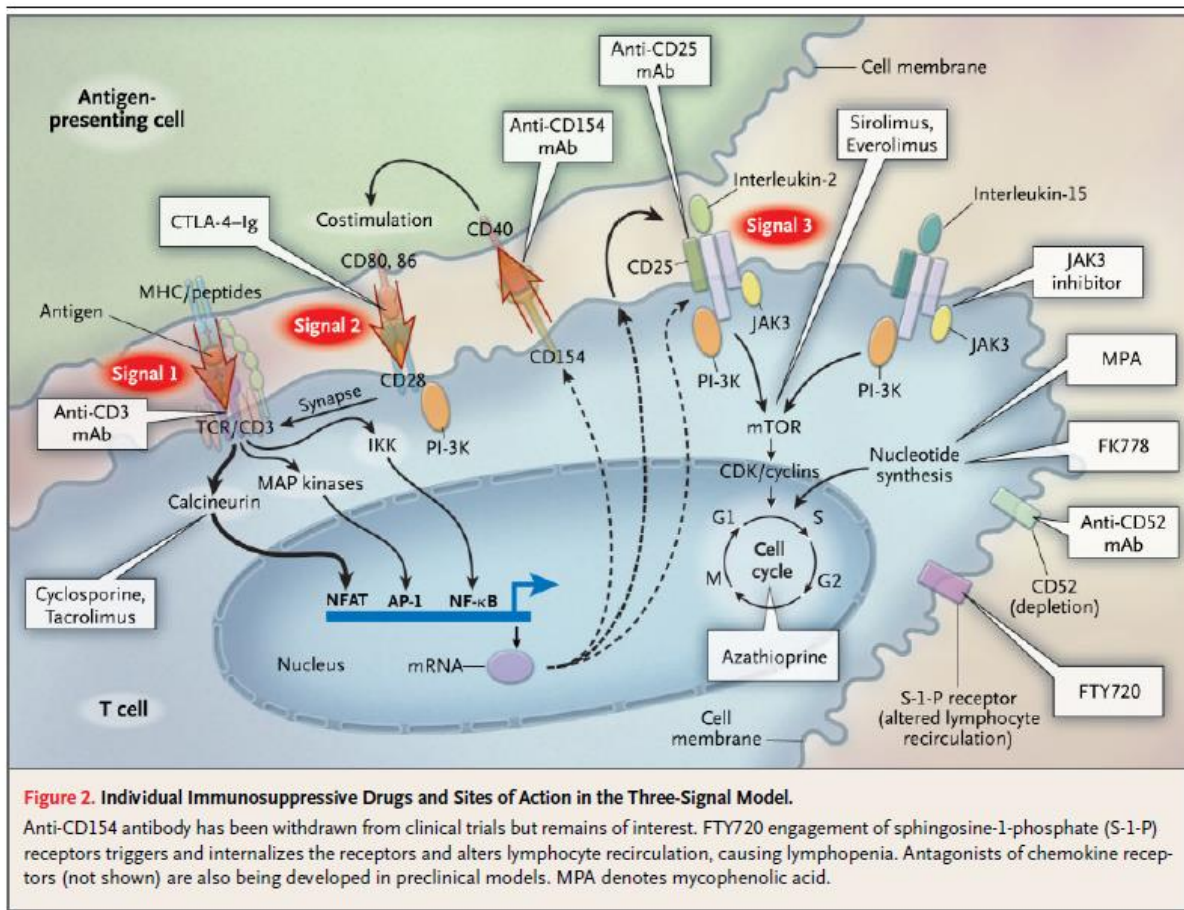
Od lat pojawiają się próby oceny zastosowania w klinice nieinwazyjnych markerów uszkodzenia przeszczepu oznaczanych we krwi lub moczu: białek, enzymów, cząstek i cytokin, takich jak KIM-1 (*kidney injury molecule*), NGAL (*neutrophil gelatinase associated lipocalin*), VEGF (*vascular endothelial growth factor*), IL-18.[30,31] Ocenia się korelacje między stwierdzeniem ich obecności i możliwymi do uchwycenia zmianami ilościowymi, a ryzykiem wystąpienia odrzucania, nefrotoksyczności, pogorszenia czynności przeszczepu i jego utraty. Żaden z tych markerów nie jest wykorzystywany w praktyce klinicznej. Najbardziej wiarygodną metodą oceny procesów toczących się w przeszczepionej

nerce pozostaje biopsja. Dlatego, decyzje co do wykonywania dodatkowych kosztownych i inwazyjnych badań diagnostycznych zależą z reguły od zmian prostego parametru, jakim jest zmiana wartości eGFR. Utrzymywanie się stabilnych wartości tego parametru przemawia za tym, że procesy toczące się w przeszczepionej nerce są pod kontrolą, co poprawia rokowanie co do zachowania jego czynności. Jest to też przesłanka do tego, by nie mając dostępu do nowoczesnych technik i znając ich ograniczenia nie zmieniać pochopnie dotychczasowego leczenia, skoro zapewnia ono prawidłową czynność przeszczepu.

Leczenie immunosupresyjne

Wspomniana wyżej poprawa wyników leczenia przeszczepieniem nerki związana jest przede wszystkim z opracowaniem i zastosowaniem w klinice nowoczesnych leków immunosupresyjnych oraz poznaniem humoralnych mechanizmów procesu odrzucania przeszczepu. Procesy immunologiczne odpowiedzialne za procesy uszkodzenia tkanek przeszczepu są złożone i przebiegają wieloetapowo. Nie jest możliwe zablokowanie wszystkich odpowiednich szlaków i komórek jednym lekiem o wielopunktowym punkcie uchwytu (monoterapią).

Z tego powodu pacjent po transplantacji nerki otrzymuje jednocześnie kilka leków immunosupresyjnych, mających różne, uzupełniające się działania (Rycina 1).[32] Skojarzone podawanie leków mających różne punkty uchwytu zwiększa ich skuteczność i umożliwia stosowanie mniejszych dawek poszczególnych leków, zmniejszając tym samym narażenie pacjenta na działania niepożądane każdego z nich z osobna. Ze względu na brak dostatecznej skuteczności bądź nieakceptowalne działania niepożądane i powikłania, z licznych leków ocenianych w 2 i 3 fazie badań klinicznych rutynowe zastosowanie znalazło tylko kilka. Ze względu na mechanizm działania i budowę, leki dostępne do leczenia dzieci po transplantacji nerki można zaliczyć do następujących grup: kortykosteroidy - CS, inhibitory kalcyneuryny - CNI (cyklosporyna A - CsA i takrolimus - TAC), leki antyproliferacyjne (azatiopryna - AZA, mykofenolan mofetylu – MMF), inhibitory mTOR (sirolimus -SIR i everolimus -EVR) oraz leki biologiczne (immunoglobuliny poliwalentne, przeciwciała poliklonalne i monoklonalne). Miejsce ich działania na różnych etapach reakcji immunologicznej pokazano na Rycinie 1.[32]

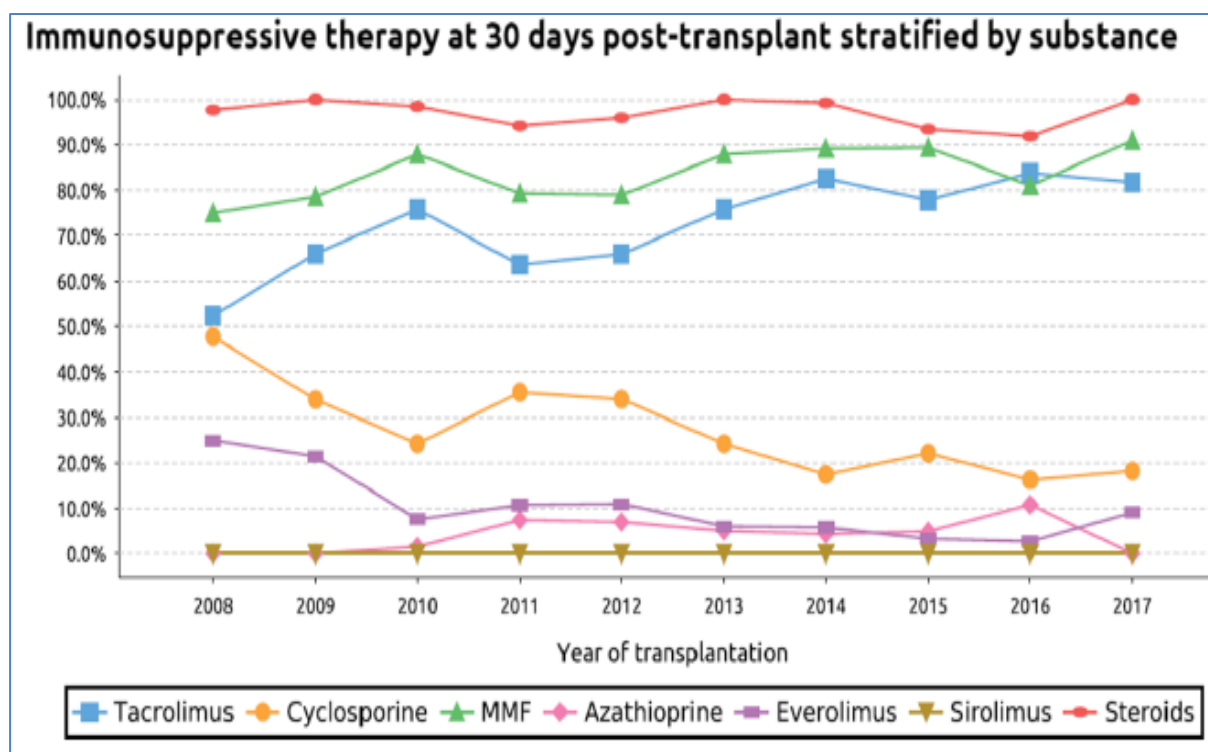


Rycina 1. Schematyczne przedstawienie “punktu uchwytu” różnych leków immunosupresyjnych. (Halloran PF. Immunosuppressive drugs for kidney transplantation. *N Engl J Med.* 2004;351(26):2715-2729)

Pierwszym lekiem podawanym w monoterapii po transplantacji nerki była azatiopryna, lek antyproliferacyjny. Dołączenie do niej steroidów, a następnie inhibitora kalcyneuryny - cyklosporyny A w wyraźny sposób poprawiło wyniki, zmniejszając przede wszystkim częstość odrzucania i wydłużając przeżycie przeszczepu. Jeszcze większe znaczenie dla zmniejszenia częstości odrzucania, ale i poprawy odległej czynności przeszczepu, bez istotnego wpływu na bezpieczeństwo pacjenta miało wprowadzenie kolejnego inhibitora kalcyneuryny - takrolimusu, co w populacji pediatrycznej znalazło potwierdzenie w wynikach randomizowanego badania porównującego schemat CS + TAC + AZA ze schematem CS + CsA + AZA.[33] Utrzymywanie się w czasie korzyści ze stosowania takrolimusu uzyskanych w tym badaniu potwierdzono w dłuższej obserwacji.[34] Przewagę takrolimusu nad cyklosporyną w skojarzeniu z kortykosteroidami i MMF potwierdzono także analizując dane rejestrowe.[35] Duża metaanaliza 123 badań klinicznych obejmująca w sumie 4102 pacjentów pozwoliła oszacować, że leczenie 100 pacjentów takrolimusem (zamiast

cyklosporyną) pozwala uniknąć w pierwszym roku 12 przypadków odrzucania i 2 przypadków utraty przeszczepu, ale za to naraża 5 pacjentów na wystąpienie cukrzycy potransplantacyjnej.[36] Kolejnym ważnym krokiem było wprowadzenie do kliniki nowego leku antyproliferacyjnego – mykofenolanu mofetylu, który wykazując większą skuteczność i porównywalne bezpieczeństwo, z czasem „wyparł” azatioprynę z trójlekowego schematu immunosupresji i obecnie przyjmuje go ponad 80% dzieci po transplantacji nerki. Przewagę MMF nad AZA potwierdzono w dużej metaanalizie badań porównujących te leki, z uwzględnieniem takich dodatkowych czynników jak towarzysząca immunosupresja i rok transplantacji.[37] Zastosowanie w indukcji immunosupresji monoklonalnych blokujących przeciwciał skierowanych przeciw receptorowi dla interleukiny 2 umożliwiło bezpieczne zmniejszenie dawek takrolimusu w skojarzeniu z MMF. W badaniu SYMPHONY, porównującym w warunkach randomizacji cztery schematy immunosupresji u chorych dorosłych wykazano istotnie mniejszą częstość odrzucania, dłuższe przeżycie i lepszą czynność przeszczepu u pacjentów otrzymujących MMF i niską dawkę takrolimusu, w porównaniu z pacjentami otrzymującymi MMF i cyklosporynę A oraz MMF i rapamycynę.[38] Dzięki korzyściom uzyskanym z zastosowania takrolimusu w skojarzeniu z MMF i indukcji bazyliksymabem (schemat TWIST) możliwe stało się ograniczenie do minimum stosowania steroidów u tych dzieci po transplantacji nerki, u których spodziewać się można istotnych powikłań takiego leczenia. Wykazano, że przy porównywalnym bezpieczeństwie mierzonym częstością odrzucania przeszczepu, przeżyciem przeszczepów oraz czynnością przeszczepu uzyskano minimalizację niepożądanych działań kortykosteroidów w odniesieniu do upośledzenia wzrastania (w tym głównie u dzieci w wieku przedpokwitaniowym) i częstości występowania zaburzeń lipidowych, hiperglikemii i nadciśnienia tętniczego (bez względu na wiek).[39] Wyniki wspomnianych badań i wieloletnich obserwacji klinicznych, porównujących skuteczność i bezpieczeństwo leków w różnych skojarzeniach umożliwiły opracowanie schematu uznanego za optymalny u dziecka po transplantacji nerki. Polega on na podawaniu steroidów (ewentualnie ograniczonego w czasie), takrolimusu i mykofenolanu mofetylu. Znajduje to potwierdzenie w danych z rejestru CERTAIN, z których wynika, że ponad 80% pacjentów pediatrycznych w Europie, w ramach podtrzymującej immunosupresji, w 30 dniu po transplantacji przyjmuje steroidy, takrolimus i mykofenolan mofetylu (Rycina 2), o ile nie ma przeciwwskazań do stosowania któregoś z tych leków i we wczesnym okresie po przeszczepieniu nie pojawiły się działania niepożądane powodujące jego odstawienie.[40] Również obszerna analiza dostępnych danych z NHS UK Renal Registry oraz piśmiennictwa, uwzględniająca nie tylko

skuteczność i bezpieczeństwo, ale też koszty leczenia potwierdza, że podawanie MMF i TAC uznać można za standard immunosupresji podtrzymującej u dzieci po transplantacji nerki.[41]

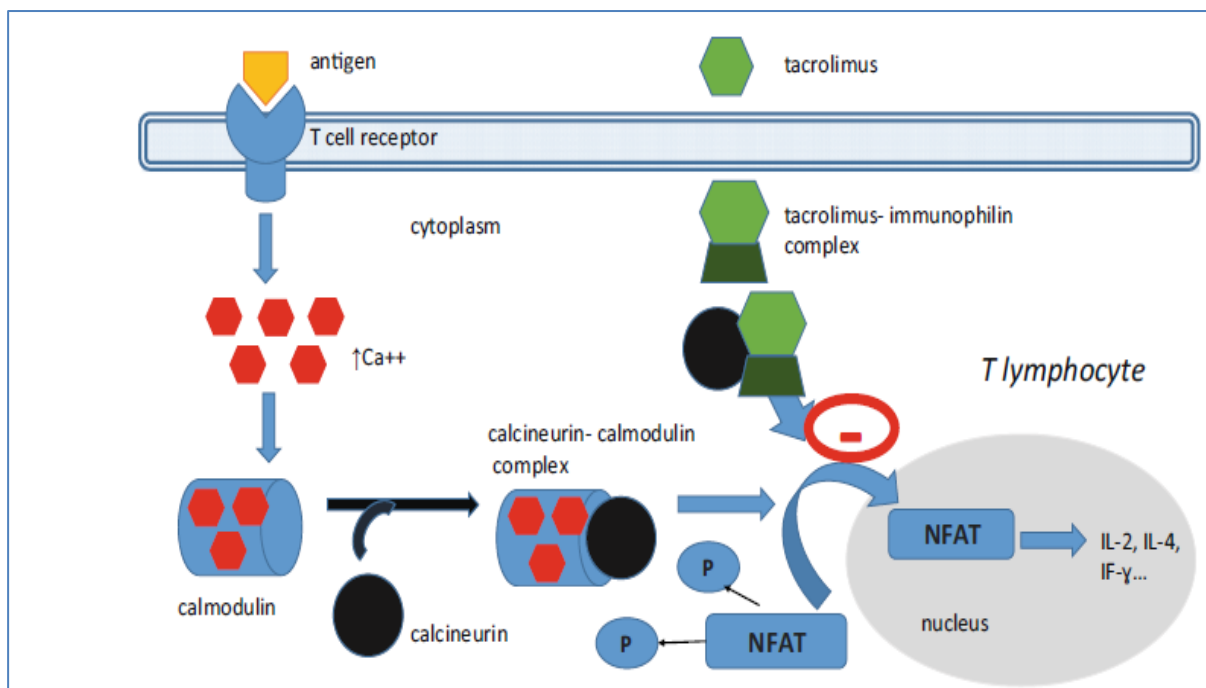


Rycina 2. Udział poszczególnych leków immunosupresyjnych w schematach immunosupresji podtrzymującej u dzieci po transplantacji nerki. (Pape L. *State-of-the-art immunosuppression protocols for pediatric renal transplant recipients. Pediatr Nephrol.* 2019;34(2):187-194).

Leczenie takrolimusem

Za podstawowy składnik standardowego schematu uważa się takrolimus, określany nawet jako „filar” immunosupresji (ang. *cornerstone of immunosuppressive therapy*) i to właśnie jemu przypisuje się największą rolę w poprawie wyników leczenia transplantacją nerki. Takrolimus jest makrolidem wyizolowanym z grzyba *Streptomyces tsukubaensis* i ze względu na mechanizm działania należy do grupy inhibitorów kalcyneuryny. Na poziomie molekularnym mechanizm działania takrolimusu polega na wiązaniu się z białkiem cytozolu (FKBP12). Kompleks FKBP12-takrolimus swoiście i kompetycyjnie wiąże się z kalcyneuryną i ją hamuje, co prowadzi do zależnego od wapnia zahamowania dróg przesyłania sygnału dla komórek T, zapobiegając w ten sposób transkrypcji i aktywacji genów limfokin. W szczególności takrolimus hamuje tworzenie się cytotoksycznych limfocytów, które są głównie odpowiedzialne za odrzucanie przeszczepu. Takrolimus hamuje też aktywację limfocytów T i proliferację limfocytów B zależną od limfocytów

T pomocniczych, a także tworzenie się limfokin (takich jak interleukiny-2, -3 oraz γ -interferon) oraz ekspresję receptora interleukiny-2 (Rycina 3).[42,43,44]



Rycina 3. Schemat wewnątrzkomórkowego działania takrolimusu. (Prytuła A, van Gelder T. Clinical aspects of tacrolimus use in paediatric renal transplant recipients. *Pediatr Nephrol.* 2019;34(1):31-43).

Lek oryginalny Prograf, dostępny jest w postaci kapsułek o natychmiastowym uwalnianiu i roztworu do wlewów dożylnych (choć w tej formie u dzieci po transplantacji nerki praktycznie nie jest stosowany). Dostępnych jest także kilka leków odtwórczych, których zgodnie z zaleceniami towarzystw naukowych należy unikać u dzieci w związku z brakiem badań dotyczących tej grupy wiekowej. Opracowano też oryginalną postać w kapsułkach o powolnym uwalnianiu – Advagraf, umożliwiającą przyjmowanie leku raz na dobę. Lek ten ma porównywalną skuteczność i profil działań niepożądanych,[45] a podobna ekspozycja mierzona polem pod krzywą stężenia leku i stężeniem C_0 umożliwia stosowanie równoważnej dawki dobowej i podobne zasady monitorowania leczenia.[46]

Takrolimus jest metabolizowany w wątrobie głównie z udziałem cytochromu P450-3A4. Jest również znacząco metabolizowany w ścianie jelita. Zidentyfikowano kilka metabolitów, z których tylko jeden wykazywał w warunkach *in vitro* działanie immunosupresyjne podobne do działania takrolimusu. Pozostałe metabolity wykazują słabe działanie immunosupresyjne bądź nie wykazują takiego działania. W krążeniu ogólnym tylko jeden z nieczynnych metabolitów występuje w niewielkim stężeniu. Tak więc metabolity nie wpływają na farmakologiczne działanie takrolimusu.[42,43] Lek w dużym stopniu wiąże się

z erytrocytami, aktywność wykazuje frakcja leku znajdująca się w osoczu i nie związana z białkami. Takrolimus charakteryzuje się bardzo dużą wewnątrz i międzypersonalną zmiennością farmakokinetyki w zakresie wchłaniania, metabolizmu i eliminacji, co oznacza, że ekspozycja na lek może się bardzo różnić między pacjentami i u tego samego pacjenta niezależnie od zastosowanej dawki. Ma to ogromne znaczenie, gdyż już na wstępnych etapach badań wykazano, że immunosupresyjne działanie leku zależy w większym stopniu od uzyskanego stężenia leku, niż jego dawki. Podobnie wiele działań toksycznych np. nefrotoksyczność i neurotoksyczność wiąże się z przekroczeniem stężeń uważanych za bezpieczne. Wymaga to więc stałego terapeutycznego monitorowania dawkowania (TDM – *therapeutic drug monitoring*) czyli takiego dobierania dawki, by uzyskać określone, stabilne stężenie, niezależnie od tego, co jest przyczyną jego zmienności. Zmienność międzypersonalna w największym stopniu zależy od wieku pacjenta (związanej z nim „dojrzałości” enzymatycznej wątroby[47]) i uwarunkowanej genetycznie aktywności enzymów metabolizujących lek (CYP3A5) jak i transporterów leku (ABCB1). Pacjenci wykazujący ekspresję CYP3A5 wymagają ~ 40–50% większych dawek, szybciej metabolizując lek. Znajac genotyp pacjenta można przewidzieć jego zapotrzebowanie na takrolimus i wyjściowo zastosować większą dawkę, co teoretycznie zapobiec może niedodawkowaniu leku we wczesnym okresie po transplantacji. Metoda ta nie znalazła jak dotąd powszechnego zastosowania w warunkach klinicznych, tym bardziej że w dwóch randomizowanych badaniach z grupą kontrolną korzystających z genotypowania CYP3A5 przy ustalaniu wstępnej dawki nie wykazano ani zmniejszenia częstości odrzucania, ani toksyczności leku, w porównaniu do klasycznego dobierania dawki metodą miareczkowania, zaczynając od uniwersalnej dawki wstępnej.[48] Również duża zmienność wewnątrzpersonalna, czyli zmiana stężenia leku u danego pacjenta bez zmiany dawki leku, utrudnia leczenie takrolimusem. Wpływ na nią ma bardzo wiele czynników, z których część można eliminować w praktyce klinicznej, np. niekontrolowana zamiana leku oryginalnego na odtwórczy, zamiany leków odtwórczych (raz jeden „generyk”, raz drugi) i wpływ tłustych posiłków na wchłanianie leku. Pozostałe pozostają poza kontrolą, nakładają się na siebie i zwykle trudno jest je precyzyjnie ustalić. Za najważniejsze czynniki wpływające na zmienność wewnątrzpersonalną stężeń takrolimusu, czyli zmianę stężenie bez zmiany dawki u tego samego pacjenta uznaje się zmianę dobowego rytmu ekspozycji na lek, biegunkę (zwłaszcza rotawirusową), cholestazę, zmianę stężenia białek surowicy, niedokrwistość, interakcje lekowe (głównie z antybiotykami makrolidowymi, lekami przeciw grzybiczymi i przeciwdrgawkowymi, ale też dużymi dawkami steroidów stosowanymi w ramach immunosupresji), przyjęcie obfitego posiłku, szczególnie tłustego i przede wszystkim nie przestrzeganie zaleceń co do zasad przyjmowania

leku.[44,49] To ostatnie zjawisko, czyli brak adherencji (ang. *non-adherence*) jest zjawiskiem powszechnym i trudnym do rozpoznania i opanowania u młodocianych pacjentów. Jego częstość szacuje się nawet na 50%, w zależności od zastosowanej metody oceny. Z nim właśnie wiąże się zwiększenie częstości odrzucania i utraty z tego powodu przeszczepu w nastoletnich pacjentów. Z danych aktualnego rejestru NAPRTCS wynika, że brak adherencji jest przyczyną około 4,3% strat przeszczepu nerki u dzieci.[1] Czynnikiem ryzyka braku adherencji w grupie pacjentów z odnotowanym przynajmniej jednym poważnym błędem w przyjmowaniu leku okazały się być: płeć męska, starszy wiek (> 12-14 lat), dodatni status CMV dawcy, nawrót choroby podstawowej, mieszkanie w mieście, bliskość ośrodka transplantacyjnego oraz problemy finansowe i socjalne.[50] Brak adherencji zwiększał ryzyko hospitalizacji (1,6-krotnie) i ryzyko utraty przeszczepu (1,8-krotnie). Wykazano, że duża zmienność stężeń jest wskaźnikiem złego rokowania co do odległego przeżycia przeszczepu, a wskaźnik zmienności wewnątrzsobniczej IPV > 30% zwiększał ryzyko utraty przeszczepu w 4-6 roku o 32%, a IPV > 45% o 60%. Szacuje się, że około 20% nieoczekiwanych zmian stężenia leku bez zmiany zalecanej dawki wynika z nieprzestrzegania zaleceń.[51] Wpływ na zmienność stężenia leku u danego pacjenta ma też częsta i nieuzasadniona klinicznie modyfikacja wielkości dawki w odpowiedzi na niewielkie i możliwe do wytłumaczenia jego zmiany. Zjawisko to ma związek z nadmiernym „temperamentem decyzyjnym” lekarza prowadzącego, który chce szybko uzyskać docelowe stężenie, zapominając o farmakokinetyce leku i jego długim okresie półtrwania. Potwierdza to obserwacja z jednego z ośrodków, w którym wdrożenie uniwersalnych zasad zmiany dawek w odpowiedzi na zmianę stężenia w postaci dostępnego on-line kalkulatora zmiany dawki (uwzględniającego wiele parametrów, jak prawdopodobieństwo popełnienia błędu przez pacjenta, wyniki 4 wcześniejszych oznaczeń, opóźnienie godziny pobrania krwi) zwiększyło odsetek stężeń takrolimusu mieszczących się w założonym przedziale z ok 70 do 88% i ograniczyło zakres zmienności z 1-22 ng/ml do 3-15 ng/ml.[52] Istotne znaczenie w praktyce klinicznej ma więc możliwe częste monitorowanie stężenia leku, eliminowanie możliwych do opanowania czynników (np. brak zdyscyplinowania) i utrzymywanie stabilnych stężeń leku.

Monitorowanie leczenia takrolimusem

Jak wspomniano, leczenie takrolimusem prowadzi się w oparciu o monitorowanie jego stężenia we krwi pełnej oznaczanego przed podaniem kolejnej dawki (C_0), ze względu na stwierdzone korelacje między tym właśnie stężeniem, a wynikami leczenia. Za „złoty standard” analityczny uznano metodę chromatografii cieczowej LC-MS/MS, która umożliwia

precyzyjny pomiar stężenia eliminując krzyżowe reakcje z metabolitami leku, niemniej ze względu na wysokie koszty i małą dostępność aparatury, powszechnie stosowane są metody immunoenzymatyczne (np. MEIA), „zawyżające” stężenie o około 15-25% (w odniesieniu do wartości „wzorcowej”) co należy mieć na uwadze porównując stężenia leków zalecane w piśmiennictwie i poszczególnych ośrodkach.[44]

Trwają poszukiwania markera, który wykazywałby lepszą korelację ze skutecznością leczenia, niż stężenie leku we krwi pełnej. Dotyczy to zarówno parametrów farmakokinetycznych, czyli pomiaru stężeń leku, jak i farmakodynamicznych, czyli pomiaru efektu wywieranego przez lek w miejscu docelowym. Istnieją doniesienia, że stężenie takrolimusu mierzone w tkance przeszczepu[53], limfocytach krwi obwodowej[54] i stężenie wolnej frakcji leku we krwi lepiej koreluje z ryzykiem niepowodzenia leczenia, jak odrzucanie i utrata przeszczepu. Podobnie, wykazano też, że markerem ryzyka ostrego odrzucania może być ilościowy pomiar zależnego od takrolimusu zakresu zahamowania aktywności kalcyneuryny (CaN) w komórkach krwi obwodowej i transkrypcji genu regulatorowego dla jądrowego czynnika aktywowanych limfocytów T (NFAT).[55] Nadzieje wiąże się również z ilościowym oznaczaniem pozakomórkowego DNA dawcy we krwi i w moczu dawcy (dd-cfDNA), problemem pozostaje na razie brak swoistości w odróżnieniu uszkodzenia przeszczepu w mechanizmie odrzucania i nefropatii *Polyoma* BK.[55] Znaczenie żadnej z metod nie zostało jak dotąd potwierdzone w badaniach klinicznych i żadna, również ze względu na koszty i dostępność, nie znalazła zastosowania praktycznego.

Za najbardziej precyzyjny miernik ekspozycji na lek, wysoce skorelowany z klinicznym efektem takrolimusu uznaje się pole pod krzywą stężenia leku – AUC (ang. *area under curve*). Przewaga monitorowania leczenia wartością AUC w porównaniu z C_0 (najniższym stężeniem leku tuż przed podaniem kolejnej dawki) nie została jednak jak dotąd potwierdzona w prospektywnych badaniach. Ze względu na łatwość zastosowania w praktyce i dobrą korelację z AUC w większości ośrodków rutynowo oznacza się właśnie stężenie leku przed kolejną dawką. Pomiar AUC rezerwuje się dla szczególnych wskazań klinicznych, takich jak ocena ekspozycji we wczesnym okresie po transplantacji, monitorowanie immunosupresji u pacjenta po leczeniu odrzucania lub zmianie leków oraz w razie problemów z uzyskaniem adekwatnego stężenia C_0 (nietypowy metabolizm leku).

Istnieją kontrowersje co do optymalnego zakresu stężeń terapeutycznych takrolimusu. W oficjalnych dokumentach Charakterystyki Produktu Leczniczego (ChPL) Prografu i Advagrafu podany jest (jako zalecenie) szeroki przedział stężeń, od 10 do 20 ng/ml we

wczesnym okresie po przeszczepieniu nerki i od 5 do 15 ng/ml w okresie leczenia podtrzymującego.[42,43] Podobnie, wg. zaleceń ekspertów sformułowanych w 2007 roku, leczenie takrolimusem u dzieci po transplantacji nerki należy rozpocząć od dawki 0,15 mg/kg podawanej dwa razy dziennie, tak by uzyskać stężenie 10-20 ng/ml w pierwszych 2 miesiącach po transplantacji i 5 - 10 ng/ml w okresie późniejszym.[56] Co ciekawe, dokładnie takie same zalecenia znalazły się w wytycznych z 2019 roku z informacją, że nie zidentyfikowano nowych badań potwierdzających zalecane zakresy stężeń, a proponowane stężenie 10-20 ng/ml ustalono na podstawie doświadczenia klinicznego (poziom wiarygodności EBM C1 II).[55] Podany wyżej zakres stężeń został zaproponowany w oparciu o wyniki kilku badań klinicznych (głównie prowadzonych na pacjentach dorosłych) oraz wieloletnie doświadczenia i obserwacje kliniczne. Już w 1996 roku, w dużym randomizowanym badaniu nad poszukiwaniem właściwych stężeń wykazano, iż u pacjentów po transplantacji nerki toksyczność leku, głównie dotycząca układu nerwowego i przewodu pokarmowego zwiększa się wraz ze zwiększeniem maksymalnego stężenia C_0 takrolimusu, a częstość odrzucania wzrasta wraz ze zmniejszeniem minimalnego stężenia C_0 . Pacjenci byli randomizowani do grupy leczonej CsA i trzech grup leczonych takrolimusem z docelowym niskim (5-14 ng/ml), pośrednim (15-25 ng/ml) lub wysokim (26-40 ng/ml) zakresem stężeń C_0 . Za przedział zapewniający najlepszy bilans skuteczności i toksyczności przyjęto 5-15 ng/ml, co odpowiadało dawce wstępnej 0,2 mg/kg/dobę. Wszyscy pacjenci otrzymywali kortykosteroidy, azatioprynę i surowicę poliklonalną w ramach leczenia indukcyjnego.[57] Zdefiniowany w tym badaniu przedział okazał się również skuteczny w randomizowanym badaniu u dzieci wykazującym przewagę takrolimusu nad cyklosporyną w skojarzeniu z azatiopryną. Średnie stężenie TAC wynosiło $13,0 \pm 8,7$ ng/ml we wczesnym okresie i $8,9 \pm 2,8$ ng/ml w 4 – 6 miesiącu po transplantacji.[33] W dalszej obserwacji pacjentów z tego badania stężenie takrolimusu było stopniowo coraz niższe i wynosiło średnio $7,1 \pm 2,8$ ng/ml po roku i $6,7 \pm 2,8$ ng/ml po dwóch i $6,2 \pm 2,3$ ng/ml po 3 latach.[58,34] Wyniki badania SYMPHONY pozwalały przypuszczać, że skojarzenie takrolimusu i MMF umożliwia bezpieczną jeśli chodzi o ryzyko odrzucania i korzystną, jeśli chodzi o czynność przeszczepu minimalizację stężeń C_0 takrolimusu. Częstość odrzucania w badaniu była najniższa, a GFR najwyższy w grupie pacjentów z najniższym stężeniem TAC C_0 w zakresie 3–7 ng/ml.[38] W zbiorczej analizie trzech dużych randomizowanych badań (1363 pacjentów), w których, w różnych grupach pacjentów dopuszczano różne zakresy stężeń takrolimusu od 10-14 i 8-12 ng/ml we wczesnym okresie po transplantacji do 3-5, 3-7, 4-6, 6-8 i 8-10 w dalszych miesiącach nie wykazano żadnej korelacji między stężeniem leku C_0 , a wystąpieniem odrzucania, które zależało wyłącznie od wystąpienia opóźnienia czynności przeszczepu.[59]

Większość ośrodków transplantacyjnych, w tym także pediatrycznych zaczęło akceptować niższe stężenia C₀ takrolimusu u pacjentów obarczonych niższym ryzykiem odrzucania, nie chcąc narażać ich nadmiernie na toksyczność leku. Za czynniki podwyższonego ryzyka ostrego odrzucania uznawano: powtórne przeszczepienie, wysoką wartość aktualnego PRA, opóźnienie czynności przeszczepu (DGF), niezgodność w układzie HLA (szczególnie DR), pochodzenie przeszczepu od dawcy zmarłego i to u takich pacjentów starano się utrzymywać wyższe stężenie leku. Niższe stężenia akceptowano także u stabilnych pacjentów w odległym okresie po transplantacji. Poznanie mechanizmów przewlekłego odrzucania, roli jaką odgrywają w nim przeciwciała DSA[28,60] oraz znaczenia ich monitorowania[4] wywołało kontrowersje dotyczące optymalnych stężeń takrolimusu. Zmiany histopatologiczne w przeszczepie przypisywane w przeszłości toksyczności leku, czyli jego przedawkowaniu wg. znowelizowanej klasyfikacji Banff związane są z AMR, czyli są skutkiem zbyt słabej, a nie zbyt silnej immunosupresji i wiązane są obecnie z ryzykiem utraty przeszczepu. Jak już wspomniano, również obecność przeciwciał DSA wiąże się z ryzykiem wystąpienia przewlekłego odrzucania i utraty przeszczepu, a ich pojawienie się ze zbyt słabą immunosupresją. Potwierdzono, że takrolimus w większym stopniu niż cyklosporyna, a MMF w większym stopniu niż AZA chroni pacjenta przed pojawieniem się dnDSA. W dużym badaniu na grupie 4763 pacjentów stwierdzono obecność przeciwciał dnDSA u 9,8% pacjentów otrzymujących cyklosporynę i MMF, w porównaniu z 18,1% pacjentów otrzymujących cyklosporynę i azatioprynę, co przekładało się też na mniejszą (3%) częstość utraty przeszczepu u pacjentów bez przeciwciał dnDSA, w porównaniu do 8% u pacjentów wytwarzających przeciwciała.[61] Tłumaczy to pośrednio korzyści kliniczne, które pojawiały się wraz z wprowadzaniem nowych leków. Na ryzyko pojawienia się dnDSA wpływ ma nie tylko samo stosowanie leku, ale przede wszystkim zakres uzyskanej ekspozycji na jego działanie. Wykazano, że mała ekspozycja na CNI (takrolimus i cyklosporyna A), zdefiniowana jako uzyskanie stężenia C₀ poniżej dolnego limitu w $\geq 50\%$ oznaczeń wpływa na ryzyko pojawienia się dnDSA w większym stopniu, niż młody wiek biorcy i zły dobór immunologiczny przeszczepu (6-8 niezgodności w układzie A-B-DR-DQ). Zmniejszona ekspozycja na CNI nie miała jednak w tej obserwacji wpływu na przeżycie pacjentów, ani przeszczepów.[62] Zaobserwowano też, że uzyskanie średniego stężenia C₀ < 8 ng/ml było związane z pojawieniem się dnDSA po 6 miesiącach (OR 2,51) i 12 miesiącach (OR 2,32), a utrzymywanie się stężenia C₀ w założonym czasie w mniej niż 60% oznaczeń z pojawieniem się dnDSA (OR 2,05), ryzykiem ostrego odrzucania w pierwszym roku (HR 4,18) i utraty przeszczepu w czasie 5 lat (HR 3,12) po transplantacji.[63] Zmniejszona ekspozycja na takrolimus wiąże się ze zwiększeniem ryzyka powstawania dnDSA niezależnie

od metody jej oceny. Związek wykazano zarówno w przypadku monitorowania stężenia C_0 , zmienności stężeń (IPV), jak i odsetka wartości pomiarów poniżej stężeń terapeutycznych.[64] Obserwacje te poddają w wątpliwość, czy ustalony dekadę temu szeroki zakres uznanych za optymalne stężeń terapeutycznych takrolimusu u dzieci po transplantacji nerki nie wymaga weryfikacji i nadal sprawdza się aktualnie w praktyce klinicznej. Jak wspomniano był on ustalany dla takrolimusu kojarzonego z innymi lekami (niż obecnie), w czasach gdy nie dysponowano jeszcze taką wiedzą na temat humoralnych mechanizmów odrzucania, jak i nie było możliwości oznaczania DSA. Jak wspomniano, nie opublikowano żadnego badania o wysokim stopniu wiarygodności wg. kryteriów EBM (*ang. evidence-based medicine*), które umożliwiłoby zmianę lub doprecyzowanie zaleceń ekspertów w tym zakresie.[55] Zakładając, że podtrzymujące leczenie immunosupresyjne u dzieci po transplantacji nerki oparte na podawaniu takrolimusu jest najlepszą opcją terapeutyczną, o czym świadczy to, że od ponad 10 lat nie jest w stanie zastąpić go żaden inny lek, należy zastanowić się czy można jeszcze bardziej zwiększyć jego skuteczność. Najlepszą odpowiedź na to pytanie dałoby przeprowadzenie dobrze zaprojektowanego prospektywnego i wieloletniego badania oceniającego długotrwały wpływ stężenia leku na podstawowe parametry skuteczności leczenia (np. odległe przeżycie przeszczepu, czynność przeszczepu), jak i bezpieczeństwo leczenia (np. przeżycie pacjenta, jakość życia, częstość i profil działań niepożądanych i powikłań) uwzględniającego udział innych znanych czynników wpływających na rokowanie pacjenta i przeszczepu. Zaplanowanie i przeprowadzenie takiego badania wobec szybkiego pojawiania się nowych informacji, metod diagnostycznych oraz rozproszenia i uszczegółowienia badań w różnych dziedzinach medycyny i transplantologii jest bardzo trudne, a chyba wręcz niemożliwe. Dodatkowo, takie badania powinny być (zgodnie ze współczesnymi regulacjami prawnymi) finansowane przez producenta oryginalnego nowego leku, co ogranicza planowanie takich badań tylko do innowacyjnych nowych produktów, przed wprowadzeniem ich do procesu rejestracyjnego w populacji < 18 roku życia. Takrolimus, stosowany już od dawna – nie spełnia już tego kryterium.

Do czasu dopracowania, wdrożenia i zwiększenia dostępności opisanych metod monitorowania leczenia i stanu immunologicznego do praktyki klinicznej decyzje co do dalszego leczenia muszą opierać na znanych od lat i sprawdzonych parametrach, jak eGFR i stężenie takrolimusu C_0 .

Przeszczepianie nerek w Instytucie – Pomnik Centrum Zdrowia Dziecka

Instytut Pomnik Centrum Zdrowia Dziecka jest jedynym ośrodkiem w Polsce prowadzącym program przeszczepiania nerek u dzieci. Od pierwszego zabiegu wykonanego 1984 roku przeprowadzono w nim ponad 1050 transplantacji, co jeśli chodzi o liczbę przeszczepień stawia go w czołówce największych ośrodków pediatrycznych w Europie. Około 15% przeszczepów pochodziło od dawców żywych. Pod opieką ośrodka stale przebywa od 200 do 250 pacjentów. Co roku przybywa 30 – 50 nowych pacjentów i podobna grupa przestaje być naszymi pacjentami. Zdecydowana większość zostaje przekazana z dobrze funkcjonującym przeszczepem nerki pod opiekę innych ośrodków ze względu na osiągnięcie pełnoletności. Aktualnie, najczęstszym schematem podtrzymującej immunosupresji, stosowanym u ponad 80% pacjentów jest skojarzone podawanie kortykosteroidów, takrolimusu i mykofenolanu mofetylu. U części pacjentów podawanie kortykosteroidów ogranicza się do pierwszych 4 dni transplantacji i dodatkowo podaje się dwie dawki bazyliksymabu (schemat TWIST). Wskazania do zastosowania innego leczenia zależą od choroby podstawowej (pacjenci z ryzykiem nawrotu kłębuszkowego zapalenie nerek otrzymują cyklosporynę zamiast takrolimusu), braku możliwości przyjmowania takrolimusu w kapsułkach (małe dzieci, które nie potrafią połykać kapsułek), choroby nowotworowej w wywiadzie (wskazany lekiem jest sirolimus) i lekooporna padaczka (cyklosporyna A zamiast takrolimusu). Pacjenci o podwyższonym ryzyku odrzucania (ponowne przeszczepienie, obecność DSA, słaby dobór immunologiczny) dodatkowo, w ramach indukcji otrzymują bazyliksymab. Leczenie takrolimusem monitoruje się stężeniem leku we krwi pełnej przed kolejną dawką, dobierając dawkę tak, by stężenie na następnym wizycie mieściło się w założonym przedziale. Zalecany zakres stężeń terapeutycznych to 10-15 ng/ml w pierwszym miesiącu po transplantacji i 5-10 ng/ml w kolejnych miesiącach. Wskazaniem do oceny ekspozycji na lek pomiarem AUC jest uzyskiwanie nieoczekiwanych stężeń C_0 przy typowym dawkowaniu. Biopsję nerki przeszczepionej wykonuje się ze wskazań klinicznych, którymi najczęściej są pogorszenie czynności nerki nie uzasadnione inną przyczyną, wystąpienie białkomoczu i pojawienie się, lub narastanie miana przeciwciał DSA. Przeciwciała DSA badane są planowo (od niedawna), oraz w razie wskazań klinicznych. Czynność przeszczepu rutynowo monitoruje się oznaczaniem na każdej wizycie stężenia kreatyniny w surowicy i wyliczaniem na tej podstawie eGFR (wg wzoru Schwartz). Utrzymywanie się stabilnej czynności przeszczepu, brak doraźnych powikłań, dobra kontrola chorób towarzyszących np. nadciśnienia, cukrzycy, brak istotnych odchyleń w badaniach dodatkowych i nieakceptowalnych działań

niepożądanych stanowią przesłankę do utrzymywania bez zmian dotychczasowego leczenia immunosupresyjnego.

Uzasadnienie hipotezy badawczej

Ze względu na bardzo dobre krótkoterminowe wyniki przeżycia pacjentów i samego przeszczepu nerki, coraz większego znaczenia nabierają wszelkie próby poprawy wyników odległych, w tym jak najdłuższe utrzymanie dobrej jego czynności.

W praktyce klinicznej, u stabilnych pacjentów z niskim ryzykiem immunologicznym, w przewlekłym leczeniu akceptuje się stężenia leku bliskie dolnego zakresu przedziału (minimalizacja immunosupresji). Powodem zwiększania dawek leku (a przez to stężeń) jest wystąpienie wskazań klinicznych, głównie rozpoznanie lub podejrzenie odrzucania. W związku z sygnałami dotyczącymi zagrożeń związanych z nieadekwatną, zbyt słabą immunosupresją w odległym okresie po transplantacji, jak powstawanie przeciwciał DSA oraz przewlekłe humoralne odrzucanie przeszczepu rodzą się wątpliwości, czy aktualne leczenie jest optymalne i czy nie ma możliwości zwiększenia jego skuteczności? Pojawia się pytanie, czy utrzymanie niższych lub wyższych stężeń (czyli zawężenie dotychczas zalecanego zakresu) może mieć korzystny wpływ na czynność przeszczepu i zapobiegać jej pogarszaniu się.

Założono, że nawet jeśli stężenie leku utrzymywać się będzie w docelowym przedziale 5-10 ng/ml, to może się okazać, że uzyskanie bardziej dokładnie zdefiniowanych stężeń (choć nadal pozostających w tym zakresie) zapewnia większe korzyści w odniesieniu do utrzymania wartości eGFR, a inne wartości stężenia (choć nadal w tym zakresie) mogą okazać się szkodliwe. Należałoby wtedy wdrożyć optymalizację leczenia przez zawężenie zakresu docelowych stężeń w indywidualnych przypadkach (czyli dawkowanie restrykcyjne). Brak jakiegokolwiek zależności świadczyłby o tym, że dowolne stężenie leku, ale pozostające w całym przedziale referencyjnym, tak samo kontroluje wpływ wszystkich innych zmiennych wpływających na eGFR (czego efektem byłoby przyjęcie zasady dawkowania liberalnego).

CELE PRACY

Cel podstawowy (hipoteza badawcza)

Weryfikacja odpowiedzi na pytanie:

Czy stężenie takrolimusu C_0 (czyli oznaczane przed podaniem kolejnej dawki) ma niezależny od innych czynników wpływ na odległą czynność przeszczepu nerki u dzieci, mierzoną szacowanym wskaźnikiem filtracji kłębuszkowej (eGFR)?

Cele dodatkowe

Weryfikacja odpowiedzi na pytania:

Czy zawężenie szerokiego „tradycyjnego” zakresu stężeń w okresie dawkowania podtrzymującego, to jest 5-10 ng/ml, może zapewnić korzyści w odniesieniu do odległej czynności przeszczepu (eGFR)?

Czy można wskazać grupę (lub grupy) pacjentów, dla których korzystne byłoby trwale ograniczenie zakresu stężenia takrolimusu C_0 ?

Czy inne znane cechy kliniczne pacjentów modyfikują wpływ stężenia leku C_0 na czynność przeszczepu nerki (eGFR)?

MATERIAŁ I METODY

Grupa badana

Grupę badaną (N=94) stanowiły dzieci, którym w czasie od 01.01.2014 do 01.07.2018 roku (data zamknięcia bazy danych) w Instytucie Pomnik – Centrum Zdrowia Dziecka przeszczepiono nerkę i które w ramach immunosupresji podtrzymującej otrzymywały takrolimus.

Kryterium włączenia pacjenta do analizy

Jedynym kryterium włączenia pacjenta po transplantacji nerki do analizy było przyjmowanie przez niego takrolimusu w ramach immunosupresji podtrzymującej (w dniu wypisu do domu po hospitalizacji związanej z transplantacją nerki).

Analiza stężenia takrolimusu w odniesieniu do zakresu referencyjnego (5-10 ng/ml) dotyczyła okresu ≥ 30 dni po transplantacji.

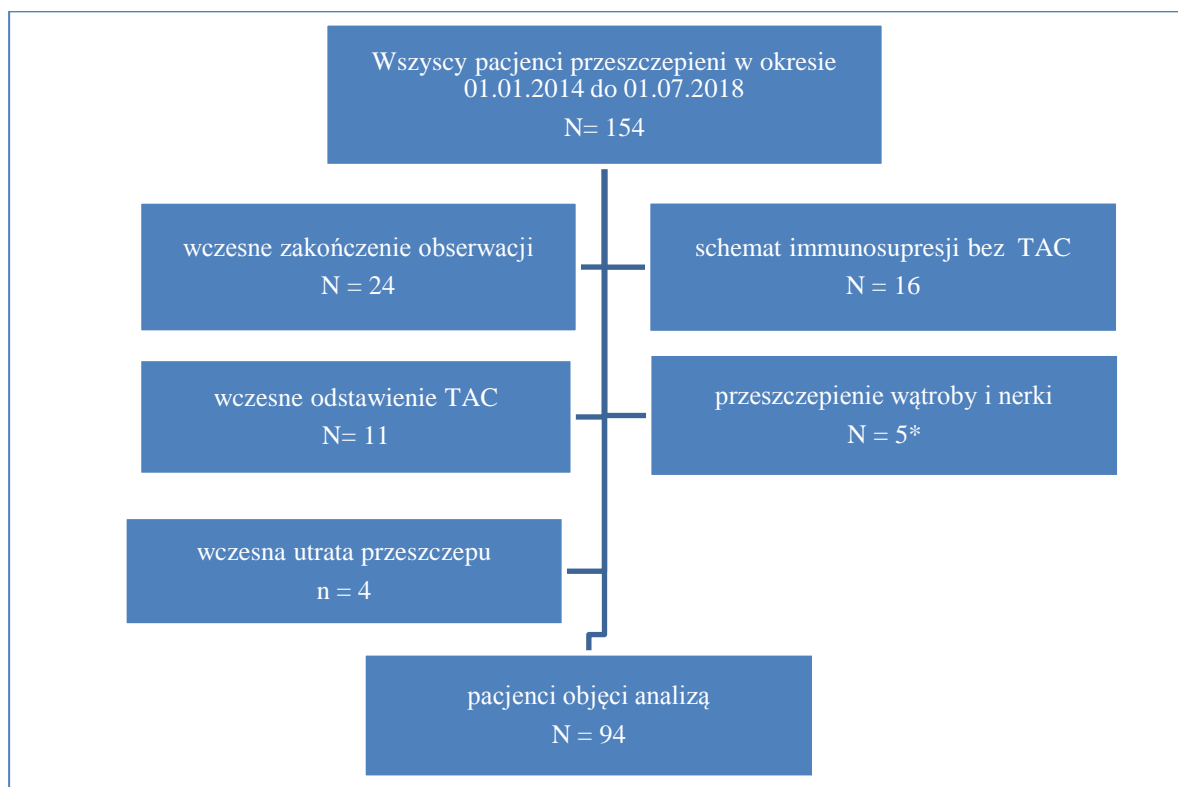
Spośród wszystkich pacjentów, u których wykonano w tym czasie transplantację nerki (N=154) na podstawie wymienionych niżej kryteriów wykluczenia z obserwacji wyłączono 60 chorych.

Kryteria wyłączenia z analizy

Kryteriami, które powodowały wykluczenie pacjentów z analizy były:

- wczesne (< 6 miesięcy) zakończenie obserwacji z powodu przekazania pacjenta pod opiekę innego ośrodka
- zastosowanie immunosupresji podtrzymującej bez takrolimusu
- wczesne (w czasie hospitalizacji związanej z transplantacją) odstawienie takrolimusu z powodu powikłań i działań niepożądanych
- przeszczepienie wątroby i nerki
- wczesna (w czasie hospitalizacji związanej z przeszczepieniem) utrata przeszczepu

Rozkład przyczyn wyłączenia z analizy z podaniem liczby pacjentów przedstawiono na Rycinie 4.



* w tej grupie stwierdzono jeden zgon, ale już sam fakt przeszczepienia wątroby i nerki był powodem wyłączenia z analizy

Rycina 4. Szczegółowy rozkład przyczyn wyłączenia pacjentów z analizy na podstawie kryteriów wyłączenia.

Przyczyny niepodania lub wczesnego odstawienia takrolimusu z uwzględnieniem liczby pacjentów ukazano w - Tabeli I.

Tabela I. Przyczyny niepodania lub odstawienia takrolimusu.

	Liczba pacjentów
Schematy immunosupresji bez takrolimusu – uzasadnienie zastosowania innego leczenia (N=16)	
Choroba podstawowa – kłębuszkowe zapalenie nerek z dużym ryzykiem nawrotu	7
Brak możliwości połykania kapsułek	5
Ciężkie działania niepożądane takrolimusu w wywiadzie	2
Przyjmowanie cyklosporyny A przed transplantacją	1
Padaczka lekooporna w wywiadzie	1
Przyczyna wczesnego odstawienia takrolimusu (N=11)	
Małopłytkowość	5
Neurotoksyczności (drgawki)	3
Cukrzyca	2
Hepatotoksyczność (↑ aktywności enzymów wątrobowych)	1

Wszyscy pacjenci otrzymywali takrolimus jako lek oryginalny, wytwarzany przez firmę Astellas w kapsułkach o natychmiastowym uwalnianiu (Prograf[®]) lub kapsułkach o opóźnionym uwalnianiu (Advagraf[®]). Zmiana postaci leku była odnotowana, ale nie stanowiła powodu wyłączenia z analizy. Zasady monitorowania leczenia w odniesieniu do oczekiwanych stężeń były w obu przypadkach takie same. Prograf podawany był w dwóch dawkach na dobę, Advagraf w jednej dawce na dobę. Dawka leku była przyjmowana przez pacjenta „na czczo” tj. godzinę przed lub dwie godziny po posiłku. Dawka wstępna wynosiła 0,15 mg/kg masy ciała i była następnie modyfikowana tak, by osiągnąć założone stężenie tj. 5–10 ng/ml we krwi pełnej, pobranej bezpośrednio przed przyjęciem porannej dawki leku.

Zakończenie obserwacji

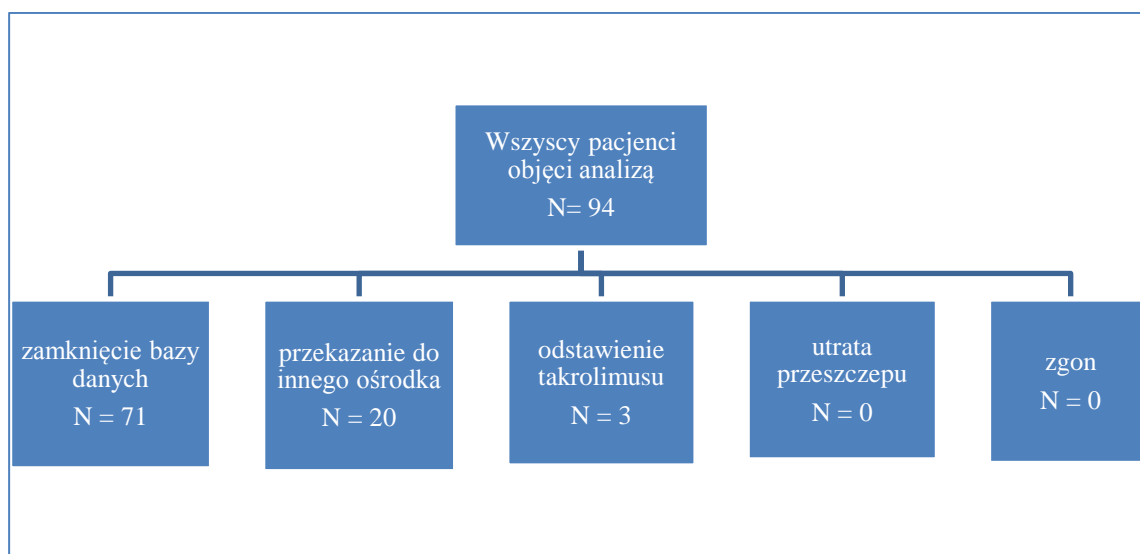
Zaplanowanym kryterium zakończenia obserwacji pacjentów objętych analizą (punktem końcowym) było wystąpienie jako pierwszego, dowolnego z poniższych zdarzeń:

- zamknięcie bazy danych dla pacjentów pozostających w obserwacji (01.07.2018)
- przekazanie pacjenta do innego ośrodka
- odstawienie takrolimusu

- zgon

- utrata przeszczepu

Przyczyny zakończenia obserwacji z uwzględnieniem liczby pacjentów przedstawiono na Rycinie 5.



Rycina 5. Przyczyny zakończenia obserwacji pacjentów biorących udział w analizie.

Przyczyny i czas odstawienia takrolimusu jako powód zakończenia obserwacji przedstawiono w Tabeli II.

Tabela II. Przyczyny i czas odstawienia takrolimusu u pacjentów objętych obserwacją.

Przyczyna	Czas po transplantacji (miesiąc)	Zmiana	Liczba pacjentów
Kłębuszkowe zapalenie de-novo	9	TAC → CsA	1
Cukrzyca	12	TAC → CsA	1
Małopłytkowość	4	TAC → CsA	1

Zakres zebranych danych

W odniesieniu do wszystkich pacjentów biorących udział w analizie zebrano następujące dane podzielone na następujące kategorie:

- 1) *Wyjściowa charakterystyka biorcy*: wiek, masa ciała i wzrost w chwili przeszczepienia, płeć, grupa krwi, rozpoznanie choroby podstawowej, czas od rozpoznania niewydolności nerek do transplantacji, czas trwania leczenia dializami, metoda dializoterapii przed przeszczepieniem nerki, czas pobytu w szpitalu po transplantacji, czas oczekiwania na transplantację, wartość PRA ostatnia, wartość PRA maksymalna, status CMV IgG, status EBV IgG, lekarz prowadzący (Tabela źródłowa I)
- 2) *Charakterystyka dawcy*: wiek, masa ciała i wzrost w chwili pobrania narządu, płeć, grupa krwi, status – dawca żywy / zmarły, eGFR w chwili pobrania, status CMV IgG, status EBV IgG (Tabela źródłowa II)
- 3) *Procedura przeszczepienia*: kolejny numer przeszczepienia (pierwsze lub kolejne), czas trwania zimnego niedokrwienia (CIT – *cold ischemia time*), wystąpienie i czas trwania opóźnienia czynności przeszczepu (DGF- *delayed graft function*), liczba niezgodnych antygenów HLA A, B, DR z dawcą (Tabela źródłowa II).
- 4) *Towarzysząca immunosupresja* – leki podawane z takrolimusem i ewentualna ich trwała zmiana (Tabela źródłowa I)
- 5) *Przebieg monitorowania leczenia takrolimusem*: wszystkie oznaczenia C₀takrolimusu we krwi pełnej u każdego pacjenta, w całym okresie obserwacji.*
*Ze względu na bardzo dużą liczbę oznaczeń (> 3500) nie dołączano źródłowych tabel z oryginalnymi danymi, dane te znajdują się na załączonej płycie CD.
- 6) *Czynności nerki przeszczepionej*: wszystkie odnotowane w okresie obserwacji wartości stężenia kreatyniny w surowicy i wzrostu pacjenta umożliwiające wyliczenie eGFR.**
**Ze względu na bardzo dużą liczbę oznaczeń (> 3700) nie dołączano źródłowych tabel z oryginalnymi danymi, dane to znajdują się na załączonej płycie CD.
- 7) *Zdarzenia kliniczne powodujące zakończenie obserwacji*: zgon, utrata przeszczepu, przekazanie pacjenta pod opiekę innego ośrodka – z podaniem czasu po przeszczepieniu w miesiącach (Tabela źródłowa II).

Zdefiniowanie zebranych danych

Zebrane dane (poza antropometrycznymi) zdefiniowano w następujący sposób:

Czas zimnego niedokrwienia (CIT), to mierzony w minutach czas od momentu schłodzenia narządu w ciele dawcy do reperfuzji w ciele biorcy – odnotowywano na podstawie chirurgicznych protokołów pobrania oraz przeszczepienia.

Za opóźnienie czynności przeszczepu (DGF) przyjęto fakt występowania dysfunkcji przeszczepionej nerki stwarzający konieczność wykonania dializy po przeszczepieniu. Czas trwania DGF to liczba dni od reperfuzji nerki (transplantacji) do dnia wykonania ostatniej dializy po transplantacji. Gdy DGF nie wystąpiło wpisano zero.

Ostatnia wartość PRA - wartość PRA w %, odnotowana jako ostatnia przed transplantacją.

Maksymalna wartość PRA – najwyższa wartość PRA w % odnotowana w czasie od wpisania pacjenta na listę oczekujących, do dnia transplantacji.

Czas od rozpoznania choroby nerek do transplantacji – liczba miesięcy między odnotowanym dniem postawienia rozpoznania przewlekłej choroby nerek, a dniem transplantacji.

Czas oczekiwania na przeszczepienie – liczba miesięcy między dniem wpisania pacjenta na listę pacjentów oczekujących na transplantację, a dniem transplantacji.

Czas leczenia dializami - liczba miesięcy od pierwszego dnia leczenia dializami do dnia transplantacji (w przypadkach pacjentów nie dializowanych wpisano wartość zero).

Czas hospitalizacji po przeszczepieniu– liczba dni od dnia transplantacji nerki do ostatniego dnia hospitalizacji związanej z tym zabiegiem.

Liczba niezgodnych antygenów HLA– liczba antygenów dawcy w układzie HLA A, B, DR, które nie były obecne u biorcy.

Wszystkie dane na potrzeby analizy zbierano retrospektywnie, na podstawie dokumentacji medycznej.

Od rodziców wszystkich pacjentów i pacjentów w wieku powyżej 16 lat uzyskano zgodę na zbieranie danych medycznych i ich wykorzystanie w celach naukowych. Była to standardowa

zgoda podpisywana w Izbie Przyjęć IPCZD przed przyjęciem do szpitala. Wszelkie analizy statystyczne prowadzone były na formularzach pozbawionych danych umożliwiających identyfikację pacjenta, takich jak imię, nazwisko, data urodzenia, pesel. Na dokonanie analizy uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej IPCZD (numer uchwały 43/KBE2020).

Metodyka laboratoryjna

- stężenie kreatyniny w surowicy oznaczano metodą enzymatyczną na aparacie Cobas firmy Roche. Zakres referencyjny: Dzieci: 0,06 – 1,0 mg/dl, dorośli: 0,06 – 1,2 mg/dl

- stężenie TAC oznaczano ilościowo we krwi pełnej testem immunochemicznym z użyciem mikrocząstek i znacznika chemiluminescencyjnego (ang. *Chemiluminescent Microparticle Immunoassay*, CMLA). Zakres referencyjny: indywidualnie

- antygeny HLA oznaczano metodą PCR SSO (Labtype SSO)

- obecność przeciwciał PRA oznaczono testem mikrolimfocytotoksycznym (metodą serologiczną CDC)

- status EBV i CMV u biorców (przed transplantacją) był definiowany na podstawie badań serologicznych przeciwciał anti-CMV w klasie IgG i IgM oraz EBV EBNA-1 IgG, EBV VCA IgG i EBV VCA IgM wykonywanych testem Abbott na aparacie Alinity i metodą CMLA (*Chemiluminescent Microparticle Immunoassay*). Zakresy referencyjne:

CMV IgG: ujemny <6,0 AU/ml; dodatni $\geq 6,0$ AU/ml

CMV IgM: ujemny <0,85 S/CO; graniczny 0,85 - <1 S/CO; dodatni $\geq 1,0$ S/CO

EBV VCA IgM: dodatni $\geq 1,0$ S/CO; graniczny 0,50 do <1,0 S/CO; ujemny <0,5 S/CO

EBV VCA IgG: dodatni $\geq 1,0$ S/CO; graniczny 0,75 do <1,0 S/CO; ujemny <0,75 S/CO

EBV EBNA-1 IgG: dodatni $\geq 1,0$ S/CO; graniczny 0,50 do <1,0 S/CO; ujemny <0,5 S/CO.

Założenia przyjęte na potrzeby analizy

- Zalecane stężenie C₀ TAC w czasie pierwszych 30 dni od transplantacji wynosiło 10-15 ng/ml

- Zalecane stężenie C₀ TAC po upływie 30 dni od transplantacji wynosiło 5-10 ng/ml

- eGFR dla wszystkich biorców oraz dawców w wieku poniżej 18 lat wyliczano z uproszczonego wzoru Schwartza, w którym $eGFR (ml/min/1,73m^2) = 0,413 \times \text{wzrost (cm)} / \text{stężenie kreatyniny w surowicy (mg/dl)}$. [7] W przypadku dawców eGFR oznaczono na podstawie ostatniej odnotowanej przed pobraniem wartości stężenia kreatyniny (mg/dl).

- eGFR dla dawców w wieku ≥ 18 lat wyliczano ze wzoru *Cockcrofta-Gaulta*, w którym $eGFR (ml/min) = (140 - \text{wiek[lata]}) \times \text{masa ciała (kg)} \times (0,85 - \text{gdy kobieta, } 1 - \text{gdy mężczyzna}) / 72 \times \text{stężenie kreatyniny w surowicy(mg/dl)}$. [8] W przypadku dawców eGFR oznaczono na podstawie ostatniej odnotowanej przed pobraniem wartości stężenia kreatyniny (mg/dl).

Metody analizy statystycznej

Ocena mediany i kwartyli

Mediana, kwartył pierwszy (Q_1) i trzeci (Q_3) są miarami opisowymi odpornymi, podobnie jak statystyka $S_n = med\{med|x_i - x_j|; j = 1 \dots n\}$ opisująca zmienność zmiennej losowej jako przeciętna różnica pomiędzy dwoma wylosowanymi obserwacjami z próby. Miarą położenia, w przypadku pojedynczej zmiennej oraz miarą przesunięcia (efektu) w przypadku dwóch zmiennych losowych był estymator Hodgesa-Lehmanna, w przypadku pojedynczej próby nazywany pseudo-mediana. Tam, gdzie było to uzasadnione, w analizie opisowej wykorzystywano wartości średnie, w tym średnią harmoniczną. (W odpowiednich miejscach tekstu zostało to zaznaczone).

W przypadku zmiennych ujętych w tabelach kontyngencji - hipotezy o niezależności i równości rozkładów zmiennych testowano testem chi-kwadrat. W przypadku małych liczebności oczekiwanych rozkład statystyki testowej wyznaczano metodą Monte Carlo. Przedziały ufności CI 95% estymowano na poziomie ufności $1 - \alpha = 0.9$. W uzasadnionych przypadkach były one wyznaczone symulacyjnie.

Analizę zdarzeń zachodzących w czasie wykonano estymując funkcje przeżycia $S(t)$ czasu t estymatorem Kaplana-Meiera. Statystykę log-rank wykorzystano do testowania hipotezy o równości dwóch krzywych przeżycia. Ma ona rozkład chi-kwadrat o jednym stopniu swobody. Wyznaczano także warunkowe krzywe przeżycia okresu δ jeżeli obiekt przeżył do czasu t , jako funkcję dalszego trwania, definiowaną jako $S(t, \delta) = \frac{S(t+\delta)}{S(t)}$. Mówiąc o krzywej *przeżycia* mamy tu na myśli standardowe nazewnictwo w tzw. analizie przeżycia i *funkcję przeżycia* $S(t) = 1 - F(t)$, gdzie F to dystrybuanta rozkładu czasu trwania zjawiska, określającej prawdopodobieństwo, że analizowane zdarzenie nie zostanie zaobserwowane przed upłynięciem czasu t . Zjawiska zmieniające się w czasie opisywano także przy pomocy indeksów o podstawie stałej i zmiennej.

W analizie graficznej zmiennych wykorzystywano histogram oraz dystrybuantę empiryczną zmiennej. Dystrybuanta $F(x)$ jest funkcją zmiennej x taką, która określa, jaki odsetek obserwacji posiada wartość zmiennej *nie większy niż* x .

W analizie wykorzystywano także modele regresji liniowej, w tym na zmiennych transformowanych. Sposób transformacji podano w tekście.

Miarą określającą na ile regresja liniowa tłumaczy zależność pomiędzy zmienną objaśnianą a objaśniającą - jest współczynnik determinacji R^2 .

Tabela źródłowa 1 – Wyjściowa charakterystyka biorców i towarzysząca immunosupresja.

ID	Wiek biorcy (lata)	Płeć biorcy	Grupa krwi biorcy	Masa ciała biorcy (kg)	Wzrost biorcy (cm)	Rozpoznanie choroby podstawowej	Czas trwania niewydolności nerek (lata)	Rodzaj dializy	Czas trwania leczenia dializami (miesiące)	Status CMV biorcy	Status EBV biorcy	Aktualne PRA (%)	Maksymalne PRA (%)	Czas oczekiwania na przeszczepienie (miesiące)	Czas trwania hospitalizacji (dni)	lekarz prowadzący	Wyjściowy schemat immunosupresji podtrzymującej	Trwała zmiana leków	Rodzaj zmiana
77	15,9	k	A	48	157	dysplazja /hypoplazja	1,2	DO	13,9	dodatni	ujemny	0	0	10,8	16	1	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
78	11,8	k	A	30	144	nefronoptyza	9,4	HD	10,1	ujemny	dodatni	0	3	0,6	42	3	CS + TAC(Prograf) + MMF	tak	prograf → advagraf
79	14,9	k	A	49	155	wada układu moczowego	4,6	HD	47,0	ujemny	dodatni	0	0	10,2	17	3	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
81	5,5	m	B	12,7	90	klębuszkowe zapalenie nerek	1,1	DO	11,1	dodatni	ujemny	6	6	6,7	22	1	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
84	10,2	m	0	25	128	klębuszkowe zapalenie nerek	2,9	DD	35,1	dodatni	dodatni	0	0	2,3	15	3	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
85	14,3	k	0	34,6	149	torbielowość nerek	11,3	HD	14,8	ujemny	dodatni	3	7	12,1	27	2	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
86	2,1	m	B	11,2	82	wada układu moczowego	2,1	Bez	0,0	ujemny	ujemny	0	0	9,8	16	3	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
87	8,0	m	0	15	101	wada układu moczowego	8,0	DO	43,6	ujemny	ujemny	0	0	8,4	22	2	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
89	2,8	k	0	9	76	dysplazja /hypoplazja	2,8	DO	33,6	ujemny	ujemny	0	0	11,7	27	3	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
91	6,2	k	A	21	108	wada układu moczowego	6,2	Bez	0,0	ujemny	ujemny	0	0	7,5	20	1	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
93	12,5	m	0	27	133	wada układu moczowego	1,1	HD	2,1	ujemny	dodatni	0	0	1,5	28	1	CS + TAC(Prograf) + MMF	tak	MMF → AZA
94	5,8	m	A	17,5	113	wada układu moczowego	5,8	DO	20,3	dodatni	ujemny	0	17	3,6	18	3	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	

ID	Wiek biorcy (lata)	Płeć biorcy	Grupa krwi biorcy	Masa ciała biorcy (kg)	Wzrost biorcy (cm)	Rozpoznanie choroby podstawowej	Czas trwania niewydolności nerek (lata)	Rodzaj dializy	Czas trwania leczenia dializami (miesiące)	Status CMV biorcy	Status EBV biorcy	Aktualne PRA (%)	Maksymalne PRA (%)	Czas oczekiwania na przeszczepienie (miesiące)	Czas trwania hospitalizacji (dni)	lekarz prowadzący	Wyjściowy schemat immunosupresji podtrzymującej	Trwała zmiana leków	Rodzaj zmiana
102	11,8	m	0	33,5	140	dysplazja /hypoplazja	1,3	DO	15,1	ujemny	dodatni	0	0	6,3	16	1	TAC(Advagraf) + MMF	tak	steroidy start
103	3,3	m	0	14,6	98	wada układu moczowego	3,3	DO	29,6	dodatni	ujemny	0	0	10,3	26	3	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
105	16,0	k	0	57	151	wada układu moczowego	5,4	HD	16,4	dodatni	dodatni	20	20	0,6	21	1	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
106	9,3	k	0	20,3	117	nieznana	1,1	DO	13,0	ujemny	dodatni	0	0	1,2	13	2	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
107	16,1	m	A	55	177	wada układu moczowego	16,1	Bez	0,0	ujemny	ujemny	0	0	0,1	23	2	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
109	6,3	m	A	17,2	106	dysplazja /hypoplazja	2,5	Bez	0,0	dodatni	dodatni	0	0	1,3	14	2	CS + TAC(Prograf) + MMF	tak	MMF → AZA
111	15,2	k	0	33,5	146	wada układu moczowego	9,0	HD	37,3	dodatni	dodatni	0	0	15,6	15	1	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
113	15,5	m	0	38	152	wada układu moczowego	15,5	HD	14,9	ujemny	ujemny	0	3	17,1	18	1	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
116	2,4	m	A	11,5	88	torbielowatość nerek	2,4	DO	28,7	ujemny	ujemny	0	3	16,2	27	2	CS + TAC(Prograf) + MMF	tak	MMF → AZA
117	3,3	m	0	10	84	dysplazja /hypoplazja	3,2	DO	39,0	ujemny	dodatni	0	0	7,9	50	1	CS + TAC(Prograf) + MMF	tak	MMF → AZA
118	8,9	m	0	24,7	124	kłębuszkowe zapalenie nerek	3,1	HD	3,1	ujemny	ujemny	17	17	10,4	13	2	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
119	11,9	m	A	37,2	140	wada układu moczowego	7,0	DO	20,3	dodatni	dodatni	0	7	3,5	14	1	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
120	8,3	m	A	25,7	122	nieznana	1,6	DO	16,2	dodatni	dodatni	0	0	4,3	26	2	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	

ID	Wiek biorcy (lata)	Płeć biorcy	Grupa krwi biorcy	Masa ciała biorcy (kg)	Wzrost biorcy (cm)	Rozpoznanie choroby podstawowej	Czas trwania niewydolności nerek (lata)	Rodzaj dializy	Czas trwania leczenia dializami (miesiące)	Status CMV biorcy	Status EBV biorcy	Aktualne PRA (%)	Maksymalne PRA (%)	Czas oczekiwania na przeszczepienie (miesiące)	Czas trwania hospitalizacji (dni)	lekarz prowadzący	Wyjściowy schemat immunosupresji podtrzymującej	Trwała zmiana leków	Rodzaj zmiana
121	13,2	k	AB	46	154	nefronoptyza	3,5	DO	6,6	ujemny	dodatni	0	0	7,0	14	1	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
122	5,0	m	B	16,3	98	dysplazja /hypoplazja	5,0	DO	56,5	ujemny	ujemny	0	57	49,5	17	2	CS + TAC(Prograf) + MMF	tak	MMF → AZA
123	8,7	m	AB	20	117	wada układu moczowego	8,5	HD	102,8	dodatni	dodatni	0	0	19,0	13	1	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
124	15,2	m	A	66,7	176	inne	14,0	DO	6,3	dodatni	ujemny	0	0	2,9	10	2	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
126	9,0	m	0	18,7	113	dysplazja /hypoplazja	9,0	HD	14,9	ujemny	ujemny	0	0	15,7	25	1	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
127	10,1	m	0	37,5	131	dysplazja /hypoplazja	10,1	Bez	0,0	ujemny	dodatni	0	0	18,0	14	2	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
128	13,3	k	A	41	149	nefronoptyza	0,6	DO	7,0	dodatni	ujemny	0	0	4,8	20	3	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
129	15,4	k	A	55	166	dysplazja /hypoplazja	15,3	Bez	0,0	dodatni	dodatni	0	0	2,8	15	2	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
130	8,8	k	B	19,5	124	inne	2,3	DO	27,5	dodatni	dodatni	0	0	3,7	16	2	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
132	13,3	k	B	34,5	128	dysplazja /hypoplazja	6,2	DO	74,1	dodatni	dodatni	0	3	6,1	13	1	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
133	14,5	k	0	28	122	wada układu moczowego	1,4	HD	16,5	ujemny	ujemny	0	0	8,5	15	3	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
134	11,3	m	0	41,6	140	wada układu moczowego	7,2	HD	19,5	dodatni	ujemny	0	0	5,6	26	4	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
136	13,9	m	0	40	158	kłębuszkowe zapalenie nerek	4,0	HD	16,4	ujemny	ujemny	0	0	24,9	12	1	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	

ID	Wiek biorcy (lata)	Płeć biorcy	Grupa krwi biorcy	Masa ciała biorcy (kg)	Wzrost biorcy (cm)	Rozpoznanie choroby podstawowej	Czas trwania niewydolności nerek (lata)	Rodzaj dializy	Czas trwania leczenia dializami (miesiące)	Status CMV biorcy	Status EBV biorcy	Aktualne PRA (%)	Maksymalne PRA (%)	Czas oczekiwania na przeszczepienie (miesiące)	Czas trwania hospitalizacji (dni)	lekarz prowadzący	Wyjściowy schemat immunosupresji podtrzymującej	Trwała zmiana leków	Rodzaj zmiana
137	10,3	k	A	30,4	121	dysplazja /hypoplazja	10,3	Bez	0,0	dodatni	ujemny	0	0	0,8	24	2	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
138	13,5	m	0	42	155	wada układu moczowego	13,1	Bez	0,0	dodatni	ujemny	0	0	2,3	14	1	CS + TAC(Prograf) + MMF	tak	MMF → RAPA
139	12,7	m	0	28	153	kłębuszkowe zapalenie nerek	2,4	HD	22,9	ujemny	dodatni	0	13	0,3	39	1	CS + TAC(Prograf) + MMF	tak	TAC → RAPA → CsA
140	6,7	m	0	20,5	106	nieznana	6,7	DO	23,1	dodatni	ujemny	0	0	1,5	16	3	CS + TAC(Prograf) + MMF	tak	MMF → AZA
143	10,9	k	B	36	143	zespół hemolityczno-mocznicy	10,7	DO	9,4	ujemny	dodatni	0	0	1,1	15	1	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
144	16,8	m	A	56	169	kłębuszkowe zapalenie nerek	1,2	HD	14,8	ujemny	ujemny	0	0	1,6	16	2	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
145	16,7	k	0	63,7	140	dysplazja /hypoplazja	15,0	bez	0,0	dodatni	dodatni	0	0	2,7	20	3	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
146	2,1	k	A	11,8	83	inne	0,9	DO	10,8	ujemny	ujemny	0	0	2,4	13	3	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
147	14,9	m	A	47	168	wada układu moczowego	14,9	bez	0,0	ujemny	dodatni	0	10	5,7	11	3	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
148	10,4	k	0	45	138	nefronoptyza	1,4	DO	16,7	dodatni	dodatni	0	0	9,0	17	4	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
149	14,2	m	A	50	166	nieznana	0,7	DO	8,4	dodatni	dodatni	0	0	6,1	23	1	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
150	14,9	m	B	39,5	157	kłębuszkowe zapalenie nerek	1,9	DO	16,3	ujemny	ujemny	0	0	7,5	22	1	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	

ID	Wiek biorcy (lata)	Płeć biorcy	Grupa krwi biorcy	Masa ciała biorcy (kg)	Wzrost biorcy (cm)	Rozpoznanie choroby podstawowej	Czas trwania niewydolności nerek (lata)	Rodzaj dializy	Czas trwania leczenia dializami (miesiące)	Status CMV biorcy	Status EBV biorcy	Aktualne PRA (%)	Maksymalne PRA (%)	Czas oczekiwania na przeszczepienie (miesiące)	Czas trwania hospitalizacji (dni)	lekarz prowadzący	Wyjściowy schemat immunosupresji podtrzymującej	Trwała zmiana leków	Rodzaj zmiana
151	15,2	m	B	55	168	inne	13,4	DO	13,4	dodatni	dodatni	0	0	10,3	32	3	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
152	14,3	k	B	45,1	167	nefronoptyza	3,3	DO	17,9	ujemny	dodatni	0	0	14,3	18	3	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
153	3,0	k	A	8	77	kłębuszkowe zapalenie nerek	2,9	DO	34,9	dodatni	dodatni	0	0	9,2	26	1	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
154	5,5	m	B	19	104	torbielowatość nerek	5,5	DO	66,8	ujemny	ujemny	0	0	43,9	22	1	CS + TAC(Prograf) + MMF	tak	MMF → AZA
155	14,1	m	B	60,9	153	nieznana	1,3	bez	0,0	ujemny	ujemny	0	0	2,5	30	2	CS + TAC(Prograf) + MMF	tak	TAC → CsA
156	16,5	k	B	40,6	157	nefronoptyza	2,9	bez	0,0	dodatni	dodatni	0	0	1,2	18	4	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
157	15,4	m	B	50	170	wada układu moczowego	4,7	HD	56,7	ujemny	ujemny	0	27	41,7	22	3	CS + TAC(Prograf) + MMF	tak	MMF stop
158	11,2	k	B	19,5	107	kłębuszkowe zapalenie nerek	4,2	DO	37,6	ujemny	ujemny	0	7	26,2	15	1	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
159	15,8	m	B	46,5	158	wada układu moczowego	15,7	HD	24,9	ujemny	dodatni	0	0	11,5	16	3	CS + TAC(Prograf) + MMF	tak	prograf → advagraf
161	5,2	m	A	16,5	109	dysplazja /hypoplazja	5,2	bez	0,0	ujemny	dodatni	0	0	8,3	17	1	TAC(Prograf) + MMF	nie	
162	6,5	m	A	15	105	torbielowatość nerek	6,5	DO	6,8	dodatni	dodatni	0	3	6,1	13	1	TAC(Prograf) + MMF	tak	steroidy start
163	11,3	k	A	24,5	124	nieznana	1,2	DO	12,6	dodatni	ujemny	0	0	1,9	14	2	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
164	9,7	m	B	23	126	nieznana	1,0	DO	10,8	ujemny	dodatni	3	3	1,3	16	1	CS + TAC(Advagraf) +	nie	

ID	Wiek biorcy (lata)	Płeć biorcy	Grupa krwi biorcy	Masa ciała biorcy (kg)	Wzrost biorcy (cm)	Rozpoznanie choroby podstawowej	Czas trwania niewydolności nerek (lata)	Rodzaj dializy	Czas trwania leczenia dializami (miesiące)	Status CMV biorcy	Status EBV biorcy	Aktualne PRA (%)	Maksymalne PRA (%)	Czas oczekiwania na przeszczepienie (miesiące)	Czas trwania hospitalizacji (dni)	lekarz prowadzący	Wyjściowy schemat immunosupresji podtrzymującej	Trwała zmiana leków	Rodzaj zmiana
165	5,3	k	0	18	107	klębuszkowe zapalenie nerek	2,8	DO	22,4	ujemny	dodatni	0	0	8,1	19	2	MMF CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
167	15,8	m	A	41,5	153	nieznana	2,5	HD	30,4	dodatni	ujemny	0	0	23,1	19	1	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
168	16,3	m	A	71	171	nefroftyza	7,4	DO	46,7	dodatni	ujemny	0	33	41,4	21	2	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
169	17,1	m	B	66	173	wada układu moczowego	17,1	bez	0,0	dodatni	dodatni	0	0	1,8	19	4	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
171	11,2	k	A	26,2	132	nieznana	3,0	bez	0,0	dodatni	ujemny	0	0	4,7	21	1	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
172	10,0	k	B	30,5	131	klębuszkowe zapalenie nerek	6,7	DO	22,6	dodatni	dodatni	0	3	3,9	13	1	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
173	13,9	k	0	41,5	159	nefroftyza	6,5	DO	29,2	dodatni	dodatni	0	10	13,2	17	1	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
174	9,7	k	A	31,7	137	klębuszkowe zapalenie nerek	5,2	HD	13,0	dodatni	ujemny	0	0	4,9	747	1	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
175	16,3	m	B	39	141	klębuszkowe zapalenie nerek	3,9	HD	38,5	dodatni	dodatni	0	3	31,6	18	2	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
176	16,9	m	B	61,6	182	wada układu moczowego	16,9	bez	0,0	dodatni	dodatni	0	0	1,9	11	3	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
177	16,9	m	B	65	171	zespół hemolityczno-mocznicowy	16,6	bez	0,0	dodatni	dodatni	0	0	3,1	66	3	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
178	12,5	m	AB	28,5	131	zespół hemolityczno-	5,0	DO	57,7	dodatni	dodatni	0	3	2,1	-2	1	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	

ID	Wiek biorcy (lata)	Płeć biorcy	Grupa krwi biorcy	Masa ciała biorcy (kg)	Wzrost biorcy (cm)	Rozpoznanie choroby podstawowej	Czas trwania niewydolności nerek (lata)	Rodzaj dializy	Czas trwania leczenia dializami (miesiące)	Status CMV biorcy	Status EBV biorcy	Aktualne PRA (%)	Maksymalne PRA (%)	Czas oczekiwania na przeszczepienie (miesiące)	Czas trwania hospitalizacji (dni)	lekarz prowadzący	Wyjściowy schemat immunosupresji podtrzymującej	Trwała zmiana leków	Rodzaj zmiana
						mocznicowy													
180	10,0	k	A	20	115	torbielowatość nerek	9,9	DO	28,5	ujemny	dodatni	0	3	3,0	22	1	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
181	6,5	k	A	16	106	dysplazja /hypoplazja	6,2	DO	70,1	ujemny	ujemny	0	0	41,3	21	3	CS + TAC(Prograf) + MMF	tak	MMF → AZA
182	4,1	m	A	15	92	wada układu moczowego	4,1	DO	39,7	ujemny	ujemny	0	70	3,1	13	1	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
183	14,9	m	0	55,6	167	wada układu moczowego	14,9	HD	6,9	dodatni	dodatni	0	0	5,8	23	1	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
184	2,4	m	0	15	94	wada układu moczowego	2,4	DO	22,0	ujemny	ujemny	0	0	3,3	18	3	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
185	8,8	m	B	26	125	nieznana	8,6	HD	0,1	dodatni	ujemny	0	0	3,6	16	3	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
186	10,6	k	0	29,8	141	nieznana	0,8	DO	7,8	ujemny	dodatni	0	0	3,4	380	1	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
187	4,4	k	B	15,5	94	dysplazja /hypoplazja	4,4	DO	53,6	ujemny	ujemny	0	3	28,5	19	3	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
188	2,4	m	A	9	79	dysplazja /hypoplazja	1,2	bez	0,0	ujemny	ujemny	0	0	2,4	21	3	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
190	13,9	m	A	47	158	wada układu moczowego	12,4	DO	16,2	dodatni	dodatni	0	0	6,0	16	3	CS + TAC(Prograf) + MMF	tak	prograf → advagraf
191	16,2	k	AB	47,2	162	nieznana	1,2	DO	14,9	dodatni	dodatni	0	0	4,2	34	4	CS + TAC(Prograf) + MMF	tak	prograf → advagraf
192	9,3	m	A	29	131	wada układu moczowego	9,3	bez	0,0	dodatni	ujemny	0	0	7,2	14	4	CS + TAC(Prograf) + MMF	tak	MMF stop

ID	Wiek biorcy (lata)	Płeć biorcy	Grupa krwi biorcy	Masa ciała biorcy (kg)	Wzrost biorcy (cm)	Rozpoznanie choroby podstawowej	Czas trwania niewydolności nerek (lata)	Rodzaj dializy	Czas trwania leczenia dializami (miesiące)	Status CMV biorcy	Status EBV biorcy	Aktualne PRA (%)	Maksymalne PRA (%)	Czas oczekiwania na przeszczepienie (miesiące)	Czas trwania hospitalizacji (dni)	lekarz prowadzący	Wyjściowy schemat immunosupresji podtrzymującej	Trwała zmiana leków	Rodzaj zmiana
193	7,0	m	A	21,3	120	torbielowatość nerek	7,0	HD	0,0	ujemny	ujemny	0	3	1,9	15	3	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
194	14,3	m	0	39	157	wada układu moczowego	1,6	DO	9,7	dodatni	dodatni	0	17	6,3	16	3	CS + TAC(Prograf) + MMF	tak	prograf → advagraf
195	5,7	k	A	12,5	86	nefroftyza	3,1	DO	15,0	ujemny	ujemny	0	0	6,1	22	4	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
196	17,0	m	A	91	169	wada układu moczowego	17,0	DO	18,4	dodatni	ujemny	0	0	0,4	16	3	CS + TAC(Prograf) + MMF	tak	TAC → CsA
197	17,0	k	A	27	127	wada układu moczowego	8,5	HD	47,6	dodatni	dodatni	0	3	46,0	14	2	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
198	8,1	k	B	18,2	114	nieznana	2,5	DO	29,1	dodatni	dodatni	0	23	8,8	77	1	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	
200	10,8	m	A	23,7	132	wada układu moczowego	10,8	HD	120,7	ujemny	dodatni	0	0	0,1	17	1	CS + TAC(Prograf) + MMF	nie	

Tabela 2 – Charakterystyka dawcy i procedury przeszczepienia oraz powód zakończenia obserwacji.

NUMER ID	Rodzaj dawcy	Kolejna transplantacja	Płeć dawcy	Grupa krwi dawcy	Status CMV dawcy	Status EBV dawcy	Wiek dawcy (lata)	Masa ciała dawcy (kg)	Wzrost dawcy (cm)	eGFR dawcy (ml/min/1,73m ²)	CIT (min)	DGF	Czas trwania DGF (dni)	niezgodność HLA-A	niezgodność HLA-B	niezgodność HLA-DR	Powód zakończenia obserwacji	Czas zakończenia obserwacji (miesiąc po transplantacji)
77	zmarły	1	m	A	dodatni	nieznany	13	65	168	49	1950	NIE	0	2	1	1	przekazanie do innego ośrodka	18
78	zmarły	1	k	A	dodatni	nieznany	15	50	160	48	1765	TAK	3	1	2	2	zamknięcie bazy danych	60
79	zmarły	1	m	A	dodatni	nieznany	13	65	168	49	2093	NIE	0	1	0	1	przekazanie do innego ośrodka	36
81	żywy	1	k	B	dodatni	dodatni	33	67	170	121	205	NIE	0	1	2	1	zamknięcie bazy danych	54
84	zmarły	1	k	0	dodatni	nieznany	6	30	125	53	1385	NIE	0	2	2	1	zamknięcie bazy danych	54
85	zmarły	1	k	0	ujemny	nieznany	14	49	159	103	910	NIE	0	2	2	1	przekazanie do innego ośrodka	42
86	żywy	1	k	B	dodatni	dodatni	29	74	173	135	304	NIE	0	0	1	1	zamknięcie bazy danych	54
87	zmarły	1	k	0	dodatni	nieznany	6	30	125	53	1593	NIE	0	1	1	1	zamknięcie bazy danych	54
89	zmarły	1	m	0	ujemny	nieznany	13	40	140	76	700	NIE	0	2	1	1	zamknięcie bazy danych	54
91	zmarły	1	k	A	dodatni	nieznany	4	15	108	144	1115	NIE	0	1	2	1	zamknięcie bazy danych	60
93	zmarły	1	m	0	ujemny	nieznany	38	65	183	225	968	NIE	0	2	2	2	zamknięcie bazy danych	54
94	zmarły	1	k	A	dodatni	nieznany	43	50	155	88	800	NIE	0	1	1	0	zamknięcie bazy danych	60
102	zmarły	1	m	0	ujemny	nieznany	23	80	170	144	910	NIE	0	1	2	0	zamknięcie bazy danych	60
103	zmarły	1	m	0	ujemny	nieznany	13	40	140	76	1067	NIE	0	1	0	1	zamknięcie bazy danych	54
105	zmarły	1	k	0	dodatni	nieznany	34	50	170	116	1197	TAK	1	0	0	2	przekazanie do innego ośrodka	18
106	zmarły	1	m	0	dodatni	nieznany	12	50	165	112	550	NIE	0	1	2	1	zamknięcie bazy danych	60
107	zmarły	1	k	A	dodatni	dodatni	14	55	160	70	1034	NIE	0	0	2	1	przekazanie do innego ośrodka	24
109	zmarły	1	m	A	dodatni	dodatni	8	35	132	89	396	NIE	0	2	2	1	zamknięcie bazy danych	36
111	zmarły	1	m	0	dodatni	nieznany	5	27	122	33	1741	TAK	1	1	1	2	przekazanie do innego ośrodka	36

NUMER ID	Rodzaj dawcy	Kolejna transplantacja	Płeć dawcy	Grupa krwi dawcy	Status CMV dawcy	Status EBV dawcy	Wiek dawcy (lata)	Masa ciała dawcy (kg)	Wzrost dawcy (cm)	eGFR dawcy (ml/min/1,73m ²)	CIT (min)	DGF	Czas trwania DGF (dni)	niezgodność HLA-A	niezgodność HLA-B	Niezgodność HLA-DR	Powód zakończenie obserwacji	Czas zakończenia obserwacji (miesiąc po transplantacji)
113	zmarły	1	m	0	dodatni	nieznany	6	27	122	33	1682	TAK	2	2	2	2	przekazanie do innego ośrodka	30
116	zmarły	1	m	A	dodatni	nieznany	6	35	132	89	690	NIE	0	1	1	1	zamknięcie bazy danych	30
117	zmarły	1	m	0	dodatni	nieznany	11	33	140	134	997	NIE	0	1	1	2	zamknięcie bazy danych	30
118	zmarły	1	m	0	dodatni	nieznany	14	80	171	94	512	NIE	0	1	2	2	zamknięcie bazy danych	36
119	zmarły	2	m	A	dodatni	nieznany	17	70	178	65	871	NIE	0	2	2	1	zamknięcie bazy danych	30
120	zmarły	1	m	A	dodatni	nieznany	17	70	178	65	941	TAK	6	2	2	1	zamknięcie bazy danych	30
121	zmarły	1	k	AB	ujemny	nieznany	10	25	135	83	1315	NIE	0	1	1	1	zamknięcie bazy danych	30
122	zmarły	1	k	B	ujemny	nieznany	8	35	140	170	1385	NIE	0	2	2	2	zamknięcie bazy danych	30
123	zmarły	1	k	AB	dodatni	nieznany	39	50	160	101	573	NIE	0	1	0	2	zamknięcie bazy danych	36
124	zmarły	1	m	A	dodatni	nieznany	15	70	183	105	1495	NIE	0	2	1	0	przekazanie do innego ośrodka	30
126	zmarły	1	m	0	dodatni	nieznany	5	nd	nd	nd	1071	TAK	4	0	1	0	zamknięcie bazy danych	36
127	zmarły	1	m	0	dodatni	nieznany	14	70	175	88	820	NIE	0	2	2	2	zamknięcie bazy danych	30
128	żywy	1	k	A	ujemny	nieznany	35	65	155	115	120	NIE	0	1	1	2	zamknięcie bazy danych	30
129	zmarły	1	k	A	dodatni	nieznany	14	40	160	83	890	NIE	0	2	2	1	przekazanie do innego ośrodka	30
130	żywy	1	m	0	dodatni	dodatni	43	100	180	118	204	NIE	0	1	1	1	zamknięcie bazy danych	36
132	zmarły	1	k	B	ujemny	nieznany	33	80	180	168	690	NIE	0	1	2	2	zamknięcie bazy danych	36
133	zmarły	1	m	0	dodatni	nieznany	17	64	172	76	720	NIE	0	1	1	0	zamknięcie bazy danych	24
134	zmarły	1	k	0	dodatni	nieznany	17	60	168	193	669	NIE	0	2	1	0	zamknięcie bazy danych	24
136	zmarły	1	m	0	dodatni	nieznany	14	80	171	94	622	NIE	0	2	2	2	zamknięcie bazy danych	36
137	zmarły	1	k	A	dodatni	dodatni	14	40	175	90	930	NIE	0	0	1	1	zamknięcie bazy danych	30
138	żywy	1	m	0	ujemny	dodatni	37	37	182	53	112	NIE	0	1	1	1	zamknięcie bazy danych	12
139	zmarły	1	m	0	dodatni	nieznany	11	60	164	62	1065	TAK	19	2	2	1	odstawienie TAC	12
140	zmarły	1	k	0	dodatni	nieznany	15	55	167	61	830	NIE	0	0	1	2	zamknięcie bazy danych	30
143	zmarły	1	m	B	dodatni	ujemny	16	90	190	56	1125	NIE	0	2	1	2	zamknięcie bazy danych	42

NUMER ID	Rodzaj dawcy	Kolejna transplantacja	Płeć dawcy	Grupa krwi dawcy	Status CMV dawcy	Status EBV dawcy	Wiek dawcy (lata)	Masa ciała dawcy (kg)	Wzrost dawcy (cm)	eGFR dawcy (ml/min/1,73m ²)	CIT (min)	DGF	Czas trwania DGF (dni)	niezgodność HLA-A	niezgodność HLA-B	Niezgodność HLA-DR	Powód zakończenie obserwacji	Czas zakończenia obserwacji (miesiąc po transplantacji)
144	zmarły	1	m	A	dodatni	nieznany	16	70	178	61	866	NIE	0	1	2	1	przekazanie do innego ośrodka	12
145	zmarły	2	k	0	dodatni	nieznany	17	60	168	193	882	NIE	0	2	2	0	przekazanie do innego ośrodka	18
146	zmarły	1	k	A	dodatni	dodatni	7	25	135	199	1132	NIE	0	2	2	2	zamknięcie bazy danych	18
147	żywy	1	k	A	dodatni	dodatni	38	73	168	126	114	NIE	0	1	1	1	zamknięcie bazy danych	18
148	zmarły	1	m	0	ujemny	nieznany	11	32	150	70	594	NIE	0	0	2	2	zamknięcie bazy danych	18
149	żywy	1	k	A	dodatni	dodatni	38	58	162	93	168	TAK	3	1	1	1	zamknięcie bazy danych	24
150	żywy	1	k	B	dodatni	nieznany	38	67	158	94	140	NIE	0	1	1	1	zamknięcie bazy danych	30
151	zmarły	1	k	B	dodatni	nieznany	13	50	158	77	917	TAK	15	1	2	1	zamknięcie bazy danych	18
152	zmarły	1	k	B	dodatni	nieznany	13	50	158	77	950	NIE	0	1	2	0	zamknięcie bazy danych	18
153	zmarły	1	m	A	ujemny	nieznany	6	20	123	86	1585	NIE	0	2	1	2	zamknięcie bazy danych	24
154	zmarły	1	m	B	dodatni	nieznany	10	35	142	84	941	NIE	0	0	1	1	zamknięcie bazy danych	24
155	zmarły	1	m	B	dodatni	nieznany	12	40	140	170	1715	NIE	0	2	1	2	odstawienie TAC	9
156	zmarły	1	m	B	dodatni	dodatni	12	40	140	170	2060	NIE	0	0	2	2	przekazanie do innego ośrodka	12
157	zmarły	1	k	B	dodatni	dodatni	35	70	170	57	1195	NIE	0	1	0	1	zamknięcie bazy danych	18
158	zmarły	1	m	B	dodatni	nieznany	10	35	142	84	841	NIE	0	2	1	1	zamknięcie bazy danych	24
159	zmarły	2	m	B	dodatni	nieznany	32	75	179	150	663	NIE	0	2	2	1	przekazanie do innego ośrodka	18
161	żywy	1	k	A	dodatni	dodatni	28	62	167	91	113	NIE	0	1	1	1	zamknięcie bazy danych	42
162	zmarły	1	m	A	ujemny	nieznany	10	35	150	155	1170	NIE	0	1	1	2	zamknięcie bazy danych	42
163	zmarły	1	k	A	dodatni	nieznany	11	40	155	78	430	NIE	0	2	2	1	zamknięcie bazy danych	42
164	żywy	1	m	0	dodatni	dodatni	40	83	184	115	74	NIE	0	1	1	0	zamknięcie bazy danych	42
165	zmarły	1	k	0	dodatni	nieznany	5	20	110	116	656	NIE	0	2	1	1	zamknięcie bazy danych	48
167	zmarły	1	m	A	ujemny	dodatni	10	40	150	61	562	NIE	0	1	1	1	przekazanie do innego ośrodka	24

NUMER ID	Rodzaj dawcy	Kolejna transplantacja	Płeć dawcy	Grupa krwi dawcy	Status CMV dawcy	Status EBV dawcy	Wiek dawcy (lata)	Masa ciała dawcy (kg)	Wzrost dawcy (cm)	eGFR dawcy (ml/min/1,73m ²)	CIT (min)	DGF	Czas trwania DGF (dni)	niezgodność HLA-A	niezgodność HLA-B	Niezgodność HLA-DR	Powód zakończenie obserwacji	Czas zakończenia obserwacji (miesiąc po transplantacji)
168	zmarły	1	m	A	dodatni	nieznany	38	85	184	132	905	NIE	0	1	2	1	przekazanie do innego ośrodka	18
169	zmarły	1	m	B	dodatni	dodatni	16	73	172	100	1072	NIE	0	1	2	1	przekazanie do innego ośrodka	12
171	zmarły	1	m	A	ujemny	nieznany	3	25	116	160	1040	TAK	1	1	0	2	zamknięcie bazy danych	18
172	zmarły	1	m	B	ujemny	dodatni	11	35	148	93	339	NIE	0	1	0	0	zamknięcie bazy danych	42
173	zmarły	1	k	0	dodatni	dodatni	10	32	145	146	765	NIE	0	1	2	2	przekazanie do innego ośrodka	48
174	zmarły	1	m	A	dodatni	nieznany	8	25	135	112	735	NIE	0	1	2	1	zamknięcie bazy danych	48
175	żywy	1	m	B	dodatni	nieznany	60	72	162	85	181	NIE	0	0	1	1	przekazanie do innego ośrodka	18
176	zmarły	1	k	B	dodatni	nieznany	15	55	169	120	785	NIE	0	2	1	0	przekazanie do innego ośrodka	12
177	zmarły	1	m	B	dodatni	ujemny	15	48	166	143	635	TAK	28	1	1	0	przekazanie do innego ośrodka	12
178	zmarły	1	m	AB	dodatni	nieznany	17	80	190	78	385	NIE	0	0	2	2	zamknięcie bazy danych	54
180	zmarły	1	k	A	dodatni	nieznany	15	55	168	102	1145	NIE	0	2	2	2	zamknięcie bazy danych	36
181	zmarły	1	k	A	ujemny	dodatni	18	50	160	94	895	NIE	0	0	2	0	zamknięcie bazy danych	48
182	zmarły	1	m	A	ujemny	nieznany	9	35	150	155	855	NIE	0	1	1	1	zamknięcie bazy danych	42
183	zmarły	1	m	0	dodatni	nieznany	9	35	142	59	736	NIE	0	1	1	0	zamknięcie bazy danych	18
184	zmarły	1	k	0	dodatni	ujemny	7	27	122	84	1165	NIE	0	1	2	1	zamknięcie bazy danych	12
185	żywy	1	k	0	dodatni	nieznany	37	75	165	136	120	NIE	0	1	1	1	zamknięcie bazy danych	18
186	zmarły	1	k	0	ujemny	ujemny	17	60	160	122	686	NIE	0	2	1	1	zamknięcie bazy danych	12
187	zmarły	1	k	0	dodatni	nieznany	7	27	122	84	1115	NIE	0	2	2	1	zamknięcie bazy danych	12
188	zmarły	1	m	A	dodatni	nieznany	3	25	116	160	1480	NIE	0	1	0	0	zamknięcie bazy danych	18
190	zmarły	1	m	A	dodatni	nieznany	13	55	175	56	850	NIE	0	2	2	0	zamknięcie bazy danych	18
191	zmarły	1	k	AB	dodatni	dodatni	49	55	158	102	590	NIE	0	0	2	1	zamknięcie bazy danych	18

NUMER ID	Rodzaj dawcy	Kolejna transplantacja	Płeć dawcy	Grupa krwi dawcy	Status CMV dawcy	Status EBV dawcy	Wiek dawcy (lata)	Masa ciała dawcy (kg)	Wzrost dawcy (cm)	eGFR dawcy (ml/min/1,73m ²)	CIT (min)	DGF	Czas trwania DGF (dni)	niezgodność HLA-A	niezgodność HLA-B	niezgodność HLA-DR	Powód zakończenie obserwacji	Czas zakończenia obserwacji (miesiące po transplantacji)
192	zmarły	1	m	A	dodatni	ujemny	7	27	137	145	1092	NIE	0	2	1	1	zamknięcie bazy danych	12
193	zmarły	1	k	A	dodatni	dodatni	10	41	149	80	1069	NIE	0	1	2	1	zamknięcie bazy danych	12
194	żywy	1	m	0	dodatni	nieznany	47	61	160	106	163	NIE	0	0	0	1	zamknięcie bazy danych	12
195	zmarły	1	k	A	dodatni	dodatni	10	41	149	80	1374	NIE	0	1	2	1	zamknięcie bazy danych	12
196	zmarły	1	m	A	dodatni	nieznany	13	55	175	56	770	NIE	0	1	2	1	przekazanie do innego ośrodka	12
197	zmarły	1	m	A	dodatni	ujemny	17	27	137	145	1382	NIE	0	0	2	1	odstawienie TAC	4
198	zmarły	1	k	B	dodatni	nieznany	11	50	164	34	750	NIE	0	1	1	2	zamknięcie bazy danych	12
200	zmarły	1	m	A	ujemny	nieznany	8	30	130	54	1607	NIE	0	2	0	0	zamknięcie bazy danych	12

WYNIKI

I. Charakterystyka opisowa biorców.

Wyniki analizy wieku, masy ciała, grup krwi i lekarza prowadzącego w podziale na płeć przedstawiono w Tabeli III.

Tabela III. Charakterystyka biorców, w podziale na płeć.

Wiek (lata)							
		min	Q1	Mediana	Q3	max	
Chłopcy	56	2.1	6.7	11.5	15.0	17.1	
Dziewczęta	38	2.1	8.9	11.1	14.4	17.0	
Razem	94	2.1	7.2	11.2	14.9	17.1	
Masa ciała (kg)							
		min	Q1	Mediana	Q3	max	
Chłopcy	56	9.0	18.4	28.8	47.0	91.0	
Dziewczęta	38	8.0	19.6	30.2	41.4	63.7	
Razem	94	8.0	19.1	29.9	45.1	91.0	
Grupa krwi							
Płeć		A	B	AB	0	Suma	Test ¹
Chłopcy	n	21	15	2	18	56	$\chi^2_{ss=3} = 0.44$ $p = 0.9515$
	%	37.5	26.8	3.6	32.1	100	
Dziewczęta	n	16	9	2	11	38	
	%	42.1	23.7	5.3	28.9	100	
Razem	n	37	24	4	29	94	
	%	39.4	25.5	4.3	30.9	100	
Lekarz prowadzący							
Płeć		1	2	3	4	Suma	Test ²
Chłopcy	n	22	13	18	3	56	$\chi^2_{ss=3} = 1.16$ $p = 0.7476$
	%	39.3	23.2	32.1	5.4	100	
Dziewczęta	n	16	8	10	4	38	
	%	42.1	21.1	26.3	10.5	100	
Razem	n	38	21	28	7	94	
	%	40.4	22.3	29.8	7.4	100	

¹ – test chi-kwadrat równości rozkładów grup krwi w obrębie płci (p-wartość estymowana metodą Monte Carlo);

² – test chi-kwadrat niezależności lekarza prowadzącego od płci pacjenta (p-wartość estymowana metodą Monte Carlo).

Sn – miara zróżnicowania obserwacji w próbie. Przeciętna (bezwzględna) różnica pomiędzy dwoma losowo wybranymi osobami.

W ocenianej grupie biorców przeważali chłopcy (ok. 60%), mediana wieku chłopców i dziewczynek wynosiła ok. 11 lat, a masy ciała ok. 30 kg. Najczęściej występowała grupa krwi A (ok. 39%), najrzadziej grupa AB (ok 4%). Dokładne dane zamieszczono w Tabeli III.

Wyniki analizy przyczyn schyłkowej niewydolności nerek przedstawia Tabela IV.

Tabela IV. Choroba podstawowa w podziale na płeć biorców.

Choroba podstawowa	Chłopcy		Dziewczęta		Razem	
	n	%	n	%	N	%
Wada układu moczowego	24	42.9	6	15.8	30	31.9
Dysplazja/Hypoplazja	8	14.3	8	21.1	16	17
Kłębuszkowe zapalenie nerek	8	14.3	5	13.2	13	13.8
Choroba nieustalona	7	12.5	6	15.8	13	13.8
Nefronoptyza	1	1.8	8	21.1	9	9.6
Torbielowatość nerek	4	7.1	2	5.3	6	6.4
inne	2	3.6	2	5.3	4	4.3
Zespół hemolityczno - mocznicowy	2	3.6	1	2.6	3	3.2
Suma	56	100%	38	100%	94	100%

Dominującą podstawową chorobą nerek były wrodzone wady układu moczowego i budowy nerek (CACUT), które u chłopców stanowiły ok 57 % przyczyn, a u dziewczynek ok 37%.

Zmienne związane z leczeniem choroby nerek przed transplantacją i jej rozpoznaniem ukazują Tabela V.

Tabela V. Zmienne związane z rozpoznaniem choroby i jej leczeniem.

Rodzaj dializy	Otrzewnowa		Hemodializa		Bez dializ	
	n	%	n	%	n	%
Chłopcy	25	44.6	18	32.1	13	23.2
Dziewczęta	24	63.2	8	21.1	6	15.8
Razem	49	52.1	26	27.7	19	20.2
Wiek rozpoznania choroby [miesiące]						
	Min	Q1	Mediana	Sn	Q3	Max
Chłopcy	0	0	3.6	4.07	95.4	189.9
Dziewczęta	0	16.3	77.2	59.9	119.2	181.9
Razem	0	0.2	30.8	31.6	109.9	189.9
Czas trwania choroby [lata]						
Chłopcy	0.8	2.5	5.4	4.4	10.4	17.3
Dziewczęta	0.6	2.4	3.9	3.1	6.7	15.5
Razem	0.6	2.4	4.9	3.8	9.1	17.3
Czas leczenia dializami [miesiące]						
Chłopcy	0	0.1	14.8	14.8	28.5	120.7
Dziewczęta	0	9.4	15.5	13.8	28.8	74.1
Razem	0	6.3	14.8	14.8	28.8	120.7
Czas oczekiwania na transplantację [miesiące]						
Chłopcy	0.1	2.3	5.9	4.6	10.4	49.5
Dziewczęta	0.6	2.9	6.1	4.9	10.6	46
Razem	0.1	2.4	6.0	4.8	10.4	49.5

Sn – miara zróżnicowania obserwacji

Dzieci oczekujące na transplantację częściej leczone były dializą otrzewnową (ok. 52%). W 20% przypadków przeszczepienie wyprzedzało rozpoczęcie dializoterapii. Chorobę u chłopców rozpoznawano w młodszym wieku (mediana 3,6 miesiąca), niż u dziewczynek (mediana 6,4 roku). Czas trwania choroby nerek był dłuższy u chłopców (mediana 5,4 roku), niż u dziewczynek (mediana 3,9 roku). Przeciętny czas leczenia dializami (14,8 miesiąca), czas oczekiwania na transplantację (6 miesięcy) i wiek w chwili transplantacji (11,2 roku) był podobny u chłopców i dziewczynek. Analizę wybranych cech klinicznych biorców, takich jak status CMV, status EBV, kolejne przeszczepienie, wartość PRA ostatniego i maksymalnego, pochodzenie narządu (dawca żywy lub zmarły) ukazano w Tabeli VI.

Tabela VI. Statystyki opisowe wybranych cech biorców.

CMV	dodatni	ujemny	Suma	Test¹
Chłopcy	28	28	56	$\chi^2_{ss=1} = 0.06$
Dziewczynki	20	18	38	
Razem	48	46	94	
<i>Razem %</i>	<i>51.1</i>	<i>48.9</i>	<i>100%</i>	
EBV	dodatni	ujemny	Suma	Test¹
Chłopcy	26	30	56	$\chi^2_{ss=1} = 2.52$ $p = 0.1124$
Dziewczynki	24	14	38	
Razem	50	44	94	
<i>Razem %</i>	<i>53.2</i>	<i>46.8</i>	<i>100%</i>	
Przeszczepienie	pierwsze	drugie	Suma	Test¹
Chłopcy	54	2	56	$\chi^2_{ss=1} = 0.0647$ $p = 0.7992$
Dziewczynki	37	1	38	
Razem	91	3	94	
<i>Razem %</i>	<i>96.8</i>	<i>3.2</i>	<i>100%</i>	
PRA ostatnie	PRA=0	PRA>0	Suma	Średnie; Max
Chłopcy	53	3	56	6.7; 17
Dziewczynki	36	2	38	7.7; 20
Razem	89	5	94	
<i>Razem %</i>	<i>94.7</i>	<i>5.3</i>	<i>100%</i>	
PRA max	PRA=0	PRA>0	Suma	Średnie; Max
Chłopcy	38	18	56	9.2; 70
Dziewczynki	27	11	38	5.6; 23
Razem	65	29	94	
<i>Razem %</i>	<i>69.1</i>	<i>30.9</i>	<i>100%</i>	
Dawca	Zmarły	Żywy	Razem	Test¹
Chłopcy	45	11	56	$\chi^2_{ss=1} = 3.89$ $p = 0.0486$
Dziewczynki	36	2	38	
Razem	81	13	94	
<i>Razem %</i>	<i>86.2</i>	<i>13.8</i>	<i>100%</i>	

¹Test niezależności chi-kwadrat dla tabel czteropolowych metodą *N-1*

U około połowy pacjentów (niezależnie od płci) stwierdzono obecność przeciwciał przeciwko wirusowi CMV i EBV. Prawie u wszystkich pacjentów (ok. 97%) przeszczepienie nerki wykonywano po raz pierwszy, u 3 pacjentów była to druga transplantacja. Stopień uczulenia mierzony odsetkiem PRA był niski, bowiem wartość aktualnego PRA wynosiła 0% u ok. 95%, a maksymalnego = 0% u ok 70%. W grupie chłopców udział przeszczepień od dawcy żywego (24%) był większy, niż u dziewczynek (5,5%).

Analizę liczebności rozkładów par biorca- dawca pod względem niezgodnych alleli w układzie HLA ukazano w Tabeli VII.

Tabela VII. Rozkład liczebności w układach HLA A, B i DR.

		HLA-B						
%	Suma	HLA-A	0	1	2	HLA-DR	Suma	%
16	15	0	0	1	1	0	17	18.1
50	47	1	2	5	2			
34	32	2	1	3	2			
$\chi^2_{ss=3} = 4.33^*$ $p = 0.2279$		0	1	4	3	1	51	54.3
		1	3	12	12			
		2	0	6	10			
		0	1	1	3	2	26	27.7
		1	2	5	4			
		2	0	3	7			
100%	94	Suma	10	40	44		94	100%
		%	10.6	42.6	46.8		100%	
Ogólna niezgodność (suma niezgodności)								
	0	1	2	3	4	5	6	Suma
N	0	4	15	23	28	17	7	94
%	0	4.3	16	24.5	29.8	18.1	7.4	100%

* Test niezależności liczby niezgodności w trzech układach HLA

W analizowanej grupie pacjentów u ponad połowy stwierdzono niezgodność 3 (24,5%) i 4 (29,8%) antygenów układu HLA A,B i DR (29,8%). U żadnego pacjenta nie było pełnej zgodności 6 antygenów, a u 7 pacjentów (7,4%) nie było ani jednego zgodnego antygeny HLA. Liczebność niezgodności w poszczególnych układach HLA A, B i DR widoczna jest w tabeli. Wynik analizy opisowej czasu zimnego niedokrwienia narządu (CIT) i pośrednich wskaźników wczesnego powodzenia transplantacji, takich jak wystąpienie i czas trwania opóźnienia czynności przeszczepu (DGF) przedstawiono w Tabeli VIII.

Tabela VIII. Statystyki opisowe cech związanych z procedurą transplantacji.

Czas zimnego niedokrwienia [min]						
Grupa	Min	Q1	Mediana	Sn	Q3	Max
Chłopcy	74	549.5	852.5	382.5	1070	1715
Dziewczynki	120	692.5	902.5	382	1184	2093
Razem	74	625.2	876.5	368.5	1122	2093
Czas hospitalizacji po przeszczepieniu [dni]						
Chłopcy	10	15	17.5	5	22.2	66
Dziewczynki	13	15	17.5	4.5	21	77
Razem	10	15	17.5	4	22	77
DGF – opóźnienie czynności przeszczepu						
DGF wystąpiło	TAK	%	NIE	%	Suma	Średnia ¹ ; Max ¹
Chłopcy	7	12.5	49	87.5	56	6.5; 29
Dziewczynki	4	10.5	34	89.5	38	0.3; 2
Razem	11	11.7	83	88.3	94	2.5;29

¹ – Średni i maksymalny czas trwania DGF w razie jego wystąpienia (DGF=TAK)

Sn – miara zróżnicowania obserwacji.

II. Charakterystyka opisowa dawców.

Podstawowe cechy charakterystyki dawców, takie jak wiek, wzrost, masa ciała i szacowany wskaźnik filtracji kłębuszkowej w momencie pobrania nerki (eGFR) ukazano w Tabeli IX.

Tabela IX. Statystyki opisowe podstawowych cech dawców, w podziale na płeć.

Dawca	Wiek w dniu pobrania [lata]					
	Min	Q1	Mediana	Sn	Q3	Max
Płci męskiej	3	9.75	13	5	17	60
Płci żeńskiej	4	10	15	9	33	49
Razem	3	10	14	6.5	17.8	60
Wzrost [cm]						
Płci męskiej	116	140	161	21	175	190
Płci żeńskiej	108	149	160	10	167.8	180
Razem	108	140	160	18	170	190
Masa ciała [kg]						
Płci męskiej	20	35	49	23	70	100
Płci żeńskiej	15	40	50	14.5	60	80
Razem	15	35	50	17.5	65	100
Wskaźnik filtracji kłębuszkowej - eGFR - (ml/min/1,73m²)						
Płci męskiej	32.93	64.19	89.37	35.21	132.9	224.6
Płci żeńskiej	33.7	79.92	93.66	31.51	122	199.1
Razem	32.93	75.7	91.85	32.38	124.8	224.6

Sn – miara zróżnicowania obserwacji.

Przeciętny wiek dawcy wynosił 14 lat. Najstarszy dawca miał 60 lat (był to dawca żywy), najmłodszy 3 lata. Zwraca uwagę duże zróżnicowanie masy ciała dawców, szczególnie wśród dawców płci męskiej (Sn), największa masa ciała dawcy mężczyzny wynosiła 100 kg, a najmniejsza masa ciała dawcy chłopca 20 kg. Przeciętna szacowana wartość filtracji kłębuszkowej (eGFR) w grupach dawców obu płci była bardzo podobna i wynosiła ok 92 ml/min/1,73m². Analizę rozkładu grup krwi oraz statusu serologicznego dawców w odniesieniu do zakażenia wirusem CMV i EBV przedstawiono w Tabeli X.

Tabela X. Rozkłady wybranych cech dawców w podziale na ich płeć.

Dawca	Grupa krwi					Test ¹
	A	B	AB	0	Suma	
Płci męskiej	21	10	1	20	52	$\chi^2_{SS=3} = 2.12$ $p = 0.5627$
Płci żeńskiej	16	10	3	13	42	
Razem	37	20	4	33	94	
%	39.4	21.3	4.3	35.1	100%	
CMV						
Dawca	Dodatni	%	Ujemny	%	Suma	Test ²
Płci męskiej	39	75	13	25	52	$\chi^2_{SS=1} = 0.95$ $p = 0.3297$
Płci żeńskiej	35	83.3	7	16.7	42	
Razem	74	78.7	20	21.3	94	
EBV						
Dawca	Znany	%	Nieznany	%	Suma	Test ²
Płci męskiej	12	23.1	40	76.9	52	$\chi^2_{SS=1} = 2.48$ $p = 0.1153$
Płci żeńskiej	16	38.1	26	61.9	42	
Razem	28	29.8	66	70.2	94	

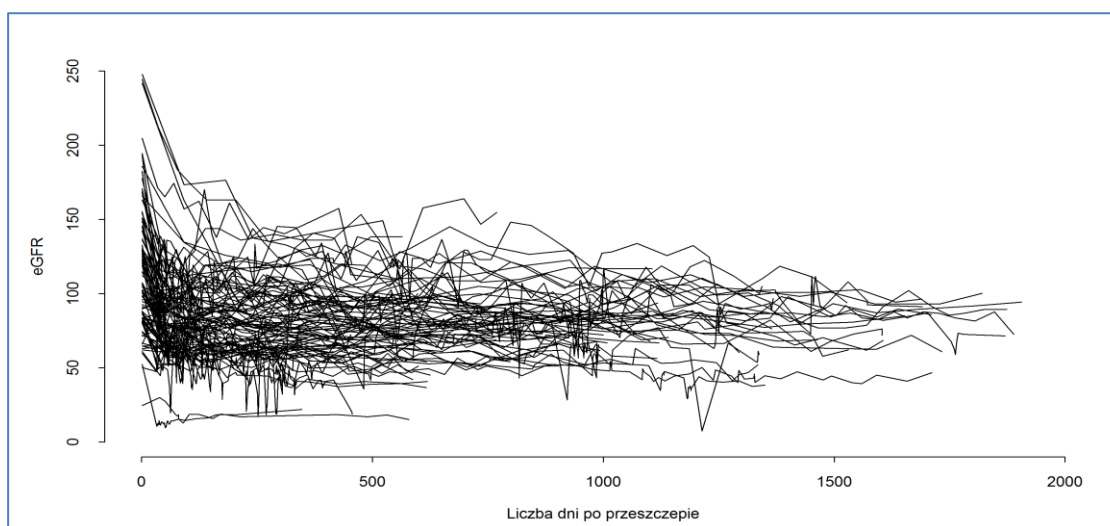
¹ – test chi-kwadrat równości rozkładów grup krwi w grupach płci.

² – test chi-kwadrat niezależności dwóch cech między sobą, dla tabel czteropolowych, metodą *N-1*.

Odsetek grup krwi dawców był identyczny jak biorców (Tabela III) w zakresie grupy krwi A (39,4%) i AB (4,3). Mniej dawców miało grupę krwi B (21,3% w porównaniu z 25,5%), a więcej grupę 0 (35,1% w porównaniu z 30,9%). U większości dawców (78,7%) stwierdzono obecność przeciwciał anty CMV, natomiast większość dawców (66%) w ogóle była nie badana, jeśli chodzi o obecność przeciwciał anty EBV.

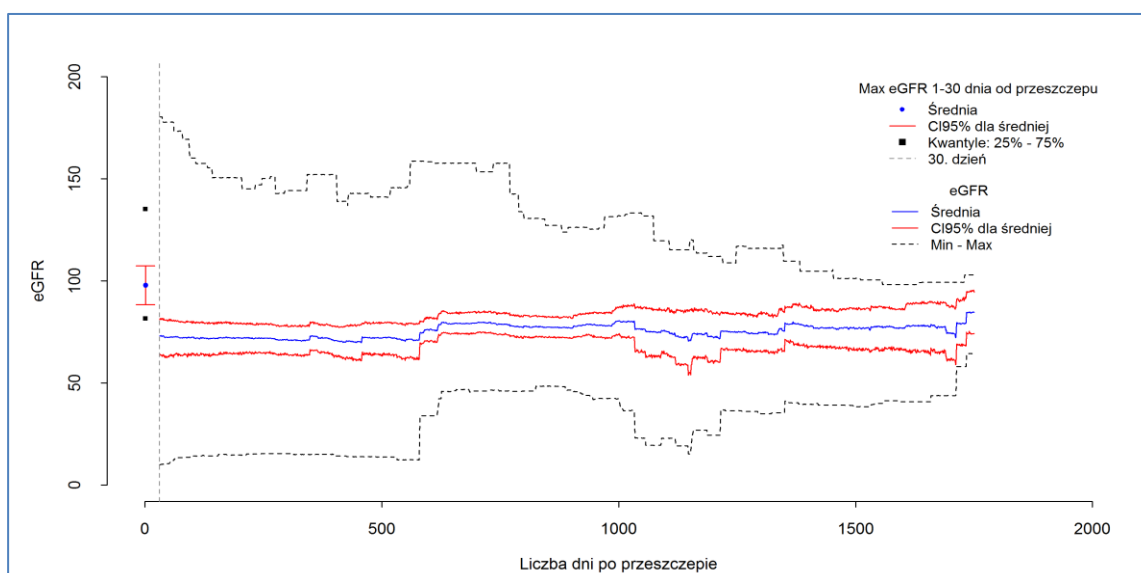
III. Analiza zmian wartości eGFR w czasie po transplantacji nerki.

Zmianę wartości eGFR w czasie po transplantacji nerki u wszystkich pacjentów biorących udział w analizie ukazano na Rycinie 6, gdzie każda krzywa obrazuje wszystkie wartości eGFR odnotowane dla pojedynczego pacjenta.



Rycina 6. Wartości eGFR u 94 biorców zmierzone w kolejnych dniach od przeszczepienia. Każda linia to wartość eGFR jednego biorcy.

Przebieg krzywej każdego pacjenta był inny. Różniły go zarówno zmiany kierunku (wzrost lub spadek wartości), jak i nachylenie (szybsza lub wolniejsza zmiana). Zmianę średnich wartości eGFR w czasie, ukazano na Rycinie 7. Każdy punkt obrazuje średnią wartość eGFR dla wszystkich biorców, którzy w danym okresie mieli odnotowany przynajmniej jeden pomiar. Jeśli dawca miał kilka pomiarów podawano wartość średnią.



Rycina 7. Średnia ruchoma wartości eGFR w oknach 180 dniowych, licząc od 31 dnia od przeszczepienia (niebieska), przedziały ufności dla tej średniej (czerwone) oraz maksymalna i minimalna wartość eGFR w danym oknie, w grupie 94 biorców. Naniesiono także średnią wartość maksymalnego eGFR uzyskanego w okresie 1-30 dni po przeszczepieniu i kwantyle tej zmiennej.

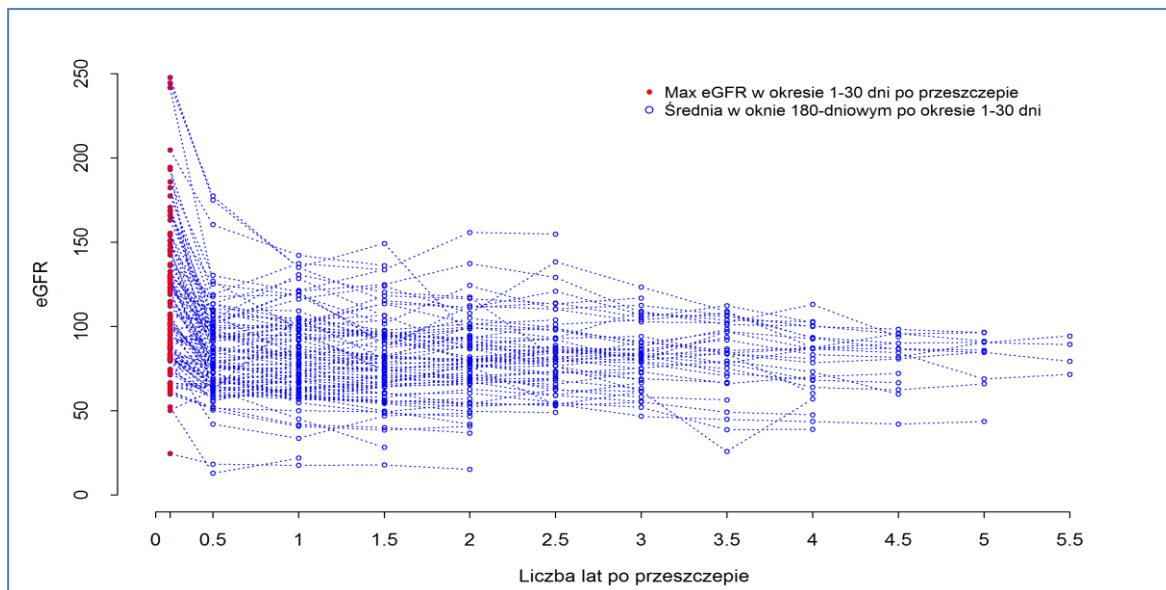
Analiza wykazała, że średnia w całej grupie wartość eGFR obrazowana niebieską krzywą była stabilna w czasie, z tendencją do wzrostu w odległych dniach od przeszczepienia, a wahania wartości eGFR w całej populacji malały z czasem. Od 30 dnia po zabiegu, średnia wartość eGFR wynosiła 75,7 ml/min/1,73m². Średnia maksymalna wartość eGFR zanotowana w okresie pierwszych 30 dni po przeszczepieniu (okresie adaptacyjnym) wynosiła 97,9 ml/min/1,73m².

Tabela XI. Średnie wartości wskaźnika filtracji kłębuszkowej (eGFR) w 12 niezachodzących na siebie oknach czasowych obserwacji biorcy, liczonych w dniach od przeszczepienia. Podano wartości średnie, błędy oszacowanie tych średnich w postaci 95%-owych przedziałów ufności dla średniej, oszacowane maksymalne i minimalne wartości eGFR i różnicę między nimi, czyli rozstęp wartości eGFR. Podano także obliczone na podstawie poprzednich statystyk dynamiki zmian średniego eGFR i zmian rozstępu tej zmiennej.

Okna 180-dniowe (niezachodzące)			Średni eGFR	CI95% dla średniej		Min eGFR	Max eGFR	Rozstęp Max-Min	Dynamika średniego eGFR			Dynamika Rozstępu	
k	start	stop		2.5%	97.5%				k0 = 100%	k1 =100%	k/(k-1)	k1 =100%	k/(k-1)
0	1 dzień	30	97.68	88.43	107.29	21.84	250.57	228.74	100%	-	-	-	-
1	30 ¹	210	72.76	63.15	82.09	10.13	180.28	170.15	74.5	100%	-	100%	-
2	210	390	71.90	64.47	80.05	14.80	145.01	130.21	73.6	98.8	98.8%	76.5	76.5%
3	390	570	71.34	63.75	79.20	15.10	152.04	136.95	73.0	98.1	99.2	80.5	105.2
4	570	750	70.67	61.59	79.50	12.49	158.66	146.18	72.4	97.1	99.1	85.9	106.7
5	750	930	78.83	72.75	85.21	46.23	157.61	111.38	80.7	108.4	111.5	65.5	76.2
6	930	1110	78.36	72.21	84.30	43.98	126.25	82.27	80.2	107.7	99.4	48.4	73.9
7	1110	1290	74.03	62.95	86.30	23.01	115.14	92.13	75.8	101.8	94.5	54.1	112.0
8	1290	1470	73.98	64.36	84.00	36.16	115.94	79.78	75.7	101.7	99.9	46.9	86.6
9	1470	1650	76.70	66.64	87.26	39.37	101.22	61.85	78.5	105.4	103.7	36.3	77.5
10	1650	1830	77.81	65.01	90.30	40.91	99.31	58.41	79.7	106.9	101.4	34.3	94.4
11	1830	2010	82.66	72.56	94.25	68.90	97.08	28.18	84.6%	113.6%	106.2%	16.6%	48.2%

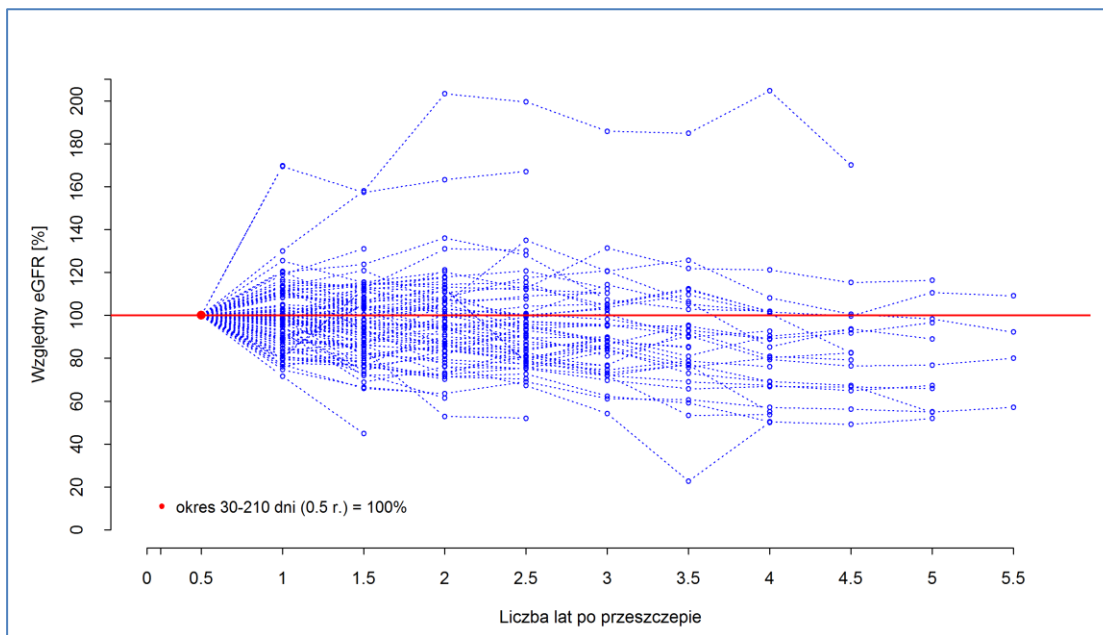
¹ – przedziały domknięte prawostronnie.

Na Rycinie 8 pokazano średnie wartości eGFR dla każdego biorcy w omawianych 180-dniowych oknach czasowych. Każdy punkt na wykresie to średnia biorcy z pomiarów jego eGFR w danym oknie.



Rycina 8. Średnia wartość eGFR dla każdego biorcy w czasie obserwacji oraz maksymalny poziom eGFR uzyskany w pierwszych 30 dniach po przeszczepieniu.

Analiza zmian względnych wartości eGFR (w odniesieniu do okresu bazowego 30-210 dni po przeszczepieniu) (Rycina 9) wykazała, że w przeciwieństwie do wartości bezwzględnych (Rycina 8) z czasem dochodziło do ich obniżenia. Analiza regresji bezwzględnych wartości eGFR w kolejnych 180 dniowych oknach czasowych, w której zmienną objaśnianą była średnia wartość eGFR w danym oknie (K2-K5), a zmienną objaśniającą średnia wartość eGFR w oknie K1, tj. w okresie od 30 do 210 dnia po przeszczepieniu wykazała, że wielkość eGFR u biorców z niskim wyjściowym eGFR z czasem rosła, a u pacjentów z wysokim obniżała się. Wyniki tej analizy pokazano w Tabeli XII.



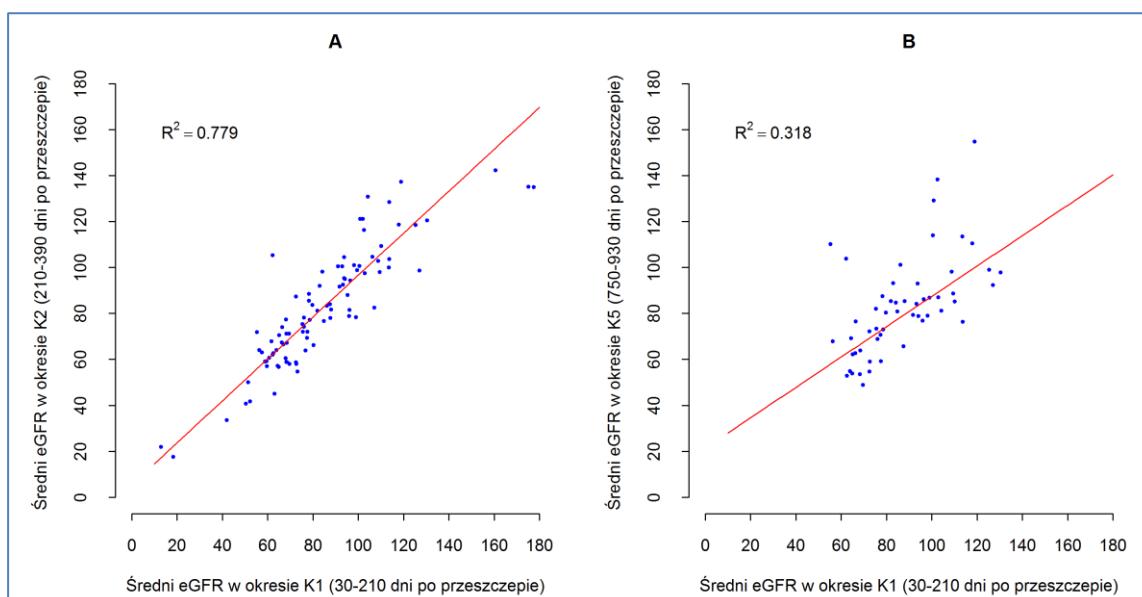
Rycina 9. Względne wartości eGFR w czasie w odniesieniu do średniej wielkości eGFR w pierwszych 180 dniach. Każda krzywa to pomiary dla jednego biorcy.

Tabela XII. Statystyki modeli regresji liniowej średnich wielkości eGFR w kolejnych 180 dniowych niezachodzących oknach czasowych po przeszczepieniu (y) względem średniej wartości eGFR w oknie K1, tj. w okresie 30-210 dni po transplantacji (x). Współczynniki modeli wyznaczono estymatorem odpornym Thiela-Sena. Przedziały ufności CI95% na poziomie ufności $1 - \alpha = 0.95$ wyznaczono metodą *bootstrap*. Model regresji jest postaci $y = \text{nachylenie} \cdot x + \text{wyraz wolny}$.

Dni po operacji (od, do]			Parametry modelu	Nachylenie		Wyraz wolny		Liczebność Próby*	R ²
K2	210	390	współczynnik	0.9129		5.3813		93	0.779
			CI95% [2.5%; 97.5%]	0.8254	0.9975	-1.9295	12.8911		
K3	390	570	współczynnik	0.8172		12.0126		86	0.656
			CI95% [2.5%; 97.5%]	0.7001	0.9327	1.6151	22.6434		
K4	570	750	współczynnik	0.7398		16.8181		70	0.443
			CI95% [2.5%; 97.5%]	0.5930	0.8829	3.7806	30.0651		
K5	750	930	współczynnik	0.6609		21.3600		54	0.318
			CI95% [2.5%; 97.5%]	0.4728	0.8486	4.5826	38.2229		

* – Ze względu na małe liczebności biorców dla których posiadano pomiary eGFR w dalekich oknach czasowych analizę regresji wykonano do okna K5 włącznie.

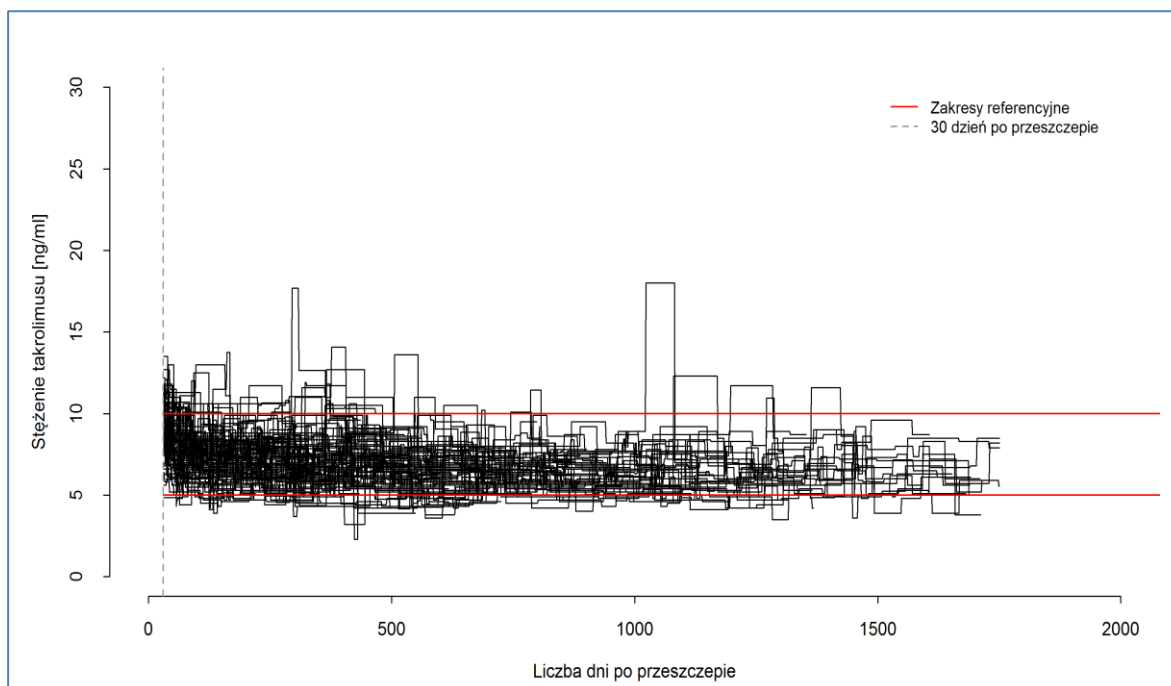
Wykazano, że wzrost wartości eGFR u pacjentów z początkowo niskimi wielkościami wyjściowymi był relatywnie wyższy, niż spadek eGFR u pacjentów z jego początkowo wysokimi wartościami. Wyjaśnia to obserwowaną stabilność, a nawet niewielki wzrost średniej wielkości eGFR i spadek jego zróżnicowania (wahań) w czasie. Wykazano liniową zależność między wartościami eGFR w kolejnych latach, a jego wielkością w pierwszym półroczu po przeszczepieniu, ale udział składnika losowego (innego niż wyjściowy eGFR) stopniowo spadał (R² 0,779 dla okresu 210-390 dni i R² 0,318 dla okresu 750-930 dni) (Rycina 10).



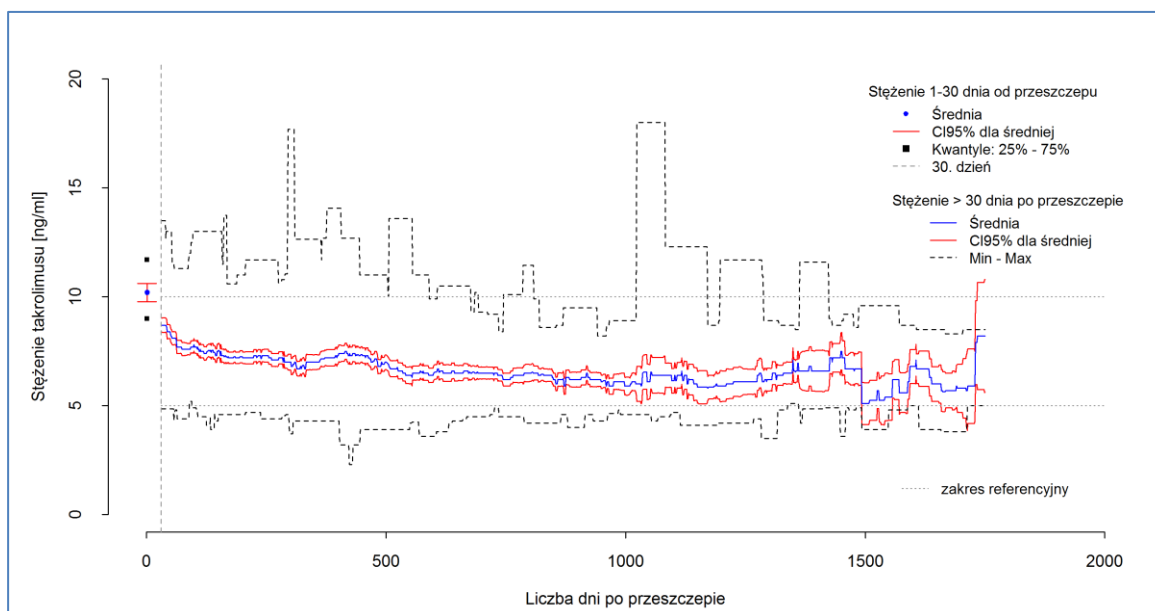
Rycina 10. Zależność pomiędzy średnimi wartościami eGFR w okresie 30 – 210 dni po przeszczepieniu (oś X) a średnimi wartościami eGFR w okresie **A**: 210 – 390 dni po przeszczepieniu i **B**: w okresie 750 – 930 dni po przeszczepieniu (osie Y). Każdy punkt na wykresie to jeden biorca. Proste regresji liniowych opisane są w Tabeli XII.

IV. Analiza zmian stężenia C_0 TAC we krwi biorców po przeszczepieniu.

Skuteczność w zakresie utrzymywania stężenia TAC u poszczególnych pacjentów w czasie obserwacji obrazuje Rycina 11, na której każda krzywa opisuje przeciętne stężenia u pojedynczego pacjenta. Na Rycinie 12 przedstawiono wartości przeciętne (pseudo-medianę) stężenia C_0 TAC w całej analizowanej próbie 94 pacjentów.



Rycina 11. Wartości średnie C_0 TAC wygładzone metodą *średniej ruchomej* w oknach 180-dniowych. Wartością średnią jest tu wartość estymatora Hodgesa–Lehmanna zwana pseudo-mediana. Poza pojedynczymi przypadkami, stężenie utrzymuje się w zakresie stężeń referencyjnych. Szczególnie zwracają uwagę niewielkie odchylenia stężeń poniżej dolnej wartości 5 ng/ml.



Rycina 12. Przeciętna wartość C_0 TAC w próbie 94 biorców wygładzona metodą *średniej ruchomej* z oknem 180-dniowym.

Średnie stężenie (pseudo-mediana) C_0 TAC w czasie w całej analizowanej próbie, po okresie adaptacyjnym (pierwszym miesiącu od przeszczepienia), w którym to wynosi 10,2 ng/ml,

zawiera się w przedziale referencyjnym 5-10 ng/ml. Stężenie utrzymywane jest w zakresie normy, ale wyraźnie bliżej dolnej granicy. Ten sam wniosek można wyciągnąć w oparciu o przebieg długofalowej średniej wartości stężeń po okresie 1 – 30 dni. Wartości te są poniżej stężenia 7,5 ng/ml (Tabela XIII).

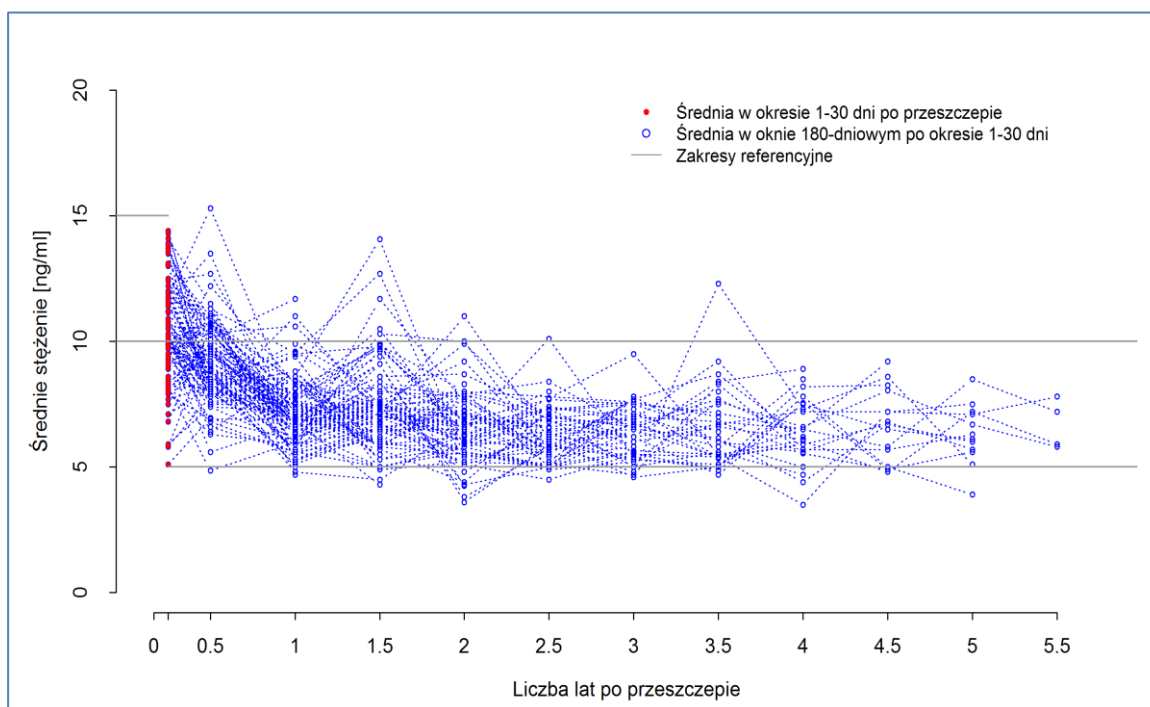
Wyniki analizy średnich wartości stężenia C_0 TAC, błędy oszacowania tych średnich w postaci 95%-owych przedziałów ufności dla średniej, oszacowane maksymalne i minimalne wartości stężeń i różnicę między nimi, czyli rozstęp wartości ukazano w Tabeli XIII.

Tabela XIII. Średnie wartości C_0 TAC w 12 niezachodzących na siebie oknach czasowych obserwacji biorcy, liczonych w dniach od przeszczepienia. Podano także obliczone na podstawie poprzednich statystyk dynamiki zmian średniego stężenia i zmian rozstępu tej zmiennej.

Okna 180-dniowe (niezachodzące)			Średnie stężenie	CI95%		Min	Max	Rozstęp Max-Min	Dynamika średniego stężenia			Dynamika Rozstępu	
k	start	stop		2.5%	97.5%				k0 = 100%	k1 =100%	k/(k-1)	k1 =100%	k/(k-1)
0	1 dzień	30	10.14*	9.52	10.78	4.65	14.85	10.20	100	-	-	-	-
1	30 ¹	210	8.87	8.15	9.81	4.39	15.76	11.37	87.5	100	-	100	-
2	210	390	7.03	6.43	7.60	4.25	12.16	7.91	69.4	79.3	79.3%	69.6	69.6%
3	390	570	7.17	6.56	7.73	3.84	14.52	10.68	70.7	80.8	101.9%	94.0	135.0%
4	570	750	6.49	5.75	7.16	3.14	11.47	8.33	64.0	73.2	90.5%	73.3	78.0%
5	750	930	6.13	5.43	6.88	4.02	10.57	6.55	60.5	69.1	94.4%	57.6	78.6%
6	930	1110	6.51	5.77	7.18	4.15	9.96	5.81	64.2	73.4	106.2%	51.1	88.8%
7	1110	1290	6.32	5.32	7.30	4.25	12.77	8.53	62.3	71.3	97.1%	75.0	146.7%
8	1290	1470	6.26	5.49	7.09	3.04	9.34	6.30	61.7	70.6	99.0%	55.4	73.9%
9	1470	1650	6.60	5.03	7.95	4.35	9.66	5.31	65.1	74.4	105.4%	46.7	84.3%
10	1650	1830	6.30	5.27	7.50	3.44	8.96	5.52	62.2	71.1	95.5%	48.6	104.0%
11	1830	2010	6.66	5.42	8.12	5.33	8.25	2.92	65.7	75.1	105.6%	25.7	52.9%

*- Wartości średnie jak i CI95% dla nich oszacowane metodą prób bootstrapowych.

Wykazano, że średnia wartość C_0 TAC stabilizuje się po mniej więcej 1,5 roku na poziomie ok. 6,5 ng/ml, a potem utrzymując się stale w przedziale referencyjnym 5-10 ng/ml. Średnie wartości C_0 TAC dla każdego pacjenta indywidualnie pokazano na Rycinie 13. Czerwone punkty na wykresie to średnie stężenia notowane dla biorcy w pierwszym miesiącu po przeszczepieniu.



Rycina 13. Średnia wartość stężenia takrolimusu dla każdego biorcy w 180-dniowych oknach czasowych po przeszczepieniu oraz stężenie uzyskane w pierwszych 30 dniach po przeszczepieniu. Każda niebieska krzywa to jeden biorca.

V. Analiza zależności wskaźnika filtracji kłębuszkowej (eGFR) i stężenia takrolimusu C_0 .

Ze względu na charakter zmiennych, takich jak różna długość czasu ich obserwacji, różna ilość i częstotliwość pomiarów w czasie, analizy dokonano w oparciu o średnie wartości stężeń i eGFR w rozłącznych, 180 dniowych oknach czasowych (K1-K9). Na potrzeby stworzenia modelu i dokonania analizy dokonano podziału odnotowanych stężeń C_0 TAC i wartości eGFR na rozłączne przedziały (opisane literami A-D): dla stężeń takrolimusu utworzono cztery stany, $A: [0, 6]$, $B: (6, 7]$ i $C: (7, 8]$ i $D: (8, \text{Inf}]$ ng/ml, a dla eGFR trzy: $A: [0, 75]$, $B: (75, 95]$, $C: (95, \text{Inf}]$ ml/min/1,73m², co dało 48 możliwych scenariuszy zmian stężenia i eGFR. W Tabeli XIV ukazano licznosc biorców, u których na podstawie zebranych danych choć raz wystąpił scenariusz zdefiniowany przyjętymi stanami stężenia C_0 TAC i eGFR.

Tabela XIV. Liczba biorców, w historii których choć raz wystąpił scenariusz zdefiniowany stanami stężenia TAC C_0 i stanem dla wartości eGFR, w sytuacji braku korelacji pomiędzy średnimi stężeniami TAC w oknach, a średnimi wartościami eGFR.

Takrolimus			eGFR (ml/min/1,73m ²)		
			w oknie K_{start}		
K_{start}	K_{stop}	stan	0-75	75-95	>95
			A	B	C
0-6	0-6	A→A	11	17	19
0-6	6-7	A→B	11	17	14
0-6	7-8	A→C	14	14	13
0-6	>8	A→D	17	17	15
6-7	0-6	B→A	11	16	15
6-7	6-7	B→B	10	16	16
6-7	7-8	B→C	12	13	11
6-7	>8	B→D	15	16	14
7-8	0-6	C→A	15	14	12
7-8	6-7	C→B	12	13	10
7-8	7-8	C→C	16	15	12
7-8	>8	C→D	20	16	10
>8	0-6	D→A	17	16	13
>8	6-7	D→B	14	16	13
>8	7-8	D→C	19	15	9
>8	>8	D→D	15	16	11

Analizowaną zmienną była zmiana wartości (Δ) eGFR między oknami K_{start} i K_{stop} jeżeli średnie wartości stężeń takrolimusu klasyfikowane były w stanach S_{start}^T i S_{stop}^T , a średnia wartość eGFR w oknie K_{start} klasyfikowała się w stanie S_{start}^{eGFR} . Średnie stężenie TAC C_0

powiązano ze średnimi wartościami eGFR jako *warunkową różnicę* (dodatnią lub ujemną) pomiędzy oknami w *zależności* od tego, jakie stężenie takrolimusu u danego pacjenta występowało w oknie K_{start} a jakie w oknie K_{stop} (opisane stanami) oraz jaka średnia wartość eGFR występowała w oknie K_{start} . Założono, że reakcja eGFR na zmianę stężenia leku mogła być inna gdy rosło ono z niskiego do wysokiego, niż gdy rosło z wysokiego do jeszcze wyższego. Podobnie, uwzględniając wyniki analizy zmian eGFR założono, że zmiana eGFR w reakcji na zmianę stężenia takrolimusu może zależeć od tego, jaka była jego wyjściowa wartość.

W Tabeli XV zamieszczono wyniki oszacowań wszystkich Δ , tj. średnich różnic poziomów eGFR pomiędzy oknami K_{start} i K_{stop} we wszystkich 48 możliwych scenariuszach, w sytuacji braku korelacji pomiędzy średnimi C_0 TAC w oknach (tj. półroczach) a średnimi wartościami eGFR w obrębie biocy. Wartość Δ (zacięta część tabeli) oznaczała reakcję eGFR na zmianę stężenia leku, w zależności od tego z jakiego poziomu do jakiego innego to stężenie się zmieniało w czasie oraz jaka była wartość eGFR przed jej zmianą. **Ciemno czerwone** globalne średnie brzegowe w tabeli pokazują całkowity efekt główny dla eGFR przy pominięciu efektów pochodzących od stężenia leku. Sama wartość eGFR zmienia się w czasie (obniża się) bez względu na to, jakie efekty wnosi stężenie takrolimusu. **Średnie brzegowe** zaznaczonych **na niebiesko** po lewej stronie tabeli pokazują efekty leku z pominięciem poziomów eGFR. Łącząc dwa opisane wyżej efekty, tj. związek eGFR z czasem oraz zależność C_0 TAC z eGFR stwierdzono, że pomiędzy średnimi stężeniami leku, a średnimi wartościami eGFR występuje taka zależność niekorelacyjna, że im większe jest C_0 TAC, tym mniejszy jest spadek eGFR w czasie. U tych biorców, u których udaje się utrzymać stężenia na poziomie powyżej 6 ng/ml spadek wartości eGFR jest zredukowany.

Tabela XV. Średnie wartości zmian (Δ) eGFR między dwoma oknami K_{start} i K_{stop} , w zależności od trzech zmiennych: **1.**) stężenia C_0 TAC w oknie K_{start} , opisanego jednym z czterech stanów $s_{start}^T = A, B, C, D$; **2.**) stężenia C_0 TAC w oknie K_{stop} , opisanego jednym z czterech stanów $s_{stop}^T = A, B, C, D$; **3.**) wartości eGFR w oknie K_{start} , opisanego jednym z trzech stanów $s_{start}^{eGFR} = A, B, i$. Zmiana eGFR między oknami to różnica $\Delta = \overline{eGFR}_{K_{stop}} - \overline{eGFR}_{K_{start}}$. Tabela zawiera wszystkie z 48 możliwych kombinacji (scenariuszy) w sytuacji **braku korelacji** pomiędzy średnimi stężeniami takrolimusu w oknach (półroczach) a średnimi wartościami eGFR w tych oknach. Wszystkie 48 wartości Δ w tabeli zacięto. Wartości podpisane *Średnia*, to średnie brzegowe dla wierszy

i kolumn. Opisują one efekty główne trzech zmiennych. Wartości zacieniowane to średnie warunkowe, opisujące efekty interakcyjne między zmiennymi. Okna K_{start} i K_{stop} mogą, ale nie muszą być sąsiadujące ze sobą. Są wybierane losowo ze zbioru dostępnych okien, z tym że K_{stop} zawsze jest oknem późniejszym niż K_{start} . Kolorami zaznaczono średnie brzegowe dla różnych efektów głównych w celu łatwiejszego odnoszenia się do nich w tekście.

Takrolimus			eGFR			Średnia
$s_{start}^T = A$	$s_{stop}^T = A$	Stan	A	B	C	
-5.19	-5.09	A→A	0.23	-2.88	-13.02	-6.25
		A→B	-2.53	-1.27	-10.97	-4.83
		A→C	-1.95	-3.36	-11.43	-5.44
		A→D	0.43	-2.52	-11.54	-4.26
$s_{start}^T = B$	$s_{stop}^T = B$	Średnia	-0.86	-2.47	-11.85	-5.19
-4.60	-4.26	B→A	-2.68	-1.08	-11.47	-5.21
		B→B	-1.60	-1.81	-13.21	-6.10
		B→C	-3.78	-1.89	-9.64	-4.89
		B→D	-0.69	-0.97	-5.90	-2.41
$s_{start}^T = C$	$s_{stop}^T = C$	Średnia	-2.11	-1.42	-10.21	-4.60
-3.89	-4.40	C→A	-1.25	-2.54	-12.36	-4.94
		C→B	-3.51	-0.93	-8.01	-3.84
		C→C	-0.89	-2.45	-11.00	-4.25
		C→D	-1.15	-2.24	-6.38	-2.67
$s_{start}^T = D$	$s_{stop}^T = D$	Średnia	-1.56	-2.07	-9.64	-3.89
-2.78	-2.82	D→A	0.20	-2.66	-10.92	-3.94
		D→B	-1.03	-0.89	-5.17	-2.23
		D→C	-1.80	-2.85	-6.40	-3.13
		D→D	0.88	-1.69	-5.35	-1.73
		Średnia	-0.50	-2.01	-7.08	-2.78
Średnia globalna dla s_{start}^{eGFR}			-1.21	-2.00	-9.88	-4.12

Dalsza analiza, wykazała, że nie można jeszcze bardziej uprościć stworzonego modelu zależności. Zależność ta nie jest korelacyjna. Na poziomie pojedynczego biorcy nie ma korelacji pomiędzy stężeniem leku a eGFR. Pewni biorcy mają stale niższą wartość (średnio)

C₀ TAC, a inni biorcy stale wyższą (średnio) niż inni, a to się przekłada na obserwowane wartości eGFR u tych biorców.

Wyniki obliczeń ukazane w Tabeli XVI wskazują na to, że stwierdzona zależność jest dodatnia i polega na tym, że występowanie niskich stężeń TAC wiąże się z niższymi wartościami eGFR, a występowanie stężeń wyższych wiąże się z wyższymi wartościami eGFR. Dodatkowo, zależność ta występuje tylko w przypadku wysokich wartości eGFR w oknie K_{start} , tj. takich, które są w stanie C, czyli powyżej 95 ml/min/1,73m². Ilościowy opis tej zależności ukazano także w Tabeli XVII.

Tabela XVI. Średnie wartości zmian (Δ) eGFR między dwoma oknami K_{start} i K_{stop} , w zależności od trzech zmiennych: **1.)** stężenia C₀ TAC w oknie K_{start} , opisanego jednym z czterech stanów $s_{start}^T = A, B, C, D$; **2.)** stężenia C₀ TAC w oknie K_{stop} , opisanego jednym z czterech stanów $s_{stop}^T = A, B, C, D$; **3.)** wartości eGFR w oknie K_{start} , opisanego jednym z trzech stanów $s_{start}^{eGFR} = A, B$ i C . Zmiana eGFR między oknami to różnica $\Delta = \overline{eGFR}_{K_{stop}} - \overline{eGFR}_{K_{start}}$. Tabela zawiera wszystkie z 10 możliwych kombinacji (scenariuszy) w sytuacji **braku korelacji** pomiędzy średnimi C₀ TAC w oknach (półroczech) a średnimi wartościami eGFR w tych oknach. Symbol | oznacza wyrażenie LUB.

takrolimus	eGFR w oknie K_{start} (ml/min/1,73m ²)		
	A	B	C
A→A	0.23	-2.88	-13.02
A→B B→A	-2.61	-1.17	-11.22
A→C C→A	-1.60	-2.95	-11.89
A→D D→A	0.31	-2.59	-11.23
B→B	-1.60	-1.81	-13.21
B→C C→B	-3.64	-1.41	-8.82
B→D D→B	-0.86	-0.93	-5.54
C→C	-0.89	-2.45	-11.00
C→D D→C	-1.48	-2.54	-6.39
D→D	0.88	-1.69	-5.35

Zmniejszenie spadku wielkości eGFR w czasie, z wartości wysokich (zacienione różnice dla stanu C, czyli $> 95 \text{ ml/min/1,73 m}^2$), wykazuje liniową zależność od stężenia leku. Zależność wielkości eGFR od stężenia C_0 TAC nie występuje przy niższych wartościach eGFR (pierwsze dwa zacienione wiersze w Tabeli XVII). Jeżeli wyjściowa średnia wartość eGFR wynosiła $0-75 \text{ ml/min/1,73m}^2$ (stan A) lub $75-95 \text{ ml/min/1,73m}^2$, to bez względu na to, jakie było średnie C_0 TAC, w okresie obserwacji nie obserwowano dalszego spadku średniej wartości eGFR. Jeśli w dwóch wybranych półroczach stężenie leku w obu było w stanie A, czyli obserwuje się przejście $A \rightarrow A$ ORAZ średnia wartość eGFR w półroczu wcześniejszym była wysoka (stan C $>95 \text{ ml/min/1,73m}^2$), to spadek średniej wielkości eGFR pomiędzy tymi półroczami wynosił aż $-13,02 \text{ ml/min/1,73m}^2$. Wyniki analizy wskazują na to, że wystąpienie w którymkolwiek półroczu średniej wartości C_0 TAC poniżej 6 ng/ml jest znakiem rozpoznawczym biorców, u których nie udaje się zatrzymać postępującego w czasie spadku wielkości eGFR z wartości wysokich. Dalsze obniżenia wielkości eGFR z poziomów niskich są w okresie obserwacji bliskie 0, bez względu na zmiany stężenia leku.

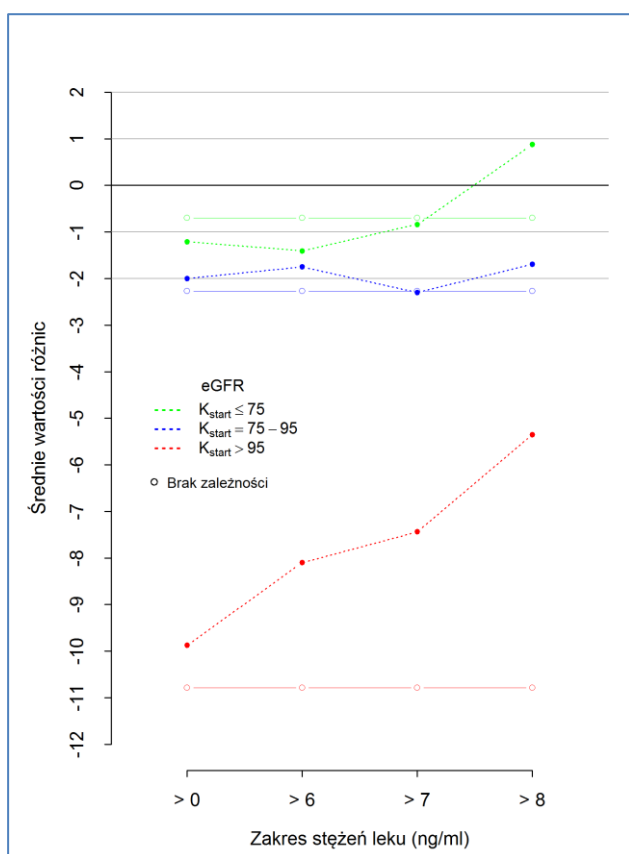
Tabela XVII. Średnie wartości zmian (Δ) wielkości eGFR między dwoma oknami K_{start} i K_{stop} , w zależności od trzech zmiennych: **1.**) stężenia C_0 TAC w oknie K_{start} , opisanego jednym z czterech stanów $s_{start}^T = A, B, C, D$; **2.**) stężenia C_0 TAC w oknie K_{stop} , opisanego jednym z czterech stanów $s_{stop}^T = A, B, C, D$; **3.**) wielkości eGFR w oknie K_{start} , opisaną jednym z trzech stanów $s_{start}^{eGFR} = A, B$ i C . Tabela podaje szacowane różnice (Δ) między dwoma dowolnie wybranymi półroczami w zależności od tego, do jakiego zakresu stężeń należą stężenia obserwowane w dwóch oknach i od wartości eGFR w oknie wcześniejszym. Pokazano zależność różnic w funkcji wzrastającego stężenia leku.

eGFR (ml/min/1,73m ²) w oknie K_{start}	Stany stężenia leku* obserwowane w oknie K_{start} i K_{stop}			
	A B C D	B C D	C D	D
Zakresy	$> 0 \frac{ng}{ml}$	$> 6 \frac{ng}{ml}$	$> 7 \frac{ng}{ml}$	$> 8 \frac{ng}{ml}$
A ≤ 75	-1.21	-1.41	-0.84	0.88
CI95%	-5.38	-5.16	-4.31	-2.54
	2.80	2.01	2.61	3.88
B 75 – 95	-2.00	-1.75	-2.30	-1.69
CI95%	-6.62	-6.25	-7.28	-6.76
	2.65	2.86	2.49	3.69
C > 95	-9.87	-8.10	-7.43	-5.35
CI95%	-18.04	-17.19	-16.18	-13.66
	-1.52	1.04	1.04	1.27

* - symbol | oznacza wyrażenie LUB.

Na Rycinie 14 przedstawiono zmianę średnich wartości eGFR w zależności od średniej wielkości eGFR w półroczu wcześniejszym (K_{start}) i od niższej z dwóch wartości stężenia

C_0 TAC w tych półroczach. Przykładowo, jeśli u danego biorcy w dwóch dowolnych półroczach obserwacji średnie stężenie C_0 TAC będzie niższe niż 6 ng/ml, a średnia wartość eGFR w półroczu wcześniejszym wyniesie > 95 ml/min/1,73m² to szacowana różnica średniej wielkości eGFR pomiędzy tymi dwoma półroczami wyniesie - 9,87 ml/min/1,73m². Jeśli żadne ze stężeń leku u tego samego biorcy nie było niższe (lub równe) 6 ng/ml, to szacowany spadek wartości eGFR wyniesie średnio - 8,10 ml/min/1,73m², a jeśli stężenie leku w obu półroczach będzie > 8 ng/ml, to szacowany spadek wielkości eGFR wyniesie -5,25 ml/min/1,73m².



Rycina 14. Średnie wartości różnic wartości eGFR między dwoma dowolnymi półroczami po przeszczepieniu, w zależności od średniej wartości eGFR w półroczu wcześniejszym (K_{start}) i od niższego z dwóch wielkości stężenia C_0 TAC w tych półroczach. Wykres pokazuje zależność pomiędzy wartością C_0 TAC w obserwowanych półroczach a oczekiwaną różnicą pomiędzy średnią wartością eGFR w półroczu późniejszym i wcześniejszym. Poziome linie z pustymi punktami pokazują sytuację braku zależności.

Wyżej opisana zależność (czerwona linia na Rycina 14) nie występuje w przypadku, gdy średnia wartość eGFR we wcześniejszym półroczu wynosiła $K_{start} \leq 75$ ml/min/73m² (zielona krzywa) i wtedy, kiedy wartość K_{start} była w przedziale $K_{start} = 75 - 95$

ml/min/1,73m² (niebieska krzywa). Średnia wartość eGFR z czasem obniża się, ale spadek ten jest tym mniejszy, im mniejsza była jego wartość przed spadkiem i tym większy - im była większa. Im wyższe były stężenia C₀ TAC w przedziale 5-10 ng/ml (taki zakres badano), tym większe było zahamowanie spadków wielkości eGFR z zakresu wartości wysokich.

VI. Analiza wpływu znanych cech klinicznych na stwierdzoną zależność między TAC C₀ i (Δ) eGFR.

Uznając wartości (Δ) eGFR przedstawione w Tabeli XVI za wartości przewidywane przez model o dwóch predyktorach (eGFR w oknie K_{start} występujący na trzech poziomach A, B i C oraz obserwowane stężenia C₀ TAC w oknach K_{start} i K_{stop} występujące na dziesięciu poziomach) oraz biorąc pod uwagę składnik interakcyjny, pochodzący z unikalnej kombinacji wiersza i kolumny, dokonano analizy modyfikującego wpływu 10 cech klinicznych na stwierdzoną zależność. Miała ona na celu próbę rozbicia tego składnika na parametry, które można dalej wyjaśnić cechą kliniczną oraz te, których nie da się już wyjaśnić ani zależnościami stężenie leku – wartość eGFR, ani cechami klinicznymi (jest to tzw. błąd (*error*), inaczej składnik resztkowy). W Tabeli XVIII przedstawiono wyniki analizy wariancji udziału każdej z 10 analizowanych zmiennych klinicznych w regresji składnika interakcyjnego. Wykazano, że tylko liczba niezgodności w układzie HLA modyfikuje zależność pomiędzy wartością C₀ TAC i spadkiem wielkości (Δ) eGFR ($p = 0,0208$). Liczba niezgodności jest tutaj zmienną kowariantną.

Tabela XVIII. Wpływ wybranych cech klinicznych na zależność pomiędzy stężeniem C_0 TAC, a wartością eGFR. Wartości współczynników regresji β_{stand} są standaryzowane. Mówią one o ile zmieni się wartość zmiennej zależnej, jeżeli wartość czynnika wzrośnie o *jedno odchylenie standardowe* tego czynnika. Standaryzowane wartości współczynników nachylenia dla różnych czynników (cech klinicznych) można ze sobą bezpośrednio porównywać.

Czynnik	$\beta_{std.}$	$R^2(\%)$	$F - test$	$p - wartość$
Czas zimnego niedokrwienia	0.1455	1.48	0.252	0.6193
Suma niezgodności w układzie HLA	-0.7104	3.44	5.998	0.0208
Wiek biorcy w dniu przeszczepienia	0.0355	1.24	0.014	0.9077
Czas trwania niewydolności nerek	-0.0958	0.24	0.106	0.7470
Czas dializoterapii przed przeszczepieniem	-0.0046	0.43	0.000	0.9881
Czas oczekiwania na przeszczepienie	0.3530	1.59	1.472	0.2352
Czas hospitalizacji po transplantacji	-0.1057	0.67	0.133	0.7177
Wiek rozpoznania choroby	-0.2439	2.34	0.715	0.4050
Wielkość eGFR u dawcy	-0.2865	2.34	0.896	0.3519
Lekarz prowadzący biorcę po przeszczepieniu	n.d.	0.61	0.003	0.9545

Dla zmiennej *Lekarz* nie ma jednego współczynnika kierunkowego

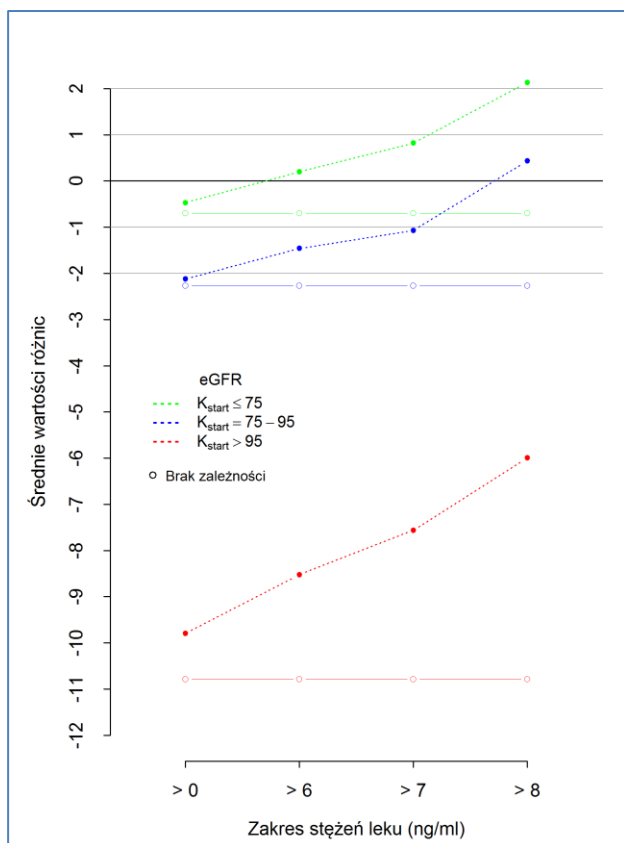
Informacja o tym, jak duża jest liczba niezgodnych antygenów HLA między biorcą i dawcą może być więc przydatna do wyjaśnienia tej części zmienności obserwowanych różnic Δ , których nie da się wyjaśnić wartościami C_0 TAC i eGFR. Wykorzystując ją można obliczyć nowe, szacowane wartości różnic z Tabeli XVI z uwzględnieniem informacji o liczbie niezgodności. Wyniki pokazano w Tabeli XIX, a średnie wartości zmian na Rycinie 15. Niemniej, bardzo niska wartość współczynnika determinacji dla niezgodności w układzie HLA ($R^2 = 3,44\%$) oznacza, że informacja o niezgodności HLA ma znikomy wpływ na zależności przedstawione na Rycinie 14. Są one uniwersalne i zasadniczo niezależne od dziesięciu cech, ujętych w Tabeli XVIII.

Tabela XIX. Uwzględniając liczbę niezgodności w układzie HLA między biorcą i dawcą średnie wartości zmian (Δ) eGFR między dwoma oknami K_{start} i K_{stop} , w zależności od trzech zmiennych: **1.)** stężenia C_0 TAC w oknie K_{start} , opisanego jednym z czterech stanów $s_{start}^T = A, B, C, D$; **2.)** stężenia C_0 TAC w oknie K_{stop} , opisanego jednym z czterech stanów $s_{stop}^T = A, B, C, D$; **3.)** wartości eGFR w oknie K_{start} , opisanego jednym z trzech stanów $s_{start}^{eGFR} = A, B$ i C . Tabela podaje szacowane różnice (Δ) między dwoma dowolnie wybranymi półroczami w zależności od tego, do jakiego zakresu wartości należą stężenia C_0 TAC obserwowane w dwóch oknach i od wartości eGFR w oknie wcześniejszym. Pokazano zależność różnic w funkcji wzrastającego stężenia leku.

eGFR (ml/min/1,73m ²) w oknie K_{start}	Stany stężenia leku* obserwowane w oknie K_{start} i K_{stop}			
	A B C D	B C D	C D	D
Zakresy	$> 0 \frac{ng}{ml}$	$> 6 \frac{ng}{ml}$	$> 7 \frac{ng}{ml}$	$> 8 \frac{ng}{ml}$
A ≤ 75	-0.47	0.20	0.82	2.13
CI95%	-5.24	-4.73	-4.34	-2.75
	3.82	4.54	5.26	5.90
B $75 - 95$	-2.12	-1.46	-1.07	0.44
CI95%	-6.95	-6.40	-6.05	-4.44
	2.48	3.14	3.48	4.47
C > 95	-9.79	-8.52	-7.56	-5.99
CI95%	-18.27	-17.43	-16.78	-15.17
	-1.47	0.09	1.23	2.33

* – symbol | oznacza wyrażenie LUB.

Analiza szacowanych wartości zmian wyliczonych z uwzględnieniem wpływu liczby niezgodnych alleli w układzie HLA (czerwone wartości w Tabeli XIX) wykazała, że korzystne działanie takrolimusu, polegające na zahamowaniu spadków średniej wielkości eGFR wraz ze wzrostem stężenia C_0 TAC, zwiększa się wraz ze zmniejszeniem liczby niezgodności HLA (mniejsze spadki) oraz nie ogranicza się tylko do hamowania spadku wielkości eGFR z wartości wysokich, lecz ujawnia się również u pacjentów z wyjściowo przeciętną ($75-95$ ml/min/1,73 m²) i niską (<75 ml/min/1,73 m²) wartością eGFR.



Rycina 15. Średnie wartości różnic w wielkości eGFR między dwoma dowolnymi półroczami po przeszczepieniu, w zależności od średniej wartości eGFR w półroczu wcześniejszym (K_{start}) i od niższego z dwóch stężeń C_0 TAC w tych półroczach, z uwzględnieniem stopnia niezgodności w układzie HLA między biorcą i dawcą. Wykres pokazuje zależność pomiędzy stężeniami leku w obserwowanych półroczach a szacowaną różnicą pomiędzy średnią wartością eGFR w półroczu późniejszym i wcześniejszym. Poziome linie z pustymi punktami pokazują sytuację braku zależności.

Sama zależność stężenie C_0 TAC – eGFR tłumaczy blisko 90% zmienności ukazanej w Tabeli XVI ($R^2 = 0.887$). Efekt płynący z różnic w liczbie niezgodności w układzie HLA między pacjentami tłumaczy tylko 3,5% z tych 11,3% zmienności, których nie tłumaczy zależność

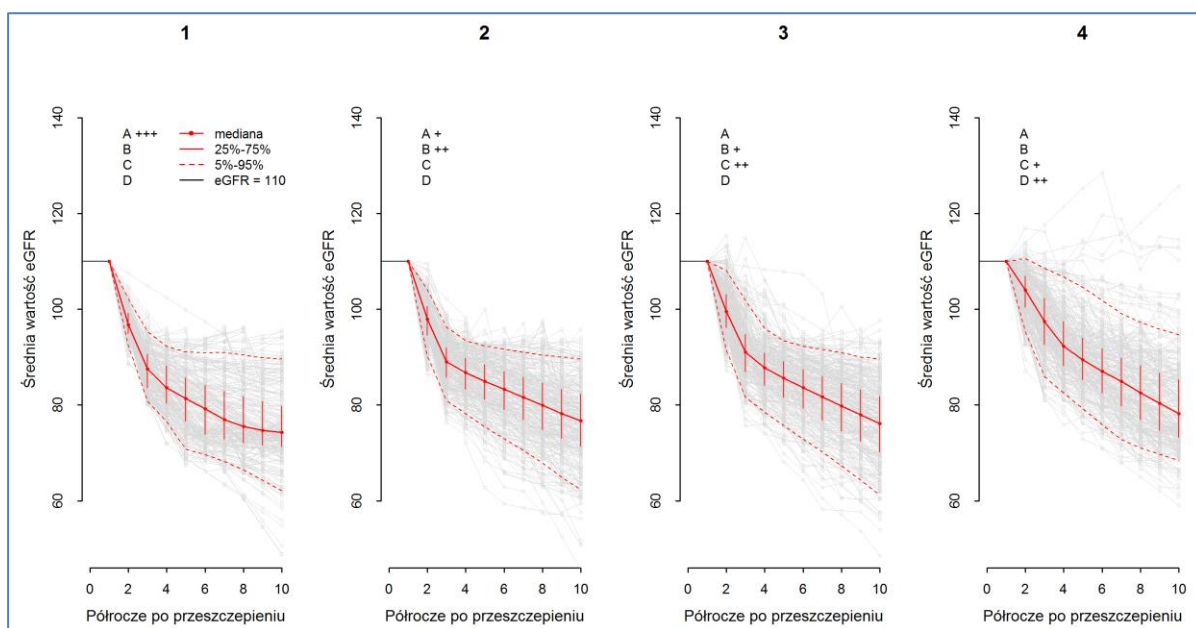
stężenie C_0 TAC – eGFR. Pozostałe, nieznanne czynniki odpowiadają za ok. 9% zmienności. Skala tych różnic pokazuje jednak, że są one klinicznie pomijalne (niebieska i zielona krzywa na obu rycinach oscylują w zakresie $-2, +2$). Cechy kliniczne, w tym niezgodność w układzie HLA, nie mają więc poważnego wpływu na zależność między eGFR i C_0 TAC. Zależność ta jest uniwersalna dla wszystkich pacjentów z badanej grupy.

VII. Konsekwencje kliniczne stwierdzonych zależności

Znając zależność między eGFR i TAC C_0 (ukazaną w Tabeli XV), metodą symulacji komputerowej zbudowano szereg czasowy średnich wartości eGFR w półroczach po przeszczepieniu dla grupy 10 tysięcy hipotetycznych („wirtualnych”) biorców w oparciu o trzy wartości: średnie stężenie eGFR w półroczu k i średnie stężenie C_0 TAC w półroczu k i $k - 1$. Proces ten generowano dla 10 półroczy po przeszczepieniu (5 lat), bo na tyle pozwalały szeregi czasowe obserwacji 94 pacjentów analizowanych w niniejszej pracy. Celem tego eksperymentu numerycznego było zbadanie trajektorii procesu w zależności od: rozkładu stężeń C_0 TAC w 5 letnim okresie obserwacji oraz początkowego średniego eGFR. Początkową (startową) wartość średniej wielkości eGFR w pierwszym półroczu ustalono na dwóch poziomach: 110 i 80 ml/min/1,73m². Generację procesów średnich wartości eGFR w półroczach po przeszczepieniu zrealizowano w kilku scenariuszach zależnych od rozkładu średniego stężenia C_0 TAC, opisanych zdefiniowanymi wcześniej stanami A, B, C i D . Analizowano przebieg trajektorii eGFR oraz ich zmienność w zależności od dwóch podkreślonych wyżej czynników.

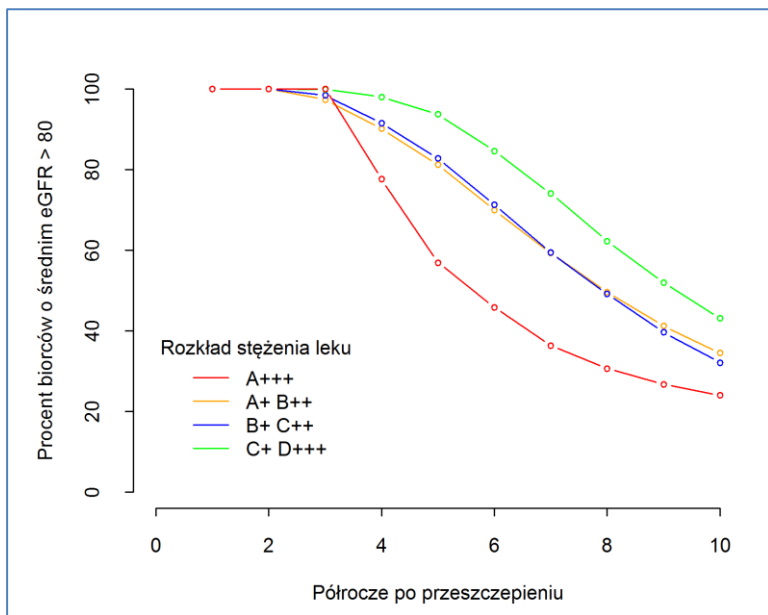
Scenariusz 1.

W pierwszym scenariuszu przyjęto, że biorca (lub grupa biorców) wykazywał w pierwszym półroczu ze średnią wartość eGFR = 110 ml/min/1,73m². Założono cztery warianty rozkładu stężeń C_0 TAC. W pierwszym średnie stężenie C_0 TAC zawsze (w każdym półroczu) było ≤ 6 ng/ml (stan A). W drugim A występowało z częstością $\pi(A) = \frac{1}{3}$, a stężenie B (tj. 6-7 ng/ml) z częstością $\pi(B) = \frac{2}{3}$. Na wykresach rozkład ten zakodowano jako **A** +, **B** ++, czyli na trzy plusy jeden przypada na stan A, a dwa na stan B. Pozostałe dwa z czterech wariantów są pokazane na Rycinie 16.



Rycina 16. Przykładowe trajektorie średnich wartości eGFR w okresie 5 lat po przeszczepieniu w zależności od rozkładu stężeń takrolimusu. Każda trajektoria (szare krzywe) to jeden biorca lub – równoważnie – jedna z możliwości dla rozważanego biorcy. Krzywe czerwone pokazują kwantyle policzone w oparciu o 10 000 trajektorii. Dla przejrzystości wykresu naniesiono 300 pierwszych trajektorii. Każdy biorca posiada w pierwszym półroczu po przeszczepieniu średni eGFR równy $110 \text{ ml/min/1,73m}^2$.

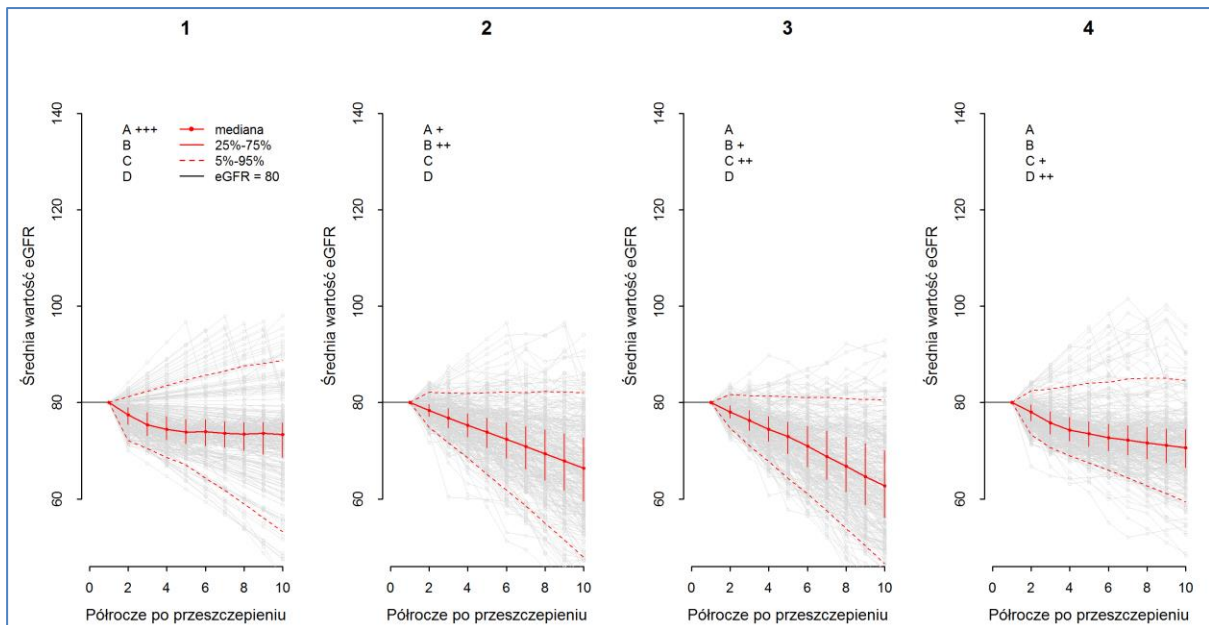
Z wykresu 1 na Rycinie 16 można odczytać, że nawet, jeśli średnie stężenie C_0 TAC u biorcy w całym okresie będzie w stanie A (w legendzie symbol A +++), to nie jest pewne, że średnia wartość eGFR na pewno będzie spadała do zakresu niskich wartości. W około 25% przypadków zatrzyma się on na poziomie ok. $90 \text{ ml/min/1,73m}^2$ i taka wartość średnia będzie rejestrowana do końca okresu pięcioletniego. Widać także, że bez względu na rozkład stężeń C_0 TAC, we wszystkich czterech wariantach w 10 półroczu średnia wartość eGFR jest bardzo podobna i wynosi średnio $76 \text{ ml/min/1,73m}^2$. To, co różni cztery warianty, to tempo dochodzenia do tej wartości, a więc tempo spadku (Δ) średniej wartości eGFR w kolejnych półroczach. Im wyższe są stężenia leku, tym tempo to jest wolniejsze. Efekt spowalniania tempa spadku średniej wartości eGFR przez utrzymywanie wyższego stężenia C_0 TAC w kolejnych półroczach po przeszczepieniu pokazano na Rycinie 17, jako odsetek trajektorii (wirtualnych biorców), u których w danym półroczu średnia wartość eGFR była powyżej $80 \text{ ml/min/1,73m}^2$.



Rycina 17. Odsetek trajektorii (biorców), u których w danym półroczu po przeszczepieniu średnia wartość eGFR wynosi ≥ 80 ml/min/1,73m², w zależności od rozkładu stężeń C₀ TAC notowanych w ciągu 5 letniego okresu obserwacji. W tym modelu założono, że wszyscy biorcy wykazywali średnią wartość eGFR w pierwszym półroczu równą 110 ml/min/1,73m². Rycina wykonana w oparciu o wyniki prezentowane na Rycinie 16 (szare krzywe).

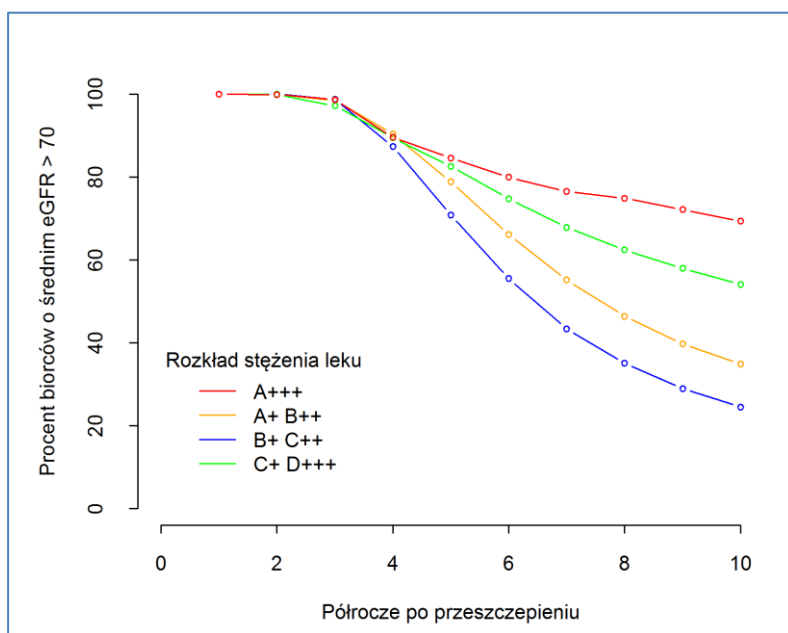
Scenariusz 2.

W tym scenariuszu zachowano wszystkie poprzednie reguły z tą różnicą, że u każdego biorcy początkowa hipotetyczna wartość eGFR w pierwszym półroczu od przeszczepienia wynosiła 80 ml/min/1,73m².



Rycina 18. Przykładowe trajektorie średnich wartości eGFR w okresie 5 lat po przeszczepieniu w zależności od rozkładu stężeń C_0 TAC. Każdy biorca wykazuje średnią wartość eGFR w pierwszym półroczu równą $80 \text{ ml/min/1,73m}^2$. Patrz też Rycina 16.

Analiza krzywych pokazanych na Rycinie 18 wskazuje na to, że średnia wartość eGFR nie obniża się w ciągu 5 lat od przeszczepienia tak dalece z wartości $80 \text{ ml/min/1,73m}^2$, jak miało to miejsce przy założonej wartości wyjściowej eGFR $110 \text{ ml/min/1,73m}^2$ (Rycina 16). Z wyjątkiem wariantów 2 i 3 (stężenia takrolimusu A+ B++ oraz B+ C++) średnia wartość eGFR stabilizuje się na poziomie praktycznie takim samym jak wtedy, kiedy założona wyjściowa wartość eGFR wynosiła $110 \text{ ml/min/1,73m}^2$ (Rycina 16). Uwagę zwraca dużo większa zmienność (różnorodność) trajektorii na wykresach 2 i 3 tej ryciny. W porównaniu z wykresem 1 i 4 nie ma na nich wyraźnej wiązki typowych trajektorii. Ta większa zmienność na wykresach 2 i 3 wiąże się z silniejszym spadkiem wielkości eGFR. Pokazano to na Rycinie 19, która obrazuje odsetek trajektorii, które w danym półroczu posiadają wartości eGFR powyżej lub równe $70 \text{ ml/min/1,73m}^2$.



Rycina 19. Odsetek trajektorii (biorców), u których w danym półroczu po przeszczepieniu średnia wartość eGFR wynosiła $\geq 70 \text{ ml/min/1,73m}^2$, w zależności od rozkładu stężeń C_0 TAC notowanych w ciągu 5 letniego okresu obserwacji. Wszyscy biorcy wykazywali hipotetyczną średnią wartość eGFR w pierwszym półroczu = $80 \text{ ml/min/1,73m}^2$. Rycina wykonana w oparciu o wyniki prezentowane na Rycinie 18 (szare krzywe).

Najlepsze rokowanie co do utrzymania wielkości eGFR w czasie mają biorcy, u których stężenie C₀ TAC stale było w stanie A, tj. nie było wyższe niż 6 ng/ml (czerwona krzywa)(Rycina 19). U blisko 70% z nich średnie eGFR w 10 półroczu po przeszczepieniu przekraczało 70 ml/min/1,73m². Jeżeli biorca prezentuje wyjściowo „przeciętną” wartość eGFR (to znaczy ok. 80 ml/min/1,73m²), to „ochronne” działanie wyższych stężeń C₀ takrolimusu przed spadkiem wartości eGFR nie ujawnia się. U tych pacjentów rolę odgrywa nie samo stężenie leku, lecz jego zmienność, która przekłada się na zmienność wielkości samego eGFR. Im większa zmienność stężenia leku, tym gorsze rokowanie co do długotrwałego utrzymania dobrej czynności przeszczepionej nerki.

Na podstawie obserwacji dotyczących symulacji na grupie wirtualnych pacjentów można stwierdzić, że im wyższe jest średnie stężenie C₀ TAC, tym większe jest ograniczenie spadków średniej wartości eGFR z wielkości zaliczonych wyjściowo do wysokich (czyli > 95 ml/min/1,73m²). W przypadku, kiedy pacjenci wyjściowo wykazują „przeciętne” wartości eGFR (czyli 70-95 ml/min/1,73m²), „ochronna” rola wyższych stężeń C₀ takrolimusu zanika, a silniejszego znaczenia nabiera zmienność średniego eGFR, a ta większa zmienność wiąże się gorszym rokowaniem co do zachowania wielkości eGFR w czasie. Przy stężeniach leku w zakresie 6-7 ng/ml i 7-8 ng/ml, towarzysząca mu zmienność średniej wartości eGFR jest większa, niż przy stężeniach niskich – poniżej 6 ng/ml oraz wysokich – powyżej 8 ng/ml.

VIII. Związek cech klinicznych ze średnią wartością eGFR w pierwszym półroczu po przeszczepieniu

Znając znaczenie wyjściowej wartości eGFR dla dalszego zachowania się tej zmiennej dokonano analizy wpływu na nią wybranych cech klinicznych związanych z transplantacją. Wyniki analizy ukazano w Tabeli XX.

Tabela XX. Związek wybranych cech klinicznych ze średnią wartością eGFR w pierwszym półroczu po przeszczepieniu.

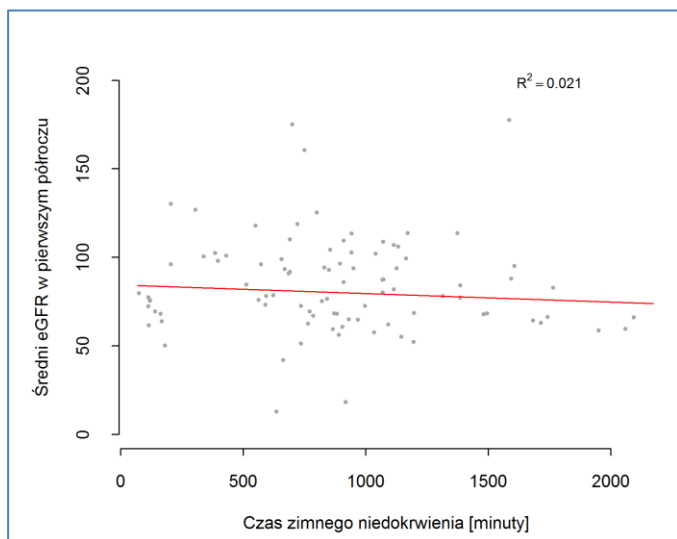
Czynnik kliniczny	Statystyki różnic		t-test ¹	p-wartość ²
Czas niedokrwienia, CIT	regresja		-0.954	0.1714
współczynniki regresji	β_1	β_0		
Wartość	-0.00483	84.38		
2.5%	-0.01495	72.64		
97.5%	0.00530	95.90		
Różnica wagi Dawca – Biorca	regresja		3.889	0.000096
współczynniki regresji	β_1	β_0		
Wartość	0.4192	72.33		
2.5%	0.2015	65.09		
97.5%	0.6347	79.46		
Dawca	żywy	zmarły	-0.748	0.7668
Mediana	77.51	82.44		
Różnica median	-4.93			
2.5%	-16.86			
97.5%	8.85			
DGF	TAK	NIE	-0.914	0.1833
Mediana	68.47	79.95		
Różnica median	-11.48			
2.5%	-42.39			
97.5%	9.11			

¹ – rozkłady statystyk t wyznaczone numerycznie metodą prób bootstrapowych;

² – z oczywistych powodów testy jednostronne.

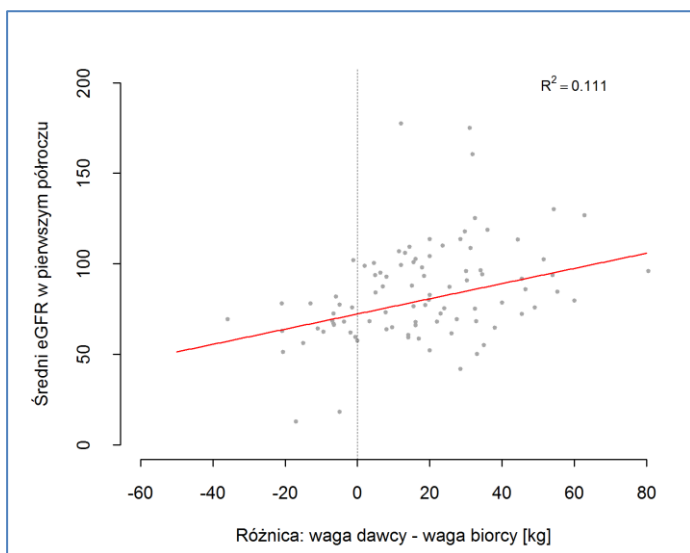
Wydłużenie czasu zimnego niedokrwienia (CIT) wiązało się z obniżeniem średniej wartości eGFR w pierwszym półroczu (współczynnik kierunkowy funkcji regresji liniowej

$\beta_1 = -0,00483$). Niemniej, wielkość współczynnika kierunkowego była tak niska, a błąd oszacowania tak duży, że nie przekroczone poziomu istotności statystycznej $\alpha = 0,05$. Zależność pomiędzy CIT, a średnią wartością eGFR w grupie 94 biorców pokazano na Rycinie 20, gdzie prosta regresji o nachyleniu i wyrazie wolnym, zamieszczonych w Tabeli. XX, wskazuje na brak istotnego związku obu cech.



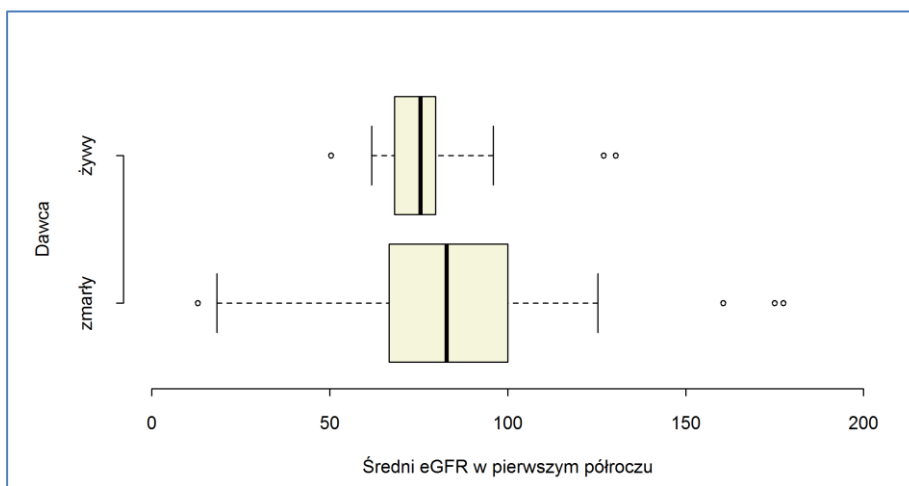
Rycina 20. Zależność pomiędzy średnią wartością eGFR w pierwszych 6 miesiącach po przeszczepieniu a czasem zimnego niedokrwienia.

Różnica masy ciała między dawcą i biorcą wykazywała istotny związek ze średnią wartością eGFR w pierwszym półroczu po transplantacji ($p = 0,000096$). Współczynnik kierunkowy regresji eGFR względem tej różnicy był dodatni i wyniósł $\beta_1 = 0,4192$ z przedziałem ufności $CI_{95\%}$ (0,2; 0,63). Z każdym kilogramem różnicy (dodatniej) średnia wartość eGFR w pierwszym półroczu rosła o $0,42 \text{ ml/min/1,73m}^2$, co oznacza, że wzrost różnicy masy ciała o 20 kg (np. z +20 kg do +40 kg) powodował wzrost średniej wartości eGFR średnio o $8,4 \text{ ml/min/1,73m}^2$, a wzrost o 40 kg (np. z +20 kg do +60 kg) odpowiednio o $16,8 \text{ ml/min/1,73m}^2$. Współczynnik kierunkowy tej regresji wynosi $R^2 = 0,11$ co oznacza, że różnicą masy ciała możemy wyjaśnić ok. 11% obserwowanej zmienności średniej wartości eGFR w pierwszych 6 miesiącach po przeszczepieniu. Zależność pomiędzy dwoma zmiennymi pokazano na Rycinie 21.



Rycina 21. Zależność pomiędzy średnią wartością eGFR w pierwszych 6 miesiącach po przeszczepieniu a różnicą masy ciała między dawcą i biorcą, wyrażoną w kilogramach.

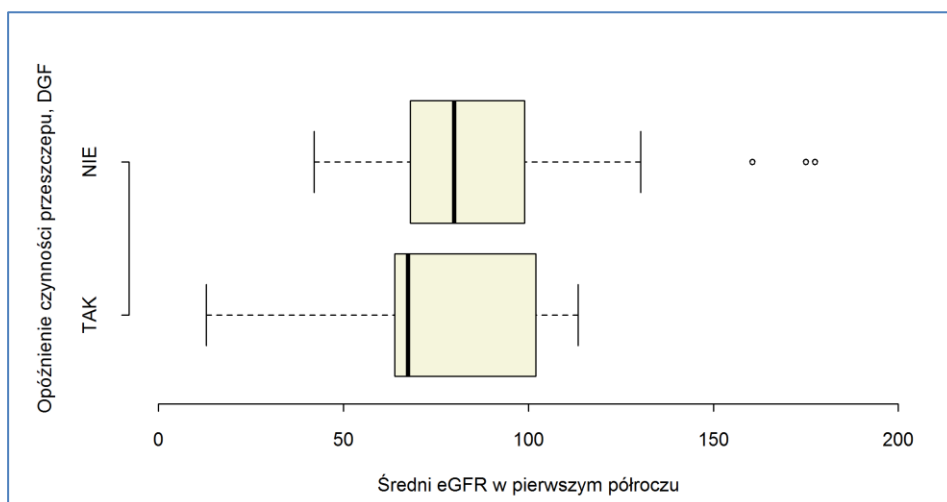
Średnia wartość eGFR w grupie biorców, którym przeszczepiono narząd od dawców żywych była niższa, niż w grupie biorców, którym przeszczepiono od dawcy zmarłego (Tabela XX), różnica ta jest jednak nieistotna statystycznie ($p = 0,7668$). Porównanie obu grup pokazano na Rycinie 22.



Rycina 22. Wykresy pudełkowe (box-plot) średniej wartości eGFR w pierwszych 6 miesiącach w zależności od dawcy (żywy vs zmarły).

Opóźnienie czynności przeszczepu (DGF), wykazywało związek z niższą średnią wartością eGFR w pierwszych 6 miesiącach po przeszczepieniu (Tabela XX). Średnia różnica pomiędzy wielkością eGFR w grupie biorców z DGF i bez DGF wynosi $-11,48 \text{ ml/min/1,73m}^2$. Liczbowo różnica wydaje się istotna, ale zróżnicowanie biorców pod względem wielkości eGFR jest tak duże, że błąd oszacowania tej różnicy w porównaniu z jej wielkością jest

znaczący ($p = 0,1833$), a przedział ufności wynoszący $CI_{95\%} (-42; +9)$ pokrywa liczbę zero, co oznacza brak istotnej statystycznie różnicy między grupami. Dodatkowo wskazuje na to poziom istotności $\alpha = 0,05$. Porównanie obu grup pokazano na Rycinie 23.



Rycina 23. Średnia wartość eGFR w pierwszych 6 miesiącach po transplantacji w zależności od wystąpienia DGF.

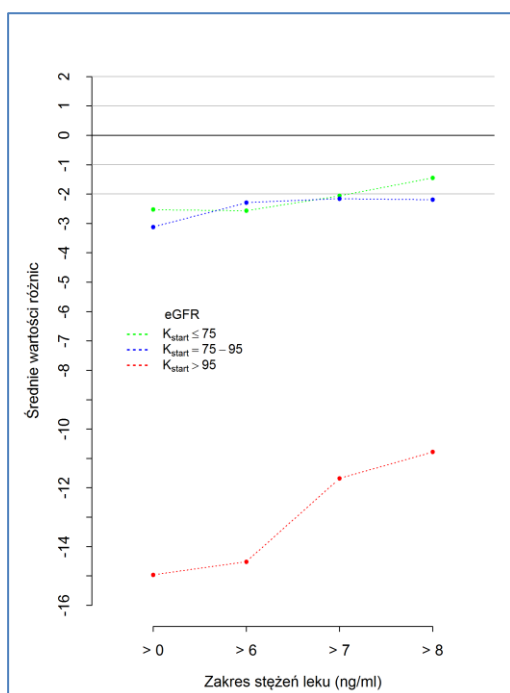
IX. Korelacja pomiędzy stężeniem C_0 TAC, a wartością eGFR ocenioną po upływie co najmniej 1 roku od oznaczenia C_0 .

Analizując zależność między stężeniem C_0 TAC, a wartością eGFR w odleglejszym okresie (po upływie co najmniej jednego roku od oznaczenia stężenia leku) wykazano istnienie korelacji między tymi zmiennymi. (Tabela XXI).

Tabela XXI. Średnie wartości zmian (Δ) eGFR między dwoma oknami K_{start} i $K_{stop} + 1$, w zależności od trzech zmiennych: **1.)** stężenia C_0 TAC w oknie K_{start} , opisanego jednym z czterech stanów $s_{start}^T = A, B, C, D$; **2.)** stężenia C_0 TAC w oknie o jedno półrocze przesuniętym do przodu, tj. $K_{stop} + 1$, opisanego jednym z czterech stanów $s_{stop}^T = A, B, C, D$; **3.)** wartości eGFR w oknie K_{start} , opisanego jednym z trzech stanów $s_{start}^{eGFR} = A, B$ i C . Zmiana wartości eGFR między oknami to różnica $\Delta = \overline{eGFR}_{K_{stop}+1} - \overline{eGFR}_{K_{start}}$. Tabela zawiera wszystkie z 48 możliwych kombinacji (scenariuszy) **dla zależności obserwowanych w próbie z przesunięciem czasowym dla eGFR o jedno półrocze do przodu.**

takrolimus			eGFR w oknie K_{start}			Średnia
$s_{start}^T = A$	$s_{stop}^T = A$	Stan	A	B	C	
-8.88	-6.49	A→A	-1.96	-4.83	-14.43	-7.87
		A→B	-5.56	-5.82	-14.39	-9.20
		A→C	-1.05	-4.60	-20.54	-8.35
		A→D	-1.61	-13.62	-19.42	-11.79
$s_{start}^T = B$	$s_{stop}^T = B$	Średnia	-2.30	-6.33	-16.42	-8.88
-9.10	-6.07	B→A	-4.90	-1.22	-18.48	-8.76
		B→B	-5.67	-2.19	-22.24	-10.38
		B→C	-4.20	0.96	-22.11	-8.45
		B→D	-2.18	-10.16	-13.27	-8.24
$s_{start}^T = C$	$s_{stop}^T = C$	Średnia	-4.41	-2.64	-20.02	-9.10
-5.25	-6.16	C→A	-2.95	-2.10	-11.16	-4.58
		C→B	-5.54	2.39	-7.31	-3.13
		C→C	-1.85	-2.86	-13.54	-5.27
		C→D	-1.42	-6.80	-20.55	-8.65
$s_{start}^T = D$	$s_{stop}^T = D$	Średnia	-2.91	-2.10	-12.83	-5.25
-4.00	-7.04	D→A	-0.36	-2.58	-17.41	-5.32
		D→B	-1.98	-0.84	-7.75	-3.18
		D→C	-3.18	-3.24	-7.41	-4.02
		D→D	0.31	-2.13	-9.22	-3.20
		Średnia	-1.45	-2.19	-10.78	-4.00
Średnia globalna dla s_{start}^{eGFR}			-2.53	-3.12	-14.96	-6.39

Znajomość średniego stężenia w danym oknie K_{start} i średniej wartości eGFR w tym oknie pozwala przewidzieć średnią wartość eGFR rok później.



Rycina 24. Średnie wartości różnic wielkości eGFR pomiędzy dwoma dowolnie wybranymi oknami K_{start} i $K_{stop} + 1$ w zależności od stężenia takrolimusu w oknie K_{start} . Pomiedzy oknami K_{start} i $K_{stop} + 1$ jest przeciętnie jeden rok różnicy.

Przykładowo, jeżeli średnie stężenie leku w K_{start} jest w którymkolwiek z czterech stanów A, B, C lub D, a średnia wartość eGFR w tym oknie jest > 95 ml/min/1,73m², to szacowana wartość eGFR po roku będzie niższa u tego biorcy o -15 ml/min/1,73m². Jeśli stężenie leku pozostaje w jednym ze stanów B, C, lub D (czyli powyżej 6 ng/ml), to szacowany spadek średniej wartości eGFR wynosi -14,5 ml/min/1,73m². Jeśli stężenie leku będzie > 8 ng/ml (tylko stan D), to szacowane obniżenie średniej wartości eGFR wyniesie -10,8 ml/min/1,73m². Efekt ten nie występuje w przypadku niższych wartości eGFR (< 95 ml/min/1,73m²), co świadczy o tym, że u chorych z taką czynnością nerki zwiększanie dawek takrolimusu (a przez to stężenia C_0) nie ma wpływu na spadki eGFR z czasem.

Ogólnie - korelacja między wartością eGFR a zmianą stężenia C_0 TAC ujawnia się z opóźnieniem około jednego roku i dotyczy tylko wysokich wyjściowych wartości eGFR (tj. > 95 ml/min/1,73m²).

Podsumowanie wyników

- 1) Dynamika zmian czynności przeszczepu nerki u dzieci mierzonej wskaźnikiem eGFR zależy od jego wyjściowej wartości. U pacjentów z bardzo dobrą czynnością przeszczepu ($eGFR > 95 \text{ ml/min/1,73m}^2$) stwierdzono postępujący spadek wartości eGFR, podczas gdy u pacjentów z gorszą wyjściową czynnością przeszczepu ($eGFR < 95 \text{ ml/min}$), czynność nerki w okresie obserwacji nie pogarszała się.
- 2) Dawkowanie takrolimusu prowadzone w oparciu o monitorowanie stężenia leku przed kolejną dawką skutecznie zapewniało osiągnięcie i utrzymywanie zalecanych wartości stężenia (w granicach 5-10 ng/ml).
- 3) U pacjentów z wyjściową wysoką wartością eGFR ($> 95 \text{ ml/min/1,73m}^2$) tempo pogarszania czynności przeszczepu (ubytek eGFR) zależało od stężenia C_0 takrolimusu i o ile przekraczało ono 6 ng/ml - szybkość obniżania się eGFR ulegała zahamowaniu.
- 4) Podwyższenie stężenia leku u tych chorych do 8 ng/ml (wartości pozostającej nadal w zakresie terapeutycznym), powodowało dodatkowy efekt zmniejszenia spadku wartości eGFR w czasie.
- 5) U pacjentów, u których wyjściowa wartość eGFR nie była aż tak wysoka (czyli z $GFR < 95 \text{ ml/min/1,73m}^2$) stężenie leku nie wpływało na tempo pogarszania się czynności nerki przeszczepionej.
- 6) Z analizowanych cech klinicznych, statystycznie udowodniony wpływ na zależność między stężeniem leku i wartością eGFR w czasie, miał jedynie zakres doboru HLA, bowiem zahamowanie spadku wielkości eGFR (zależne od stężenia leku $> 6 \text{ ng/ml}$), było tym większe, im lepiej dobrana była nerka. Niemniej, wykazano, że efekt niedoboru HLA miał niewielkie znaczenie dla całości tej zależności, za którą w ok. 90% odpowiada stężenie leku.

DYSKUSJA

Leczenie takrolimusem na obecnym etapie wiedzy i doświadczenia klinicznego uznaje się za podstawową terapię zapewniającą długotrwałe utrzymanie dobrej czynności nerki przeszczepionej.[65,66,67,68,69,70,71] Analiza danych zawartych w niniejszej pracy wykazała, że stężenie takrolimusu oznaczane przed podaniem kolejnej dawki (C_0), ma niezależny od innych czynników wpływ na odległą czynność przeszczepu nerki u dzieci mierzoną szacowanym wskaźnikiem filtracji kłębuszkowej (eGFR). Potwierdzenie głównej hipotezy badawczej uzasadniło przeprowadzenie dalszych analiz, w celu ustalenia rodzaju zależności i grupy pacjentów, której ona dotyczy. Nie potwierdzenie tej hipotezy świadczyłoby o tym, że wpływ innych, różnych czynników na odległą czynność przeszczepu nerki jest tak złożony, że samo stężenie takrolimusu nie ma istotnego znaczenia lub wykazuje współzależność od innych cech klinicznych lub leków. Wykazano również, że zawężenie szerokiego zakresu ogólnie akceptowanych i rekomendowanych przez grupy eksperckie i podręczniki transplantologii - stężeń leku w okresie powyżej 1 miesiąca po transplantacji nerki - może przynieść korzyści w odniesieniu do odległej czynności przeszczepu.

Na odległą czynność przeszczepu nerki wpływ ma wiele czynników. Wśród znanych czynników, tych które ujawniają się już po transplantacji, wymienia się czynniki immunologiczne, jak przewlekłe humoralne odrzucanie przeszczepu (które początkowo może przebiegać subklinicznie), jak i nieimmunologiczne, w tym nadciśnienie, zastój i utrudnienie odpływu moczu, obecność zmian zapalnych związanych z zakażeniami układu moczowego i zakażeniami wirusowymi (CMV i BKV), nefrotoksyczność inhibitorów kalcyneuryny, białkomocz i negatywne dla czynności nerek działanie różnych dość często stosowanych u biorców przeszczepu leków.[18]

Grupa opisanych pacjentów była zróżnicowana pod względem występowania tych cech, których znaczenie było w rutynowej praktyce klinicznej trudne do oceny. Czas wystąpienia, długość trwania oraz sposób leczenia powikłań i chorób towarzyszących były u różnych pacjentów różne. Nakładanie się w czasie różnych czynników na siebie dodatkowo utrudniało ocenę ich wpływu. Trudność powodował też sam retrospektywny charakter zbierania rzeczywistych danych klinicznych, dopuszczający różny stopień subordynacji pacjentów w zakresie przyjmowania leków, stosowania się do innych zaleceń, w tym dietetycznych, terminowości zgłaszania się na wizyty, wiarygodności czasu (godziny) pobrania krwi na badania itp. Dostęp do nowych technik diagnostycznych (np. badania swoistości przeciwciał DSA i zdolności wiązania przez nie dopełniacza) był w przeszłości ograniczony. Badania

inwazyjne, takie jak biopsja przeszczepionej nerki, wykonywane były ze wskazań klinicznych, a nie naukowych. Biorąc pod uwagę liczbę dodatkowych zmiennych, brak pewności co do właściwego rozpoznania niektórych z nich i różny czas ich wystąpienia, analizę zależności dynamiki zmian eGFR (zmiennej zależnej) w całym okresie obserwacji po transplatacji od stężenia takrolimusu C_0 (zmiennej niezależnej) przeprowadzono na specjalnie opracowanym i zwalidowanym statystycznym modelu zależności. Badania regresji zostały ograniczone do tych etapów analizy, w których dysponowano pewnymi (co do istnienia) i niezmiennymi w czasie cechami klinicznymi, oceniając ich wpływ na stwierdzoną zależność między wielkością eGFR i stężeniem takrolimusu C_0 . Taki sposób analizy danych umożliwił wykazanie badanej zależności bez względu na nieznaną wpływ wszystkich innych (ustalonych i nieustalonych) czynników (zmiennych) na odległą czynność przeszczepu. Wpływ innych zmiennych w przeprowadzonej analizie był jedynie statystycznym tłem („szumem losowym”) dla ujawnienia się poszukiwanej zależności.

Grupę badaną objętą analizą stanowiło dziewięćdziesiąt czworo dzieci po transplatacji nerki. Byli to wszyscy pacjenci, kolejno przeszczepieni w naszym ośrodku, trafiający w okresie blisko 5 lat pod opiekę Poradni Transplatacji Nerek. Jedynym warunkiem było przyjmowanie przez nich takrolimusu jako podstawowego leku w immunosupresji podtrzymującej. Nie stosowano innych kryteriów doboru pacjentów. Sprawilo to, że grupę tę traktować można jako reprezentatywną próbę losową dzieci przeszczepianych w jednym ośrodku, w danym czasie. Dobór ten powoduje, że wyniki analizy odnoszą się do stanu rzeczywistego i można je traktować uniwersalnie, a nie warunkowo i selektywnie, np. tylko wobec tych, u których w określonym czasie nie było zakażenia układu moczowego albo epizodu pogorszenia czynności przeszczepu. Z założenia, ten sposób oceny przypomina zasadę analizy *intent-to-treat*, stosowaną w badaniach obserwacyjnych i niektórych badaniach klinicznych. Nieobecność przypadków zgonu i utraty przeszczepu w okresie obserwacji, świadczący pozytywnie o jakości leczenia oraz skutecznym rozpoznawaniu i leczeniu ewentualnych powikłań, był powodem tego, że grupa była jednolita i żaden z pacjentów nie był w analizie traktowany odrębnie. Dane dotyczące monitorowania leczenia takrolimusem (wszystkie odnotowane wartości stężenia C_0 z całego okresu obserwacji) oraz czynności nerki przeszczepionej (wszystkie odnotowane wartości eGFR z całego okresu obserwacji) były dla wszystkich pacjentów kompletne, co umożliwiło dokonanie pełnej analizy dynamiki zmian wartości eGFR w czasie. Podkreślić należy, że analiza taka (bez utraty informacji z jakiegokolwiek przedziału czasu) umożliwiła dodatkowo przeprowadzenie symulacji

komputerowej, czyli wykorzystania zależności stwierdzonych na podstawie danych retrospektywnych do prognozowania przyszłych konsekwencji klinicznych.

Obserwowane w opisanej grupie przeżycie pacjentów i przeszczepów nie odbiega od raportowanego przez inne renomowane ośrodki. W brytyjskim rejestrze UK NHS Blood and Transplant 2018/2019 średnie roczne i pięcioletnie przeżycie dziecięcych biorców przeszczepu nerki we wszystkich 10 brytyjskich ośrodkach raportowano na poziomie 99 i 97% w przypadku dawców zmarłych oraz 100 i 99% dla dawców żywych. Roczne i pięcioletnie przeżycie przeszczepu od dawcy zmarłego wynosiło odpowiednio 96 i 86%, a od dawcy zmarłego 97 i 89%.[72] Podobne dane występują w dużym raporcie amerykańskim (NAPRTCS), w którym informacje kliniczne zebrano we wszystkich 167 ośrodkach transplantacyjnych z USA.[1,73] Nieobecność zgonów i przypadków utraty przeszczepu, co na podstawie przytoczonych danych odpowiada losowemu rozkładowi tych zdarzeń w podobnej grupie, umożliwił jak już wspomniano skupienie się na analizie dynamiki zmian czynności przeszczepu w całej grupie, w całym okresie obserwacji każdego z pacjentów. Również charakterystyka wyjściowych cech klinicznych grupy opisanych w pracy biorców nie różniła się w sposób istotny od raportowanych w rejestrach europejskich i badaniach klinicznych z udziałem dzieci.[73] Przewagę stanowili chłopcy (60%), mediana wieku i masy ciała była podobna u obu płci i wynosiła odpowiednio ok. 11 lat i 30 kg. Najczęstszą przyczyną niewydolności nerek były wady układu moczowego i budowy nerek (ang. *congenital anomalies of kidney and urinary tract*; CAKUT), które u chłopców stanowiły 57%, a u dziewczynek 37%. Dzieci przed transplantacją były częściej leczone dializą otrzewnową (52%), a w 20% przypadków transplantacja wyprzedzała rozpoczęcie dializoterapii. Cechy charakteryzujące ryzyko immunologiczne, jak udział pierwszych przeszczepień nerki (97% pacjentów), aktualny wynik PRA = 0% (95%), liczba niezgodności w trzech układach HLA A, B i DR, czas zimnego niedokrwienia (CIT) nie odbiegały istotnie od raportowanych w innych ośrodkach.[73,74] Pacjentów własnych różnił natomiast mniejszy udział przeszczepień od dawców żywych, który wynosił 13,8% w całej grupie i blisko 20% w grupie chłopców. W ośrodkach europejskich odsetek żywych dawców jest wyższy[74] i wynosi przeciętnie 58%, [75] a w USA 41%.[73] Wykazano jednak w naszej analizie, że pochodzenie narządu od dawcy żywego lub zmarłego nie miało istotnego statystycznie wpływu na wyjściową czynność przeszczepu (wartość eGFR w pierwszym półroczu), co różni te wyniki od innych danych. Dane z rejestru NAPRTCS wskazują, że pochodzenie narządu (od dawcy zmarłego *versus* żywego) ma istotny wpływ na wartość eGFR po 30 dniach od transplantacji (eGFR średnio niższe o $-7.5 \text{ ml/min/1,73 m}^2$, $p < 0,001$, w przypadku

dawców zmarłych), ale już nie na odległą czynność przeszczepu.[76] W innym z badań wykazano, że wczesna czynność przeszczepu nerki u dzieci w istotny sposób zależała od masy ciała biorcy, czasu niedokrwienia narządu (który co prawda był krótszy, w przypadku przeszczepiania nerki od dawcy żywego), oraz sposobu prowadzenia znieczulenia tj. wartości średniego ciśnienia tętniczego bezpośrednio po reperfuzji i objętości wlewu albumin, a nie bezpośrednio od typu dawcy (dawca zmarły *versus* żywy).[77] Doświadczenie ośrodka, w tym szczególnie anestezjologów i chirurgów ma szczególne znaczenie przy przeszczepianiu nerek pobranych od małych dzieci (o masie ciała < 20 kg)[78,79] oraz przeszczepianiu nerek o dużych rozmiarach biorcom o małej masie ciała (<15 kg).[80,81,82] Liczne obserwacje pochodzące z różnych ośrodków potwierdzają mniejszą częstość występowania wczesnej dysfunkcji przeszczepu nerki tj. opóźnienia czynności przeszczepu pobranego od dawcy żywego, niezależnie od rodzaju pobrania (laparoskopowe *versus* klasyczne).[83]

Analizy w opisanym badaniu prowadzone były sekwencyjnie i warunkowo. Przeprowadzenie kolejnej analizy zależało do wyniku poprzedniej i uwzględniało stwierdzone w niej zależności. Wykazanie braku jakiegokolwiek zależności między wartością eGFR i stężeniem takrolimusu C_0 oznaczałoby zakończenie analizy. Dzięki wykazaniu istnienia takiej zależności można było zbadać jej rodzaj, jak też wpływ na nią innych zmiennych. I tak, najpierw wykazano istnienie zależności między wartością eGFR i stężeniem leku, a następnie, że polega ona na zahamowaniu obniżenia wielkości eGFR z wartości wysokich wraz ze zwiększeniem stężenia leku, a na końcu, że zależność tę (choć w niewielkim stopniu) modyfikuje liczba niezgodnych antygenów między dawcą i biorcą.

Przed zbadaniem zależności dwóch zmiennych, w której zmienną zależną była wartość eGFR (czyli miernik czynności przeszczepu), a zmienną niezależną, jaką była wartość stężenia takrolimusu C_0 , dokonano analizy zachowania się każdej z nich osobno. Celem było wykluczenie istnienia „wewnętrznej” zależności w obrębie każdej z nich (tj. sytuacji, gdy zmiana zależy od tego, jaka była wcześniejsza wartość danego parametru) oraz uwzględnienie stwierdzonych ewentualnie zależności w dalszej analizie. Wykazanie, że obniżenie z upływem czasu wartości eGFR zależy od wyjściowej wartości tej zmiennej, co znalazło potwierdzenie w danych z piśmiennictwa,[84,85,86] wykorzystano przy opracowaniu modelu zależności wielkości eGFR i stężenia C_0 TAC. Dzięki takiemu zaprojektowaniu modelu wykazano, że tempo zahamowania spadków wartości eGFR pod wpływem wyższych stężeń C_0 takrolimusu zależy od wyjściowej czynności przeszczepu i ujawnia się u pacjentów z wysokimi wyjściowymi wartościami eGFR (tj. > 95 ml/min/1,73m²). Analiza zachowania się średnich wartości eGFR wykazała, że w okresie pierwszych 30 dni po transplantacji ich

zmienność była największa, a średnia wartość była najwyższa (ok. 98 ml/min/1,73m²). Duża zmienność w tym okresie była wynikiem wieloczynnikowego wpływu parametrów klinicznych dotyczących samej transplantacji i okresu okołoperacyjnego, takich jak prowadzenie znieczulenia ogólnego w czasie transplantacji,[77] wystąpienie opóźnienia czynności przeszczepu (DGF), czas trwania i sposób leczenia DGF (hemodializa lub dializa otrzewnowa), stan nawodnienia pacjenta[87] i zmienność stężeń takrolimusu w okresie dobierania właściwej dawki. Okres ten uznano za czas adaptacji narządu w organizmie biorcy i wyłączono z dalszej analizy.

Za wyjściową czynność przeszczepu nerki tj. za punkt odniesienia w ocenie późniejszych zmian przyjęto średnią wartość eGFR w pierwszym półroczu po transplantacji (średnia ze wszystkich oznaczeń wykonanych w czasie 6 miesięcy). Z badanych kilku cech klinicznych, na wyjściową wartość eGFR istotny statystycznie wpływ miała jedynie różnica masy ciała dawcy i biorcy. Wraz ze zwiększeniem różnicy masy ciała dawcy i biorcy o jeden kilogram, wyjściowa wartość eGFR rosła przeciętnie o + 0,42 ml/min/1,73m² (p=0,000096), co przy różnicy + 40 kg daje dodatkowe 16 ml/min/1,73m². Wynik ten był oczekiwany, zgodny z obserwacjami klinicznymi i wynikami publikowanymi przez innych autorów.[88,89] W badaniu obserwacyjnym grupy 324 pacjentów pediatrycznych wykazano na przykład, że u biorców otrzymujących narząd o większej objętości, czyli masie nefronów (ocenianym wskaźnikiem był stosunek objętości allograftu – RAV – *renal allograft volume* do powierzchni ciała biorcy rBSA – *recipient body surface area* tj. RAV/rBSA) istotnie częściej uzyskiwano w pierwszym roku po transplantacji wartość eGFR > 90 ml/min/1,73m², gdy wskaźnik ten przekraczał 135. Dotyczyło to zarówno narządów pobranych od dawców żywych, jak i zmarłych, przy czym wartość prognostyczna była istotnie wyższa w przypadku dawców zmarłych. Autorzy wyjaśniają to lepszym „stanem nefronów” w nerkach pobranych od dawców żywych wynikającym z krótszego czasu niedokrwienia.[90] Podstawą fizjologiczną tego zjawiska, opisanego w grupie 57 dzieci po transplantacji nerki, w której wyjściowe eGFR korelowało istotnie ze stosunkiem masy ciała dawcy/biorcy, jest najpewniej przeszczepienie „dawki mięszu nerkowego” przekraczającej potrzeby metaboliczne organizmu dziecka.[89] Podobne obserwacje poczyniono analizując znaczenie masy przeszczepianego narządu (mierzonej bezpośrednio przed transplantacją) w odniesieniu do wielkości pacjenta (powierzchni ciała - BSA). Porównano pacjentów, którym przeszczepiono „małą” (średnio 58 g/m² BSA), „przeciętną” (średnio 142 g/m²) i „dużą” (średnio 267 g/m²) masę narządu. U pacjentów, którzy otrzymali małą masę narządu jego objętość w czasie 24 miesięcy istotnie się zwiększała, w odróżnieniu od pacjentów, którzy otrzymali dużą masę

narządu, u których objętość ta się zmniejszała.[91] Wartość eGFR u pacjentów z małą i przeciętną masą narządu w stosunku do powierzchni ciała zwiększała się, a u pacjentów z dużą masą była stabilna. W innym badaniu, w którym zastosowano podobną metodologię, tj. dokonywano pomiaru masy narządu bezpośrednio przed przeszczepieniem (Kw – *kidney weight* w g) i analizowano odległe wyniki w zależności od stosunku masy przeszczepu do masy ciała biorcy (Rw – *recipient weight* w kg) w grupie 236 dzieci po transplantacji nerki, nie potwierdzono znaczenia tego wskaźnika (Kw/Rw (g/kg) <2.8 ; $2.8-4.2$ i > 4.2) dla rokowania (w badaniu oceniano częstość występowania DGF i ostrego odrzucania, eGFR po 1, 6, 12, 36 i 60 miesiącach po transplantacji, przeżycie przeszczepu i przeżycie biorcy). Różnice wszystkich ocenianych parametrów między grupami były nieistotne statystycznie.[92]

Wydłużenie czasu zimnego niedokrwienia (CIT) wiązało się z kolei z obniżeniem wartości eGFR w pierwszym półroczu (-0.29 ml/min/1,73m² na każde dodatkowe 60 min CIT). Było to zgodne z danymi innych autorów. W dużym obserwacyjnym badaniu dotyczącym 3839 pacjentów wykazano, że wydłużenia czasu CIT istotnie pogarsza rokowanie co do przeżycia przeszczepu. Szczególne znaczenie tej cechy klinicznej wykazano w przypadku przeszczepienia nerek pobranych od dawców zmarłych o rozszerzonych kryteriach, a w jednym z oceniających to badań długość CIT była jedyną zmienną, od której zależała wartość eGFR biorcy po 6 miesiącach od transplantacji.[93] Próg, od którego długość CIT pogarszała rokowanie co do utrzymania czynności przeszczepu był w poszczególnych doniesieniach bardzo różny i wynosił od 14 godzin w grupie 331 dorosłych biorców przeszczepień od dawców ze stwierdzoną śmiercią mózgową[94] do 36 godzin w analizie danych z bazy UNOS obejmujących 2597 dziecięcych biorców przeszczepu nerki od dawców zmarłych i żywych.[95] Dla przypomnienia, mediana czasu CIT u pacjentów z analizowanej grupy wynosiła 14,6 godziny, a maksymalny czas wynosił 34 godziny, co mogło mieć wpływ na uzyskane wyniki. Istnieją jednak doniesienia, w których wykazano, że CIT, w odróżnieniu od starszego wieku dawcy i biorcy, dysfunkcji układu moczowego u biorcy i wystąpienia nefropatii *Polyoma BK* nie wpływa istotnie na wczesną i odległą czynność przeszczepu nerki u dzieci.[96] Podobne wyniki uzyskano w dużej metaanalizie 35 badań, oceniającej 20 czynników ryzyka utraty graftu w czasie roku po transplantacji, w tym także czynników ocenianych w obecnym badaniu. Wydłużenie czasu CIT nie zwiększało ryzyka utraty przeszczepu nerki w czasie pierwszego roku, które było większe w przypadku m. in. przeszczepienia nerki od dawcy zmarłego, mniejszej zgodności w zakresie antygenów HLA.[97] Wystąpienie opóźnienia czynności przeszczepu (DGF) w badanej grupie chorych

więzało się ze spadkiem średniej wartości eGFR w pierwszych 6 miesiącach po transplantacji, co jest zgodne z wynikami dużej metaanalizy dotyczącej wpływu DGF na odległe losy przeszczepu, w tym też eGFR w 3 miesiącu po transplantacji.[98] Podobnie, w badaniu na grupie 126 biorców w wieku 11-15 lat wykazano, że DGF ma istotny wpływ na wartość eGFR w 6 miesiącu po transplantacji, nie mając wpływu na przeżycie przeszczepu. Co więcej, efekt ten był przejściowy, gdyż w 12 i 24 miesiącu po transplantacji nie było już różnic między pacjentami, u których wystąpił i nie wystąpił DGF.[99] Brak wpływu DGF na odległe losy przeszczepu stwierdzono w badaniu na grupie 744 dorosłych biorców przeszczepu od dawcy zmarłego, w którym jednak z wystąpieniem DGF wiązano suboptymalną czynność graftu w 12 miesiącu i większą częstość ostrego odrzucania.[100] W aktualnie badanej grupie chorych, prawdopodobnie ze względu na duże zróżnicowanie wartości eGFR stwierdzona różnica nie osiągnęła poziomu istotności statystycznej. Podobnie, nie wykazano istotnej zależności między pochodzeniem narządu od dawcy żywego lub zmarłego a wyjściową czynnością przeszczepu, czego powodem mogła być m.in. mała liczebność dawców żywych i wpływ zjawiska niewielkich liczb na wynik analizy statystycznej. Brak istotnego wpływu czasu niedokrwienia, wystąpienia opóźnienia czynności przeszczepu i pochodzenia narządu na późniejszą czynność przeszczepu nerki można też tłumaczyć doświadczeniem ośrodka (ponad 1050 transplantacji) i dopracowaniem procedur pobierania, przechowywania (u ponad 75% biorców CIT nie przekraczał 18,7 godziny) i przeszczepiania narządów.

Analiza zmian średnich wartości eGFR w czasie wykazała ich stabilizację (zmniejszenie rozrzutu) na poziomie ok. $76 \text{ ml/min/1,73m}^2$ i brak dalszego spadku w późniejszej obserwacji. Dalsze badanie dynamiki zmian wielkości eGFR pozwoliło stwierdzić, że zmiana wartości tego wskaźnika u poszczególnych pacjentów zależy od tego, jaka była jego wartość wyjściowa, tj. eGFR odnotowane w pierwszym półroczu po transplantacji. U pacjentów z bardzo dobrą wyjściową czynnością przeszczepu ($\text{eGFR} > 95 \text{ ml/min/1,73m}^2$) średnia wartość przesączania kłębuszkowego w okresie obserwacji obniżała się, natomiast u pacjentów z wyjściowymi „przeciętnymi” i „niskimi” wartościami eGFR (odpowiednio $95-75$ i $< 75 \text{ ml/min/1,73 m}^2$) nie tylko się nie obniżała, ale nawet wzrastała. Samo tempo obniżania się wartości eGFR u pacjentów z wysokiej wartości wyjściowej było mniejsze, niż tempo wzrostu wielkości eGFR u pacjentów z niskim wyjściowym przesączaniem kłębuszkowym.

Na wyjściową wartość eGFR w opisanej grupie pacjentów największy wpływ miała różnica wielkości masy ciała dawcy i biorcy, a nie zależała ona w istotny sposób od innych cech

klinicznych. Można więc podejrzewać, że w grupie pacjentów z wyjściowym wysokim eGFR udział tych, którzy otrzymali narząd nieproporcjonalnie duży, tj. o „nadmiarowej masie nefronów” w stosunku do ich potrzeb metabolicznych (w tym nie tylko pobrany od dawcy dorosłego, ale także do młodocianego zmarłego dawcy), był większy niż w grupie pacjentów z niskim wyjściowym eGFR, u których prawdopodobnie częściej przeszczepiano narząd o zbyt małej „masie nefronów”. Zjawisko to można zaobserwować porównując eGFR dwóch biorców wyraźnie różniących się rozmiarami, którzy otrzymali narząd od tego samego dawcy zmarłego.[88] Różne zachowanie się eGFR u dzieci po transplatacji nerki, w zależności od jego wyjściowej wartości i znaczenie tego zjawiska zostało opisane już wcześniej, m.in. w opublikowanych ostatnio brytyjskich danych rejestrowych dotyczących dzieci i młodych dorosłych (5121 biorców),[84] w którym z wysoką wartością eGFR wiązało się zmniejszenie ryzyka utraty przeszczepu, ale też szybsze tempo jego obniżania. Podobne obserwacje, dotyczące większego tempa spadku eGFR z wartości wysokich oraz długiego utrzymywania się stabilnych niższych wartości poczyniono także w dużej grupie (n=4488) dorosłych pacjentów, u których jednak nie można tego wytłumaczyć dysproporcją rozmiarów ciała dawcy i biorcy.[101] Istotne obniżenie wielkości eGFR z poziomu wartości wysokich tłumaczyć można kilkoma mechanizmami. Po pierwsze, wynikać on może z przewagi, przynajmniej w pierwszych miesiącach po transplatacji, fizjologicznych procesów adaptacji nerki do nowych dla niej warunków hemodynamicznych w organizmie biorcy. Różnica kalibru naczyń tętniczych przeszczepu i dawcy oraz mniejszy minutowy rzut serca biorcy sprawiają, że ilościowo przepływ krwi przez relatywnie „duży” przeszczep jest istotnie mniejszy, niż był przed pobraniem narządu. Świadczą o tym choćby wyniki badania porównującego bezwzględne wartości GFR i przepływu krwi (eRPF- *effective renal plasma flow*) oznaczane metodą izotopową w drugiej (pozostałej) nerce żywego dawcy i nerce (grafcie) przeszczepionej dziecku. Różnica tych wartości na korzyść nerki dawcy była tym większa, im mniejsza była powierzchnia ciała biorcy, a korelacja osiągnęła bardzo wysoki poziom istotności.[84] Zmniejszenie objętości krwi przepływającej przez nieproporcjonalnie dużą nerkę (*adulted-size kidney*) przeszczepioną małemu dziecku potwierdzają także obserwacje zachowania się wskaźnika RI (*resistive indeces*) i objętości allograftu u 47 dzieci po przeszczepieniu. Najwyższą wartość RI bezpośrednio po przeszczepieniu i największe zmniejszenie objętości przeszczepu nerki w czasie 6 miesięcy od transplatacji odnotowano w grupie dzieci o najmniejszej powierzchni ciała ($BSA \leq 0,75 \text{ m}^2$).[102] Zjawisko to tłumaczono „przystosowaniem” się układu naczyniowego nerki polegającym na obkurczeniu naczyń w odpowiedzi na nagły spadek objętości przepływającej krwi (mechanizm autoregulacji przepływu z udziałem reniny-angiotensyny-aldosteronu w celu utrzymania

stałego GFR, przy mniejszym przepływie krwi). Podobne obserwacje dotyczyły porównania zmiany eGFR nerek pobranych od dawców żywych (w stosunku do wyjściowej wartości oznaczonej u dawcy metodą izotopową) i przeszczepionych dorosłym i dzieciom. Wartość eGFR u dorosłych wzrastała w czasie pierwszych 7 miesięcy po transplantacji nerki (o 28%), a u dzieci obniżała się. Wykazano zależność zmiany eGFR od powierzchni ciała biorcy zarówno w przypadku dorosłych ($\beta = -0,548$, $p < 0,0001$), jak i dzieci ($\beta = 0,741$, $p < 0,0001$), co tłumaczono działaniem mechanizmów adaptacyjnych.[65] U części pacjentów trwała hipoperfuzja może prowadzić do zmian niedokrwiennych, martwiczych lub zakrzepicy pewnych fragmentów greftu i postępującego pogarszania czynności przeszczepu.[13] Z tym wiąże się większe u tych pacjentów ryzyko wystąpienia opóźnienia czynności[103] i zakrzepicy przeszczepu.[104] Za słusnością tego wyjaśnienia przemawiają też obserwacje z badania dotyczącego protokolarnych biopsji nerek przeszczepionych dzieciom.[11] W allograftach „o rozmiarach dorosłej nerki” przeszczepionych małym dzieciom wykazano (w biopsjach wykonanych we wczesnym okresie po przeszczepieniu) przewagę zmian o charakterze włóknienia śródmiąższowego i pojawienie się mikrozwapnień w cewkach świadczących o niedokrwieniu, bez typowych cech procesu o podłożu immunologicznym, takich jak aktywne nacieki komórkowe, czy zapalenie nabłonka cewek.[105] Dodatkowo, w klinicznej obserwacji tej grupy nie stwierdzono stopniowego podwyższania się bezwzględnych wartości eGFR, którego należałoby oczekiwać wraz ze wzrastaniem dziecka i które widoczne było u dzieci, które otrzymały nerki od dziecka o zbliżonych rozmiarach ciała. Podobne obserwacje, dotyczące wzrostu eGFR z czasem, poczyniono u chorych dorosłych, którym przeszczepiono dziecięcą nerkę.[106] Porównując grupę 19 małych dzieci, którym przeszczepiono nerkę „dorosłych rozmiarów” i grupę 27 dzieci, u których przeszczepiono nerkę dobraną pod względem wielkości stwierdzono, że w czasie 5 lat wielkość nerki i eGFR w drugiej grupie zwiększyły się i były porównywalne z obserwowanymi w pierwszej grupie. Między grupami nie było również różnic, jeśli chodzi o przeżycie przeszczepu, występowanie białkomoczu i częstość odrzucania.[107] Podkreśla to znaczenie doboru dawcy i biorcy nie tylko pod względem wieku, ale także podobieństwa rozmiarów ciała,[13] w tym także porównywalnej powierzchni ciała,[108,109] czego nie uwzględniają obowiązujące w Polsce zasady alokacji narządów w zakresie przeszczepiania nerek.[110] Możliwe jest też, że procesy niszczące przeszczepiony narząd, na przykład odrzucanie, w narządzie o dużych rezerwach czynnego mięszu przebiegają przez dłuższy czas subklinicznie tj. nie towarzyszy mu istotne podwyższenie stężenia kreatyniny, a w związku z opóźnieniem postawienia rozpoznania są trudniejsze do opanowania. Zwracano na to uwagę, co prawda u dzieci otrzymujących cyklosporynę, gdy ostre odrzucanie

zdarzało się częściej i towarzyszyło mu więcej objawów, np. nadciśnienie tętnicze i gorączka.[16] Podkreśla to znaczenie wczesnej interwencji i nie opóźniania podjęcia decyzji o wykonaniu biopsji nerki, tym bardziej, że udowodniono, że wcześniej rozpoznane (w tym także subkliniczne) i leczone ostre komórkowe odrzucanie przeszczepu u małych dzieci nie pogarsza rokowania co do odległej czynności przeszczepu i jego odległego przeżycia.[111]

Stwierdzona w opisanej grupie „stabilność” wartości eGFR, o ile wyjściowo nie były one wysokie ($< 95 \text{ ml/min/1,73m}^2$), również była wykazana u dzieci, jak i dorosłych po transplatacji nerki.[76] Tłumaczy się ją działaniem mechanizmów związanych z hiperfiltracją, odpowiedzialnych za kompensacyjny przerost nerki, które można też zaobserwować u pacjentów po jednostronnej nefrektomii (np. u żywych dawców nerki). Uważa się, że warunkiem ujawnienia się tego zjawiska jest niedopuszczenie do uruchomienia procesów immunologicznych niszczących narząd, głównie przez zapewnienie skutecznego leczenia immunosupresyjnego, ale też odpowiednie dobranie nerki. Z tego powodu zjawisko to rzadko obserwowano w czasach, gdy nie stosowano jeszcze takrolimusu i mykofenolanu mofetylu.[112,113] W przypadku przeszczepienia nerki pobranej od kilkuletniego zmarłego dziecka dodatkowym czynnikiem powodującym utrzymanie stabilnej wartości eGFR, a nawet przyrost jej wielkości masy może być naturalne „wzrastanie” narządu, wynikające z jego potencjału związanego z wiekiem. Porównując zmianę eGFR oraz objętości narządu pobranego od dawcy dorosłego (28-58 lat) i dziecięcego (2-16 lat), do której w grupie 71 dzieci doszło w czasie 12 miesięcy od transplatacji, wykazano niewielkie zmniejszenie eGFR przy zmniejszeniu objętości narządu o 18% w pierwszej grupie i istotne zwiększenie eGFR przy zwiększeniu objętości narządu o 14% w drugiej.[88] Może to tłumaczyć dynamikę zmian eGFR w aktualnie opisywanej grupie chorych, która była zróżnicowana pod względem pochodzenia i stosunku wielkości (masy) narządu i biorcy. Analiza zmian wartości eGFR naszych pacjentów wykazała też istnienie zależności między wartością eGFR w odległej obserwacji, a czynnością przeszczepu w pierwszym półroczu po transplatacji. Zależność ta była liniowa, ale w miarę upływu czasu obserwacji efekt zależny od wyjściowej wartości eGFR miał coraz mniejsze znaczenie, co świadczy o włączaniu się innych czynników. W pierwszym roku po transplatacji wartości eGFR można było w 78% ($R^2 = 0,779$) przypadków tłumaczyć wyjściową wartością eGFR, natomiast po drugim roku po transplatacji już tylko w 32% ($R^2 = 0,318$). To, że odległa czynność przeszczepu nerki u dzieci zależy od wyjściowej wartości eGFR po przeszczepieniu odnotowano także w innych pracach.[84] Na podstawie wyników jednego z dużych badań (grupa 7949 pacjentów), dotyczącego co prawda dorosłych, postuluje się nawet że ubytek eGFR między 1 i 3 rokiem

po transplantacji może być traktowany jako silny predyktor wystąpienia zgonu lub utraty przeszczepu, o dużo większym znaczeniu, niż wystąpienie ostrego odrzucania, podwojenie stężenia kreatyniny w surowicy i sama bezwzględna wartość eGFR w 1 i 2 roku po transplantacji.[114] Prognostyczne znaczenie tempa obniżania się eGFR dla odległych losów przeszczepu i biorcy podkreślają też inni autorzy.[115,116] Zwiększa to wagę działań mających na celu spowolnienie obniżania się eGFR, w tym także ocenianego w obecnej pracy wpływu podwyższenia docelowego stężenia takrolimusu na to zjawisko. Stwierdzona zależność między tempem spadku wartości eGFR i jej wyjściową wartością po przeszczepieniu, której możliwe wyjaśnienie przedstawiono powyżej, została uwzględniona przy tworzeniu modelu opisującego zależność między stężeniem takrolimusu C_0 , a dynamiką zmian wartości eGFR, uniwersalnego dla wszystkich pacjentów.

Średnie stężenie C_0 TAC w grupie opisanych pacjentów po okresie adaptacji, za który przyjęto pierwsze 30 dni po transplantacji, zawsze mieściło się w przedziale referencyjnym 5-10 ng/ml, ale wyraźnie bliżej dolnej jego granicy (poniżej stężenia 7,5 ng/ml), co jest zgodne z danymi z innych publikacji[34,117,118] i świadczy o tym, że leczenie takrolimusem naszych pacjentów nie różniło się istotnie od leczenia w innych ośrodkach. W okresie dobierania właściwej dawki leku, średnie stężenie było bliskie minimalnego zalecanego w tym czasie i wynosiło 10,2 ng/ml. Nie wszyscy biorcy uzyskali w czasie pierwszych 30 dni stężenie C_0 TAC w zakresie 10-15 ng/ml, było to 55% próby. U żadnego z pozostałych pacjentów stężenie nie było mniejsze niż 5 ng/ml. Wykorzystanie w praktyce klinicznej znajomości wcześniej zdefiniowanego profilu genetycznego pacjenta (ekspresji CYP3A5) przy ustalaniu wstępnej dawki, czego nie stosujemy w naszym ośrodku, umożliwiłoby prawdopodobnie skrócenie czasu do osiągnięcia docelowego stężenia i zmniejszenie liczby stężeń odbiegających od zalecanych. Przemawiają za tym wyniki prospektywnego, randomizowanego, kontrolowanego badania klinicznego prowadzonego u dzieci.[119] Istnieją jednak dane z których wynika, że niezależnie od dużych kosztów, poza skróceniem czasu do osiągnięcia właściwej dawki nie wpływa to na odległe rokowanie u dzieci po przeszczepieniu nerki.[120] Umożliwia to bardziej precyzyjne ustalenie wstępnej dawki leku i tłumaczy zróżnicowane „zapotrzebowanie” na lek, czyli stosunek dawki w przeliczeniu na kilogram masy ciała do uzyskanego stężenia, ale nie ma wpływu na same wartości stężenia w odległym okresie po transplantacji. W analizie zmian stężenia takrolimusu w czasie nie stwierdzono żadnej zależności między średnim stężeniem w okresie adaptacyjnym, a stężeniami notowanymi w okresie późniejszym, z czego wynika, że zależały one tylko od bieżącej dawki leku i osiągnięcie założonego zakresu było możliwe u każdego pacjenta. Wykazując, że

w grupie naszych pacjentów, stężenie takrolimusu C_0 przez cały czas obserwacji było skutecznie utrzymywane w zalecanym przedziale 5-10 ng/ml, w dalszych analizach badano zależność wielkości eGFR i stężenia takrolimusu C_0 mieszczącego się w zakresie terapeutycznym, a nie znaczenia stężeń suboptymalnych (< 5 ng/ml) i potencjalnie toksycznych (>10 ng/ml).

Przeprowadzenie wspomnianych analiz było wstępem do zbadania zależności między stężeniem takrolimusu C_0 , a odległą czynnością przeszczepu nerki mierzoną szacowanym wskaźnikiem filtracji kłębuszkowej (eGFR). Analiza dynamiki zmian eGFR w czasie, ze względu na charakter zebranych danych prowadzona była na modelu matematycznym, stworzonym w oparciu o półroczne tj. 180-dniowe okna czasowe. Badano wpływ stężenia leku w dowolnym oknie czasowym na wartość eGFR w dowolnym późniejszym oknie czasowym. Wykazano istnienie zależności między stężeniem takrolimusu C_0 i wartością eGFR. Zależność ta była ujemna, czyli zmniejszenie stężenia leku wiązało się z niższymi wartościami eGFR, ale ta relacja ujawniała się w grupie pacjentów z bardzo dobrą wyjściową czynnością przeszczepu, czyli wysoką wartością eGFR (> 95 ml/min/1,73m²). Ich ogólny udział w badanej grupie wynosił w pierwszym półroczu po transplantacji 32%. Tempo obniżania się wartości eGFR (Δ eGFR) u pacjentów, u których w dowolnym, wcześniejszym, półrocznym okresie średnie stężenie takrolimusu C_0 nie przekraczało 6 ng/ml było wyższe, niż u pacjentów, u których stężenie to przekraczało 6 ng/ml. Wyniki przeprowadzonej w ten sposób analizy wskazują, że obniżenie stężenia takrolimusu wpływa na tempo obniżania się eGFR niezależnie od okresu, w którym następuje (przynajmniej w czasie 5 letniej obserwacji). Wraz ze wzrostem wartości stężenia leku (w zakresie wartości 5–10 ng/ml) tempo spadku eGFR (pogarszania się czynności przeszczepu) zmniejszało się, a zależność ta była liniowa. Wyższe stężenie leku chroniło więc przed postępującym ubytkiem wartości eGFR. Wpływ stężenia leku na zahamowanie tempa spadku eGFR był w grupie dzieci z wyjściową bardzo dobrą czynnością przeszczepu na tyle silny, że ujawnił się niezależnie od wpływu innych czynników. U pozostałych pacjentów, z wyjściowym eGFR < 95 ml/min/1,73m², co w naszej analizie dotyczyło grupy ze „średnią” (odpowiednio 75-90 ml/min/1,73m²) i niską (<75 ml/min/1,73m²) wartością tego wskaźnika, stanowiących ok 2/3 badanej populacji, zmiana wielkości eGFR nie zależała od stężenia leku.

W analizie danych z piśmiennictwa dotyczących zależności między eGFR i stężeniem takrolimusu C_0 nie zidentyfikowano prac, w których odnoszono by się do wykazanych

w analizie różnic u pacjentów z różną wyjściową czynnością przeszczepu. Zgodnie z moją wiedzą jest to pierwsza praca, w której wykazano taką zależność.

Biorąc pod uwagę fakt, że pogorszenie czynności nerki może następować z pewnym opóźnieniem od narażenia pacjenta na nieadekwatne, zbyt niskie stężenie takrolimusu, a wstępny model zakładał ujawnienie się pogorszenia czynności przeszczepu w czasie dowolnych, następnych 6 miesięcy, przeprowadzono kolejną analizę. Założono, że aktywacja mechanizmów immunologicznych, w tym powstawanie i narastanie miana przeciwciał DSA oraz humoralnych procesów niszczenia narządu wymaga dłuższego czasu i może „z opóźnieniem” przekładać się na pogorszenie czynności przeszczepu, gdy stężenia leku będą już wyższe. Hipotezę tę potwierdzają wyniki badania, w którym obecność dnDSA stwierdzano u pacjentów z prawidłowym obrazem narządu w badaniu biopsyjnym, jak też obecność zmian typowych dla odrzucania zależnego od przeciwciał (AMR) o powolnym przebiegu i bez istotnego pogorszenia czynności graftu (ang. *indolent AMR*).[121] Przemawiają za tym również obserwacje dotyczące występowania subklinicznego odrzucania w protokolarnych biopsjach u dzieci[122] oraz wyniki badania dotyczącego odstawienia takrolimusu u starannie dobranych pacjentów dorosłych o niskim ryzyku immunologicznym leczonych trójlekowym schematem immunosupresji (CS + TAC + MMF) z indukcją surowicą poliklonalną. Badanie to przerwano, przywracając leczenie takrolimusem z powodu nieakceptowalnego zwiększenia przypadków ostrego odrzucania potwierdzonych w biopsji (4 na 14 pacjentów) i pojawienia się przeciwciał dnDSA (u 5 na 14 pacjentów), u których odstawiono lek. W czasie 24 miesięcznej obserwacji czynność nerki przeszczepionej mierzona eGFR w grupie pacjentów, u których próbowano odstawić takrolimus i pacjentów kontynuujących leczenie tym lekiem bez przerwy nie różniła się.[123]

Za słusznością tej hipotezy przemawiają też wspomniane już obserwacje o możliwości subklinicznego przebiegu procesów odrzucania u biorców pediatrycznych z dużą rezerwą („nadmiarem”) miąższu nerkowego. Zmieniono model tak, by możliwe stało się zbadanie wpływu stężenia C_0 TAC na czynność przeszczepu, ocenioną po co najmniej roku od oznaczenia stężenia. Dodatkowa analiza potwierdziła istnienie stwierdzonej wcześniej uniwersalnej zależności między szybkością obniżania się wartości eGFR z wysokich wartości (>95 ml/min/1,73m²) i stężeniem leku C_0 (im większe stężenie leku w zakresie 5-10 ng/ml, tym większe zahamowanie spadków z wartości wysokich) i istnienie korelacji między stężeniem leku i ostateczną wartością eGFR. Oznacza to, że informacja o stężeniu leku i wartości eGFR w danym okresie pozwala nie tylko zidentyfikować pacjentów narażonych na większy ubytek eGFR (jak wiadomo, są to pacjenci z wysokim wyjściowym eGFR,

u których stężenie leku w którymkolwiek okresie po transplantacji było ≤ 6 ng/ml), ale też prognozować na ich podstawie, jaka u danego pacjenta będzie wartość eGFR w perspektywie dłuższej niż jeden rok. Przykładowo, jeśli eGFR pacjenta wyjściowo wynosi > 95 ml/min/1,73m², a średnie stężenie takrolimusu $C_0 \leq 6$ ng/ml, to oczekiwana po roku wartość eGFR będzie przeciętnie niższa o 15 ml/min/1,73m², a jeśli stężenie takrolimusu C_0 będzie > 8 ng/ml, to wartość ta będzie niższa przeciętnie o 10,8 ml/min/1,73m². Upoważnia to do sformułowania tezy, że „optymalnym” zakresem C_0 TAC u takich chorych jest przedział 6-10 ng/ml. Wyniki te przemawiają za znaczeniem stałego utrzymywania stężeń takrolimusu nie niższych niż 6 ng/ml (niedopuszczaniem do jego obniżania), również w odległym okresie po transplantacji u wszystkich pacjentów. Inaczej ujmując, nadmierna „minimalizacja” stężeń takrolimusu grozi postępującym pogarszaniem czynności przeszczepu. Jak wspomniano, analiza dynamiki zmian eGFR między poszczególnymi oknami czasowymi, nie uwzględniała wpływu innych, występujących w tym samym czasie zróżnicowanych czynników. Ich złożony wpływ stanowił tło do ujawnienia się znaczenia samego stężenia leku. Wyniki obecnej analizy sugerują, że nadmierna minimalizacja immunosupresji (obniżenie stężenia takrolimusu) stanowi zagrożenie w odniesieniu do odległej czynności przeszczepu nerki szczególnie dla tej grupy pacjentów, która „intuicyjnie” uznawana jest za grupę niskiego ryzyka utraty i pogarszania czynności przeszczepu. Chorzy z bardzo dobrą czynnością przeszczepu, szczególnie po przeszczepieniu nerki od dawcy żywego, nawet jeśli nie występują u nich czynniki zwiększające ryzyko immunologiczne, np. wysoki stopień uczulenia, obecność przeciwciał DSA, słaby dobór immunologiczny, utrata poprzedniego przeszczepu w mechanizmie odrzucania humoralnego nie powinni więc być traktowani bardziej liberalnie niż pozostali, jeśli chodzi o zakres akceptowalnych stężeń C_0 TAC i częstotliwość wizyt. U nich właśnie korzyść z nie narażenia na zbyt „słabą” immunosupresję w odległym okresie po transplantacji w odniesieniu do utrzymania dobrej czynności przeszczepu może być największa.

Można więc oczekiwać, że niewielka zmiana dotychczasowej praktyki przez podniesienie dolnego zakresu akceptowalnych stężeń C_0 takrolimusu (nawet z 5 do 6 ng/ml) może ograniczyć spadek wartości eGFR obserwowany w grupie pacjentów z bardzo dobrą wyjściową czynnością przeszczepu, a zapewnienie jeszcze wyższych stężeń może dodatkowo zwalniać tempo tego spadku.

Aby zbadać, jakie konsekwencje kliniczne w odniesieniu do zachowania się wskaźnika filtracji kłębuszkowej eGFR miałyby wprowadzenie tej zmiany przeprowadzono szereg symulacji komputerowych. Wykorzystując dane na temat stężeń takrolimusu C_0 i wartości

eGFR (zebrane retrospektywnie w grupie rzeczywistych pacjentów, która jak wspomniano była reprezentatywną, losową próbką pacjentów przeszczepianych w tym czasie w naszym ośrodku) i uwzględniając zależności między zmiennymi stwierdzone we wcześniejszych analizach, wygenerowano 10000 wirtualnych krzywych przebiegu eGFR (pacjentów), dla różnych scenariuszy. W scenariuszach tych przyjęto różną wyjściową wartość eGFR i różny (ale ustalony przez nas dowolnie) rozkład stężeń takrolimusu w całym okresie obserwacji. Symulacje, pozwoliły odpowiedzieć na pytanie, czego można by oczekiwać, gdyby hipotetyczny (wirtualny) pacjent osiągał zawsze, przez cały czas obserwacji, założone przez nas z góry stężenia leku. Jest to oczywiście nierealne, ze względu choćby na częsty wśród młodzieży brak adherencji, jak i wpływ innych, omawianych już czynników na zmienność stężenia takrolimusu. Przeprowadzenie symulacji pozwala jednak ocenić prawdopodobieństwo wystąpienia pewnych zdarzeń w optymalnych warunkach.

I tak, gdyby stężenie takrolimusu C_0 u pacjenta stale było ≤ 6 ng/ml, a wyjściowa wartość eGFR wynosiła 110 ml/min/1,73m², to prawdopodobieństwo tego, że wartość eGFR po 2,5 roku od przeszczepienia będzie przekraczać 80 ml/min/1,73m² wynosi tylko 57%. Jeśli stężenie takrolimusu byłoby stale wyższe i wynosiło ok. 8 ng/ml to prawdopodobieństwo to wzrasta do 94%. Gdy wyjściowy eGFR pacjenta jest wysoki (w tym przypadku wynosi 110 ml/min/1,73m²) zachowanie się eGFR w zależności od stężenia leku jest przewidywalne dla dużego odsetka pacjentów dla każdego zakresu stężeń. Znając stężenie leku, z dużą pewnością możemy przewidywać (prognozować) jak w przyszłości zmieniać się będzie czynność nerki. Sugeruje to możliwość zdefiniowania „bezpiecznego” minimalnego progu stężenia C_0 TAC.

Wyniki podobnej symulacji dotyczącej zmian eGFR z wartości o „średnim” poziomie (przyjęto wartość 80 ml/min/1,73m², bliską przeciętnej w całej grupie) sugerują, że u pacjentów utrzymujących stale wyższe stężenia leku nie można oczekiwać zahamowania spadków wartości eGFR. Nie było większych różnic między pacjentami, u których stale średnie stężenie takrolimusu było ≤ 6 ng/ml i tymi, u których przekraczało 8 ng/ml. Prawdopodobieństwo utrzymania wartości eGFR ponad 70 ml/min/1,73m² oszacowano u nich na ponad 60%. Uwagę zwraca natomiast bardzo duże zróżnicowanie przebiegu krzywych eGFR tych „wirtualnych” pacjentów, u których założone przez nas stężenia leku w całym okresie obserwacji są bardzo zmienne (przeciętne stężenia w granicach 6-7 i 7-8 ng/ml, z dużym udziałem różnych przedziałów stężeń). W przypadku tych pacjentów, nie tylko wyraźnie mniejsze jest prawdopodobieństwo utrzymania po 5 latach wartości eGFR powyżej 70 ml/min/1,73m² (tylko 50% wirtualnych pacjentów), ale też bardzo trudno jest przewidzieć,

jak będzie zmieniała się wartość eGFR (nie widać wiązki typowych, czyli występujących z większym prawdopodobieństwem trajektorii eGFR). Zmienność wartości eGFR pogarsza więc w tej grupie rokowanie co do utrzymania dobrej czynności nerki.

Symulacja, prowadzona w oparciu o retrospektywnie zebrane dane rzeczywiste, wskazuje na niepewne rokowanie co do utrzymania w przyszłości dobrej czynności nerki w grupie pacjentów z niestabilnymi stężeniami takrolimusu. Wyniki te potwierdzają znaczenie nie tylko utrzymania stężeń leku w określonym przedziale, ale także ich stabilności. Prognozowane w symulacji zachowanie się eGFR znajduje potwierdzenie w publikowanych wynikach badań i obserwacji. Istnieje bardzo dużo doniesień wskazujących na to, że wysoka zmienność (zróznicowanie) stężeń takrolimusu, której przyczyna zwykle nie jest pewna, pogarsza rokowanie pacjenta po transplantacji (zarówno dziecka, jak i dorosłego) w zakresie prawie wszystkich parametrów opisujących odległe rokowanie, w tym także czynności nerki.[124] U pacjentów z wysoką zmiennością stężeń (wyrażoną jako wartość SD[51], wskaźnik CV(%),[125,126] czy też wskaźnik IPV[127,128,129,130,131]) opisuje się zwiększenie częstości występowania ostrego odrzucania,[127] późnego odrzucania,[51,125,129] zwiększenie tempa ubytku eGFR,[127,129] utraty przeszczepu,[51,127,128,129,126,131,132] wystąpienia i narastania miana przeciwciał DSA,[64,126] pojawienia się i zwiększenia nasilenia zmian histopatologicznych w protokolarnych biopsjach przeszczepionej nerki.[130,131]

Istnieje wiele przyczyn dużego zróznicowania stężeń takrolimusu u danego pacjenta, czyli tzw. zmienności wewnątrzsobniczej (IPV – *intra patient variability*), których część jest niezależna (np. częste biegunki u małych dzieci), a część zależna od samego pacjenta (np. przypadkowe, lub celowe nie przyjmowanie dawek leków). Zostały one szczegółowo opisane we wstępie. W kontekście pacjentów dziecięcych największe znaczenie ma brak adherencji, ze względu na częstość występowania oraz problemy z jej wykryciem i opanowaniem, szczególnie gdy dotyczy nastolatków. Opisano wiele działań, mających na celu ograniczanie niestabilnych stężeń, porównywano ich skuteczność oraz oceniano wpływ na wspomniane wyżej parametry rokownicze. Ich analiza nie była przedmiotem pracy, podkreślić jednak należy, że mimo wielu starań nie wypracowano standardu postępowania, który byłby powszechnie stosowany w ośrodkach transplantacyjnych. Sam problem braku adherencji pozostaje nierozwiązany nie tylko w transplantologii, ale także w innych dziedzinach medycyny.

Niestabilność, niezależnie od metody jej wyrażania oznacza, że stężenia leku wahają się między wysokimi i niskimi. Niekorzystny efekt w odniesieniu do eGFR prawdopodobnie wynika głównie z powtarzających się spadków wartości C_0 stężeń poniżej optymalnego dolnego zakresu. Jak wykazano w analizie danych dotyczących grupy naszych pacjentów, obniżenie stężenia TAC poniżej bezpiecznego progu wywiera swój efekt w odległym okresie po transplantacji. Powtarzanie się tej sytuacji u pewnych pacjentów może ten efekt zwiększać. Za takim rozumowaniem przemawia fakt, że duża zmienność u pacjentów z wyjściowymi niskimi stężeniami, np. w wyniku celowej minimalizacji leczenia takrolimusem, dodatkowo pogarsza rokowanie co do utrzymania czynności przeszczepu.[127] Jest to jedno z zagrożeń minimalizacji immunosupresji.

Można więc z dużym prawdopodobieństwem przyjąć, że opisana symulacja przedstawia losy niewspółpracującego z lekarzem nastolatka, u którego stężenia leku są bardzo różne i nie udaje się ich ustabilizować mimo podejmowania różnych prób. Przeprowadzenie symulacji jako uzupełnienie analizy danych retrospektywnych pozwoliło oszacować potencjalne korzyści dla pacjentów wynikające z podniesienia dolnego progu dopuszczalnych stężeń, ale też zwróciło uwagę na skutki niestabilności stężeń, bez względu na jej przyczynę. W dyskusji nie można odnieść się do wyników podobnych symulacji wykorzystujących analizę dynamiki zmian eGFR w czasie z zależności od zmian stężenia takrolimusu C_0 i wyjściowej czynności przeszczepu. Wszelkie analizy, przytoczone w dalszej części dyskusji, prowadzone były metodami oceny regresji, których wyników nie można użyć do przeprowadzenia symulacji zmian w czasie. Na efekt hamowania spadku eGFR pod wpływem wyższych stężeń takrolimusu C_0 zwracali uwagę już inni autorzy, niemniej nie wiązano go z wyjściową wartością tego wskaźnika.[133,134] W grupie 48 dzieci, uzyskanie wyższego stężenia TAC C_0 (szczególnie, gdy w czasie pierwszych trzech miesięcy po przeszczepieniu przekraczało ono 10 ng/ml) wiązano ze zwolnieniem tempa spadku eGFR ($r=0,608$, $p=0,004$) i zmniejszeniem ryzyka niewydolności przeszczepu po 5 latach. Autorzy sugerują nawet, że stężenie powinno być utrzymywane bliżej górnej wartości zalecanego zakresu, ale nie precyzują w jakim czasie i postulują przeprowadzenie dalszych badań na ten temat.[135] Z obserwacji na dużej grupie pacjentów dorosłych nie wynika jednak, by utrzymywanie stężenia TAC C_0 wynoszącego > 6 ng/ml zapewniało pacjentom jakiegokolwiek korzyści w odniesieniu do czynności przeszczepu, jak i jego przeżycia, niezależnego od innych zmiennych.[136] W opisanej grupie naszych pacjentów dotyczyło to tylko tych, u których wyjściowa wartość eGFR nie była wysoka, to jest wynosiła mniej niż $95 \text{ ml/min/1,73m}^2$.

Analizując potencjalny mechanizm wykazanego w analizie efektu hamowania spadku eGFR z wartości wysokich wraz ze wzrostem stężenia takrolimusu pod uwagę należy wziąć między innymi skuteczność immunosupresyjnego działania samego leku i opisywane już wiele lat temu przypadki opanowania ostrego, opornego na leczenie odrzucania przeszczepu nerki „ratunkową” konwersją z cyklosporyny A na takrolimus.[137] W doniesieniach tych nie analizowano jednak samego stężenia leku. Możliwe jest, że obserwujemy nakładanie się na siebie opisywanego wyżej i niemożliwego do skorygowania obniżania się eGFR z powodów nieimmunologicznych i zahamowania procesów immunologicznych, bez którego tempo spadków byłoby większe. Jak już wspomniano, epizod odrzucania przeszczepu o dużej rezerwie mięszu może przez dłuższy czas przebiegać subklinicznie.[16] Wypadkową tych efektów byłoby właśnie stwierdzone zwolnienie tempa spadku eGFR pod wpływem wyższych stężeń C_0 takrolimusu. Przemawia za tym także wykazanie, że nadmierna minimalizacja stężeń inhibitorów kalcyneuryny zwiększa ryzyko pojawienia się przeciwciał dnDSA, również w grupie pacjentów o niskim ryzyku immunologicznym.[62,63,64] W grupie pacjentów z niskim ryzykiem immunologicznym, nadmierna redukcja ekspozycji na takrolimus (stężenie $C_0 < 7$ ng/ml już po 30 dniach od transplantacji) wiązała się w wystąpieniem subklinicznych (stwierdzonych w protokolarnej biopsji zmian zapalnych w grafacie) w 3 miesiącu i istotnym zwiększeniem częstości zmian typu IF/TA w 24 miesiącu po transplantacji.[138] Na ryzyko związane z nadmierną i zbyt szybką minimalizacją stężeń takrolimusu wskazują także wyniki badania obserwacyjnego na grupie 3402 biorców nerki lub nerki i trzustki z pięciu ośrodków w USA i dwóch z Kanady. Analiza zależności między stężeniami C_0 takrolimusu uzyskiwanymi w różnym czasie po transplantacji, a częstością ostrego odrzucania w 6 miesiącu wykazała istnienie korelacji między stężeniem leku w 3 miesiącu, a ryzykiem odrzucania w 6 miesiącu. Obniżenie stężenia C_0 o każdy 1 ng/ml wiązało się ze zwiększeniem ryzyka odrzucania o 7,2%.[139]

Uwzględniając opisywany wcześniej w literaturze wpływ znanych cech charakterystyki biorcy i dawcy na odległą czynność i przeżycie przeszczepu nerki u dzieci[86] w obecnej pracy badano, w jaki sposób modyfikują one stwierdzoną zależność między stężeniem leku, a tempem spadku eGFR. Analizowano wpływ czasu zimnego niedokrwienia (CIT), sumy niezgodności w układzie HLA, wieku biorcy w czasie przeszczepiania, czasu trwania choroby, czasu dializoterapii przed przeszczepieniem, czasu oczekiwania na przeszczepienie, czasu hospitalizacji po przeszczepieniu, wieku w chwili rozpoznania choroby, wartości eGFR dawcy i lekarza prowadzącego biorcę. Tę ostatnią zmienną wprowadzono w związku z wynikami obserwacji z jednego z dziecięcych ośrodków transplantacyjnych, że

dodatkowym powodem zmienności stężeń leku może być pewna dowolność w modyfikacji dawek leku przez różnych lekarzy w zależności od uzyskiwanych stężeń, przy braku jednolitych wytycznych, czy też specjalnego kalkulatora.[52] Uznano, że nie można wykluczyć jej modyfikującego wpływu również na zależność stwierdzoną w analizie naszych danych.

Ocena potencjalnego znaczenia różnych czynników klinicznych wykazała, że tylko liczba niezgodności w układzie HLA modyfikuje (w analizie statystycznej) zależność TAC C_0 i Δ eGFR ($p=0,0208$). Wraz ze zwiększeniem się liczby niezgodności HLA malała wielkość różnicy (Δ) eGFR, a zmiana ta wynosiła $-0,7104$ na każdy wzrost liczby niezgodności o jedno odchylenie standardowe ($\beta_{stand}=-0,7104$; $R^2=3,44\%$). Oznacza to, że zwiększenie liczby niezgodności w układzie HLA (czyli zły dobór immunologiczny nerki) zwiększało tempo spadku eGFR, a utrzymywanie wyższych stężeń takrolimusu u pacjentów ze źle dobraną nerką było mniej skuteczne w tym zakresie.

Po uwzględnieniu w dalszej analizie znaczenia niezgodności HLA w modyfikacji zależności między TAC C_0 i eGFR wykazano, że u pacjentów z dobrze dobraną nerką korzyści z utrzymania wyższych stężeń takrolimusu (> 6 ng/ml) ujawniły się już przy przeciętnych ($75-95$ ml/min/1,73m²) i niskich (<75 ml/min/1,73m²) wyjściowych wartościach eGFR. Niemniej, dodatkowa analiza wykazała, że wpływ opisanej zależności (niedoboru HLA na interakcję między stężeniem leku i delta eGFR) jest niewielki, bowiem w ok. 90% interakcja ta zależy od stężenia leku. Wiele opublikowanych danych (nie analizujących *nota bene* znaczenia szczegółowo zdefiniowanego stężenia leków immunosupresyjnych) wskazuje na to, że dobór przeszczepu w zakresie antygenów HLA nadal ma istotne znaczenie dla losów przeszczepionego narządu, niezależnie od stosowania nowoczesnego leczenia immunologicznego.[140] Potwierdzają to także wyniki jednej z prac rejestrowych, z których wynika, że zły dobór immunologiczny (zarówno liczba zgodnych antygenów, jak też liczba niezgodności w układzie HLA) w grupie 96236 biorców przeszczepu okazał się niezależnym i silnym predyktorem wystąpienia ostrego odrzucania przeszczepu, opóźnienia jego czynności i utraty.[141] Podobnie, w grupie 178 dzieci po transplantacji nerki, niezgodność w zakresie antygenów HLA DR stanowiła czynnik ryzyka wystąpienia ostrego odrzucania (OR 1,7), co z kolei wiązano z utratą przeszczepu i wysokim stopniem uczulenia pacjenta po jego utracie. Uniknięcie tej sytuacji i prawdopodobieństwo znalezienia dawcy z brakiem niezgodności HLA DR uznano na bardzo małe.[142] Wpływ doboru HLA na przeżycie nerek pobranych od dawców zmarłych utrzymał swoje znaczenie przez ostatnich 20 lat obserwacji, niezależnie od istotnego postępu w leczeniu immunosupresyjnym i ograniczenia czasu niedokrwienia

przeszczepu.[143] Z obserwacji dużej grupy dorosłych po kolejnych przeszczepieniach nerki, wynika jednak, że narażenie pacjenta przy kolejnym przeszczepieniu na kontakt z antygenami obecnymi u poprzedniego dawcy pogarsza rokowanie tylko wtedy, gdy u biorcy przed transplantacją, mimo ujemnej próby krzyżowej, stwierdza się przeciwciała DSA.[144] U wszystkich pacjentów stosowano jednak indukcję przeciwciałami anti-ILR2 i anti-CD52. Obowiązujący w Polsce system alokacji narządów nie dopuszcza do retransplantacji nerki o antygenach HLA powtarzających się z poprzednim dawcą, jak też w razie obecności wysokiej wartości MFI (>5000) przeciwciał DSA.[110] Przypomnieć należy, że w naszej grupie pacjentów dobór immunologiczny nie był optymalny. Pełnej zgodności (brak niezgodnych antygenów HLA) nie stwierdzono u żadnego pacjenta, niezgodność 3 i więcej antygenów wystąpiła u ponad 79,7% pacjentów, a aż 7,4% próby wykazywała pełną niezgodność w zakresie badanych 6 antygenów HLA, co także jest skutkiem obowiązujących zasad alokacji, przyznających pierwszeństwo dostępu biorców dziecięcych do nerek pobranych od dzieci, co skraca czas oczekiwania na przeszczepienie kosztem potencjalnie gorszego doboru nerki.

Inne badane cechy kliniczne, analizowane tymi samymi testami statystycznymi, nie wykazały żadnego wpływu na stwierdzoną zależność między stężeniem TAC, a zmianą eGFR w czasie. Potencjalne korzyści z utrzymania wyższego stężenia takrolimusu dotyczą więc wszystkich pacjentów, niezależnie od liczby zgodności i innych analizowanych cech.

Jak wspomniano, celem pracy była ocena, czy odległa czynność przeszczepu nerki u dzieci zależy od uzyskiwanych stężeń takrolimusu oznaczanych przed kolejną dawkę. Wykazano istnienie zależności i „ochronną” rolę wyższych stężeń (ale nadal w zalecanych granicach) przed postępującym w czasie obniżaniem się wartości eGFR. W analizie nie odnoszono się do kwestii bezpieczeństwa takiego postępowania w aspekcie narażenia pacjenta na „silniejszą” immunosupresję. Pojawia się więc pytanie, czy akceptacja nawet nieznacznie wyższych stężeń C_0 będzie dla pacjentów w dłuższej perspektywie bezpieczna? Wiadomo, że wieloletnie narażenie na działanie leków hamujących aktywność układu immunologicznego wiąże się ze zwiększeniem częstości występowania i ciężkiego przebiegu nieswoistych powikłań takiego leczenia, jak zakażenia i choroby rozrostowe. Podobnie niewiele jest danych potwierdzających występowanie działań niepożądanych i toksyczności takrolimusu w zakresie terapeutycznym tj. 5-10 ng/ml. Większość obserwacji na ten temat pochodzi z pierwszych lat stosowania leku kiedy akceptowane stężenia C_0 były znacznie wyższe, niż obecnie. Większą częstość przypadków neurotoksyczności, nefrotoksyczności i zakażeń zgłaszano przy stężeniach > 30 i 20-30 ng/ml, stężenia < 10 ng/ml uznając za

bezpieczne.[145] Nieakceptowalna częstość występowania działań toksycznych (głównie ze strony przewodu pokarmowego i układu nerwowego) dotyczyła też pacjentów pediatrycznych po transplantacji nerki i była powodem ograniczenia zakresu stężeń terapeutycznych w odległym okresie najpierw do 5-15 ng/ml[57], a następnie do 5-10 ng/ml.[56] Wiązanie jednego z częstych działań niepożądanych, jakim jest nefrotoksyczność ze stężeniem takrolimusu, szczególnie w zakresie wartości uznawanych za optymalne, dodatkowo komplikuje fakt, że w miarę postępu wiedzy na temat humoralnych mechanizmów odpowiedzi immunologicznej zmieniła się interpretacja obrazu biopsji przeszczepionego narządu, na podstawie którego rozpoznawano to działanie. Cechy przypisywane nefrotoksyczności takrolimusu związanej ze zbyt wysokimi stężeniami leku, obecnie uważa się za typowe dla przewlekłego humoralnego odrzucania przeszczepu, czyli skutku zbyt słabej immunosupresji, za czynnik ryzyka której uznaje się zbyt niskie stężenie tego leku. Z tego powodu krytycznie należy spojrzeć na publikacje sprzed lat, w których częstość występowania nefrotoksyczności opartej na wynikach biopsji była wysoka. Wydaje się też, że występowanie niektórych działań niepożądanych w większym stopniu zależy od swoistej podatności pacjenta (np. rodzinne występowanie cukrzycy i nowotworów) i mechanizmu działania leku na układ immunologiczny, niż samego stężenia leku. W jednym z badań, dotyczącym co prawda pacjentów dorosłych, z wystąpieniem cukrzycy we wczesnym okresie po transplantacji nerki związek miało genetyczne podłoże (obecność genotypu *VDR TaqI* *Tt lub Tt*), ale już nie wielkość ekspozycji na takrolimus ani dawka steroidów.[146] Inni autorzy postulują jednak, że ryzyko wystąpienia cukrzycy potransplantacyjnej zwiększa nie tylko wiek (>40 lat), stopień otyłości, ale też stężenie takrolimusu w 3 miesiącu po transplantacji przekraczające 10 ng/ml.[147] Wątpliwości, co do związku ekspozycji na lek z wystąpieniem swoistych działań nie rozwiały również wyniki badania specjalnie zaprojektowanego w tym celu. Oceniano w nim w dużej grupie dorosłych pacjentów po transplantacji nerki zależność występowania wystandaryzowanych (ilościowo i jakościowo) wg. specjalnej skali opracowanej na potrzeby badania, pozanerkowych działań niepożądanych takrolimusu (wymiotów, biegunki, dyspepsji, bólów głowy, bezsenności, drżenia mięśniowego, trądziku, zmian skórnych, hirsutyizmu, przerostu dziąseł, miopatii, cukrzycy, hiperlipidemii, hipercholesterolemii, podwyższenia stężenia HDL, LDL i trójglicerydów) i ekspozycji na lek mierzonej zarówno polem pod krzywą stężenia (AUC) jak i stężeniem C_0 takrolimusu. Wykazano, brak jakiegokolwiek zależności każdego z tych działań ze stężeniem C_0 leku, a wystąpienie biegunki, dyspepsji i bezsenności korelowało wyłącznie z wartością AUC.[148] W naszym materiale, do odstawienia takrolimusu z powodu działań niepożądanych (małopłytkowość, drgawki, cukrzyca, hipetransaminazemia) w większości przypadków

doszło we wczesnym okresie po transplantacji (pierwsze dni), czyli w okresie dobierania właściwej dawki leku, a takich pacjentów nie objęto z tego powodu analizą. Działania te nie były więc skutkiem przewlekłego narażenia na działanie takrolimusu. U pacjentów po transplantacji serca lub płuca, u których konieczna jest silniejsza immunosupresja i akceptowane są wyższe stężenia C_0 takrolimusu, ostre i przewlekłe uszkodzenie nerek, zwykle we wczesnym okresie po transplantacji, zdarza się częściej. W obserwacji 685 dorosłych biorców serca trwającej przeciętnie 8,6 lat, u 121 (19,7%) doszło do schyłkowej niewydolności nerek.[149] Autorzy pracy są jednak ostrożni w interpretacji zależności między stężeniem takrolimusu a ryzykiem wystąpienia schyłkowej niewydolności nerek. Analiza danych z piśmiennictwa z lat 2009-2019 tj. okresu między opublikowaniem pierwszego[56] i drugiego[55] raportu ekspertów dotyczącego zaleceń co do prowadzenia leczenia takrolimusem doprowadziła do zrewidowania zakresu stężeń u dzieci po transplantacji serca i płuc, w oparciu o nowe dane na temat ryzyka uszkodzenia nerek przy stężeniach przekraczających 15 ng/ml. Jak już wspomniano, autorzy tego raportu nie zidentyfikowali, o czym wyraźnie piszą, żadnych wiarygodnych badań, które sugerowały obniżenie górnego zakresu stężeń terapeutycznych u dzieci po transplantacji nerki z powodów bezpieczeństwa.[55] Nie zidentyfikowano też żadnych sygnałów dotyczących bezpieczeństwa w prowadzonych w tym czasie badaniach klinicznych. Uwzględniając wszystkie podane wyżej informacje nie można oszacować, jaki wpływ na ogólne ryzyko powikłań związanych z leczeniem takrolimusem może mieć podwyższenie dolnego zakresu akceptowanych stężeń z 5 do 6 ng/ml, którego celem jest „ochrona” pacjenta przed pogarszaniem się czynności nerki przeszczepionej, zwiększenie tego ryzyka jest jednak bardzo mało prawdopodobne.

Analiza ta dotyczyła danych klinicznych reprezentatywnej próby losowej dzieci po transplantacji nerki i odnosiła się do rzeczywistej sytuacji, bez wykluczenia pacjentów po transplantacji nerki nie spełniających innych kryteriów niż leczenie takrolimusem monitorowane stężeniem leku we krwi. Dzięki temu wykazane zależności są bezwarunkowe, to znaczy, że odnoszą się do wszystkich pacjentów. Dane odzwierciedlały zróżnicowanie cech klinicznych, czynników wpływających na czynność narządu po transplantacji oraz zróżnicowany stopień subordynacji pacjentów (np. co do przyjmowania leków i stosowania się do innych zaleceń). W pracy wykorzystano powszechnie stosowane i łatwo dostępne parametry oceny nasilenia immunosupresji (stężenie TAC C_0) i czynności przeszczepu (eGFR wyliczony na podstawie stężenia kreatyniny w surowicy). Analiza dynamiki zmian czynności nerki w całym okresie obserwacji na podstawie pełnych danych (wszystkich oznaczonych wartości obu parametrów) umożliwiła przeprowadzenie symulacji komputerowych

prognozujących potencjalne korzyści kliniczne. Retrospektywny charakter analizy uniemożliwił ocenę wpływu innych, zmiennych w czasie i niemożliwych do zidentyfikowania czynników na odległą czynność przeszczepu nerki.

WNIOSKI

Wniosek podstawowy

Stężenie C_0 takrolimusu, czyli oznaczane przed podaniem kolejnej dawki wykazuje niezależny od innych czynników wpływ na odległą czynność przeszczepionej nerki, ocenianą wartością szacowanego wskaźnika przesączania kłębuszkowego (eGFR) u chorych z wysokimi wyjściowymi wartościami tego wskaźnika.

Wnioski dodatkowe

- 1) Zawężenie zakresu docelowego stężenia C_0 takrolimusu wynoszącego w leczeniu podtrzymującym 5-10 ng/ml, przez podwyższenie jego dolnego progu może zapewnić korzyści w odniesieniu do odległej czynności przeszczepu nerki polegające na zmniejszeniu tempa obniżania się eGFR.
- 2) Utrzymanie stężeń C_0 takrolimusu > 6 ng/ml zmniejsza tempo pogarszania się czynności przeszczepu u pacjentów z bardzo dobrą jego wyjściową czynnością (eGFR > 95 ml/min/1,73m²), co oznacza, że unikanie nadmiernej „minimalizacji” leczenia takrolimusem może chronić ich przed postępującym w czasie ubytkiem wartości eGFR.
- 3) Wykazano, że zahamowanie spadku wielkości eGFR (zależne od stężenia leku > 6 ng/ml), było tym większe, im lepiej dobrana była nerka. Niemniej, efekt niedoboru HLA miał niewielkie znaczenie dla całości tej zależności, za którą w ok. 90% odpowiada stężenie leku.

SPIS RYCIN I TABEL

RYCINY:

Rycina 1. Schematyczne przedstawienie "punktu uchwytu" różnych leków immunosupresyjnych	21
Rycina 2. Udział poszczególnych leków immunosupresyjnych w schematach immunosupresji podtrzymującej u dzieci po transplantacji nerki	23
Rycina 3. Schemat wewnątrzkomórkowego działania takrolimusu	24
Rycina 4. Szczegółowy rozkład przyczyn wyłączenia pacjentów z analizy na podstawie kryteriów wykluczenia.	35
Rycina 5. Przyczyny zakończenia obserwacji pacjentów biorących udział w analizie ...	37
Rycina 6. Wartości eGFR u 94 biorców zmierzone w kolejnych dniach od przeszczepienia.	65
Rycina 7. Średnia ruchoma wartości eGFR w oknach 180 dniowych, licząc od 31 dnia od przeszczepienia.	65
Rycina 8. Średnia wartość eGFR dla każdego biorcy w czasie obserwacji oraz maksymalny poziom eGFR uzyskany w pierwszych 30 dniach po przeszczepieniu.	67
Rycina 9. Względne wartości eGFR w czasie w odniesieniu do średniej wielkości eGFR w pierwszych 180 dniach.	68
Rycina 10. Zależność pomiędzy średnimi wartościami eGFR w okresie 30 – 210 dni po przeszczepieniu (oś X) a średnimi wartościami eGFR w okresie A: 210 – 390 dni po przeszczepieniu i B: w okresie 750 – 930 dni po przeszczepieniu (oś Y).	70
Rycina 11. Wartości przeciętne C_0 TAC wygładzone metodą średniej ruchomej w oknach 180-dniowych.	71
Rycina 12. Przeciętna wartość C_0 TAC w próbie 94 biorców wygładzona metodą średniej ruchomej z oknem 180-dniowym.	71
Rycina 13. Średnia wartość stężenia takrolimusu dla każdego biorcy w 180-dniowych oknach czasowych po przeszczepieniu oraz stężenie uzyskane w pierwszych 30 dniach po przeszczepieniu.	73

Rycina 14. Średnie wartości różnic wielkości eGFR między dwoma dowolnymi półroczami po przeszczepieniu, w zależności od średniej wartości eGFR w półroczu wcześniejszym (K_{start}) i od niższego z dwóch wielkości stężenia C_0 TAC w tych półroczach.	80
Rycina 15. Średnie wartości różnic wielkości eGFR między dwoma dowolnymi półroczami po przeszczepieniu, w zależności od średniej wartości eGFR w półroczu wcześniejszym (K_{start}) i od niższego z dwóch stężeń C_0 TAC w tych półroczach, z uwzględnieniem stopnia niezgodności w układzie HLA między biorcą i dawcą.	84
Rycina 16. Przykładowe trajektorie średnich wartości eGFR w okresie 5 lat po przeszczepieniu w zależności od rozkładu stężeń takrolimusu – model ze średnią wartością eGFR w pierwszym półroczu równą $110 \text{ ml/min/1,73m}^2$	86
Rycina 17. Odsetek trajektorii (biorców), u których w danym półroczu po przeszczepieniu średnia wartość eGFR wynosi $\geq 80 \text{ ml/min/1,73m}^2$, w zależności od rozkładu stężeń C_0 TAC notowanych w ciągu 5 letniego okresu obserwacji – model ze średnią wartością eGFR w pierwszym półroczu równą $110 \text{ ml/min/1,73m}^2$	87
Rycina 18. Przykładowe trajektorie średnich wartości eGFR w okresie 5 lat po przeszczepieniu w zależności od rozkładu stężeń C_0 TAC – model ze średnią wartością eGFR w pierwszym półroczu równą $80 \text{ ml/min/1,73m}^2$	87
Rycina 19. Odsetek trajektorii (biorców), u których w danym półroczu po przeszczepieniu średnia wartość eGFR wynosiła $\geq 70 \text{ ml/min/1,73m}^2$, w zależności od rozkładu stężeń C_0 TAC notowanych w ciągu 5 letniego okresu obserwacji – model ze średnią wartością eGFR w pierwszym półroczu równą $80 \text{ ml/min/1,73m}^2$	88
Rycina 20. Zależność pomiędzy średnią wartością eGFR w pierwszych 6 miesiącach po przeszczepieniu a czasem zimnego niedokrwienia.	91
Rycina 21. Zależność pomiędzy średnią wartością eGFR w pierwszych 6 miesiącach po przeszczepieniu a różnicą masy ciała między dawcą i biorcą, wyrażoną w kilogramach.	92
Rycina 22. Wykresy pudełkowe (box-plot) średniej wartości eGFR w pierwszych 6 miesiącach w zależności od dawcy (żywy vs zmarły).	92

Rycina 23. Średnia wartość eGFR w pierwszych 6 miesiącach po transplantacji w zależności od wystąpienia DGF.	93
Rycina 24. Średnie wartości różnic wielkości eGFR pomiędzy dwoma dowolnie wybranymi oknami K_{start} i $K_{stop} + 1$ w zależności od stężenia takrolimusu w oknie K_{start} z uwzględnieniem, że pomiędzy oknami K_{start} i $K_{stop} + 1$ jest przeciętnie jeden rok różnicy.	95
TABELLE:	
Tabela I. Przyczyny niepodania lub odstawienia takrolimusu.	36
Tabela II. Przyczyny i czas odstawienia takrolimusu u pacjentów objętych obserwacją.	37
Tabela III. Charakterystyka biorców w podziale na płeć.	57
Tabela IV. Choroba podstawowa w podziale na płeć biorców.	58
Tabela V. Zmienne związane z rozpoznaniem choroby i jej leczeniem.	59
Tabela VI. Statystyki opisowe wybranych cech biorców.	60
Tabela VII. Rozkład liczebności w układach HLA A, B i DR.	61
Tabela VIII. Statystyki opisowe cech związanych z procedurą transplantacji.	62
Tabela IX. Statystyki opisowe podstawowych cech dawców, w podziale na płeć.	63
Tabela X. Rozkłady wybranych cech dawców w podziale na ich płeć.	64
Tabela XI. Średnie wartości wskaźnika filtracji kłębuszkowej (eGFR) w 12 niezachodzących na siebie oknach czasowych obserwacji biorcy, liczonych w dniach od przeszczepienia.	66
Tabela XII. Statystyki modeli regresji liniowej średnich wielkości eGFR w kolejnych 180 dniowych niezachodzących oknach czasowych po przeszczepieniu (y) względem średniej wartości eGFR w oknie K_1 , tj. w okresie 30-210 dni po operacji transplantacyjnej (x).	69
Tabela XIII. Średnie wartości C_0 TAC w 12 niezachodzących na siebie oknach czasowych obserwacji biorcy, liczonych w dniach od przeszczepienia.	72

Tabela XIV. Liczba biorców, w historii których choć raz wystąpił scenariusz zdefiniowany stanami stężenia TAC C_0 i stanem dla wartości eGFR, przy zachodzeniu braku korelacji pomiędzy średnimi stężeniami TAC w oknach a średnimi wartościami eGFR.	74
Tabela XV. Średnie wartości zmian (Δ) przeciętnego eGFR między dwoma oknami K_{start} i K_{stop} , w zależności od trzech zmiennych: 1.) stężenia C_0 TAC w oknie K_{start} , 2.) stężenia C_0 TAC w oknie K_{stop} , 3.) wartości eGFR w oknie K_{start} - wszystkie z 48 możliwych kombinacji (scenariuszy) w sytuacji braku korelacji pomiędzy średnimi stężeniami takrolimusu w oknach (półroczach) a średnimi wartościami eGFR w tych oknach.	75
Tabela XVI. Średnie wartości zmian (Δ) przeciętnego eGFR między dwoma oknami K_{start} i K_{stop} , w zależności od trzech zmiennych: 1.) poziomu C_0 TAC w oknie K_{start} , 2.) poziomu C_0 TAC w oknie K_{stop} , 3.) poziomu eGFR w oknie K_{start} - wszystkie z 10 możliwych kombinacji (scenariuszy) w sytuacji braku korelacji pomiędzy średnimi C_0 TAC w oknach (półroczach) a średnimi wartościami eGFR w tych oknach.	77
Tabela XVII. Średnie wartości zmian (Δ) wielkości eGFR między dwoma oknami K_{start} i K_{stop} , w zależności od trzech zmiennych: 1.) stężenia C_0 TAC w oknie K_{start} , 2.) stężenia C_0 TAC w oknie K_{stop} , 3.) wielkości eGFR w oknie K_{start} - szacowane różnice (Δ) między dwoma dowolnie wybranymi półroczami w zależności od tego, do jakiego zakresu stężeń należą stężenia obserwowane w dwóch oknach i od wartości eGFR w oknie wcześniejszym.	79
Tabela XVIII. Wpływ wybranych cech klinicznych na zależność pomiędzy stężeniem C_0 TAC, a wartością eGFR.	82
Tabela XIX. Uwzględniając liczbę niezgodności w układzie HLA między biorcą i dawcą średnie wartości zmian (Δ) eGFR między dwoma oknami K_{start} i K_{stop} , w zależności od trzech zmiennych: 1.) stężenia C_0 TAC w oknie K_{start} , 2.) stężenia C_0 TAC w oknie K_{stop} , 3.) wartości eGFR w oknie K_{start} - szacowane różnice (Δ) między dwoma dowolnie wybranymi półroczami w zależności od tego, do jakiego zakresu wartości należą stężenia C_0 TAC obserwowane w dwóch oknach i od wartości eGFR w oknie wcześniejszym.	83

Tabela XX. Związek wybranych cech klinicznych ze średnią wartością eGFR w pierwszym półroczu po przeszczepieniu.	90
Tabela XXI. Średnie wartości zmian (Δ) eGFR między dwoma oknami K_{start} i $K_{stop} + 1$, w zależności od trzech zmiennych: 1.) stężenia C_0 TAC w oknie K_{start} , 2.) stężenia C_0 TAC w oknie o jedno półrocze przesuniętym do przodu, tj. $K_{stop} + 1$, 3.) wartości eGFR w oknie K_{start} - tabela zawiera wszystkie z 48 możliwych kombinacji (scenariuszy) dla zależności obserwowanych w próbie z przesunięciem czasowym dla eGFR o jedno półrocze do przodu.	93
Tabela źródłowa I. Wyjściowa charakterystyka biorców i towarzysząca immunosupresja.	44
Tabela źródłowa II. Charakterystyka dawcy i procedury przeszczepienia oraz powód zakończenia obserwacji.	52
Tabela źródłowa III. Wartości stężenia kreatyniny w surowicy, wartości stężenia C_0 takrolimusu we krwi pełnej, wyniki pomiarów wysokości ciała pacjentów (dołączona płyta CD).	CD

PIŚMIENNICTWO

1. Chua A, Cramer C, Moudgil A i wsp: Kidney transplant practice patterns and outcome benchmarks over 30 years: The 2018 report of the NAPRTCS Pediatric Transplantation. 2019;23:e13597.
2. Laskin BL, Mitsnefes MM, Dahhou M i wsp: The mortality risk with graft function has decreased among children receiving a first kidney transplant in the United States. *Kidney Int.* 2015;87(3):575–83.
3. Maluf DG, Mas VR, Archer KJ i wsp: Molecular Pathways Involved in Loss of Kidney Graft Function with Tubular Atrophy and Interstitial Fibrosis. *Mol Med.* 2008;14(5–6):276–85.
4. Morath C, Opelz G, Zeier M, Süsal C: Clinical relevance of HLA antibody monitoring after kidney transplantation. *J Immunol Res.* 2014;1-6.
5. Gill JS, Tonelli M, Mix CH, Pereira BJJ: The change in allograft function among long-term kidney transplant recipients. *J Am Soc Nephrol.* 2003;14(6):1636–42.
6. Gourishankar S, Hunsicker LG, Jhangri GS i wsp: The stability of the glomerular filtration rate after renal transplantation is improving. *J Am Soc Nephrol.* 2003;14(9):2387–94.
7. Schwartz GJ, Muñoz A, Schneider MF i wsp: New equations to estimate GFR in children with CKD. *J Am Soc Nephrol.* 2009;20(3):629–37.
8. Cockcroft DW, Gault MH: Prediction of Creatinine Clearance from Serum Creatinine. *Nephron.* 1976; 16:31-41.
9. Josephson MA: Monitoring and managing graft health in the kidney transplant recipient. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2011;6(7):1774–80.
10. Botev R, Mallie JP, Wetzels JFM i wsp: The clinician and estimation of glomerular filtration rate by creatinine-based formulas: Current limitations and Quo vadis. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2011;6(4):937–50.
11. Pottel H: Measuring and estimating glomerular filtration rate in children. *Pediatr Nephrol.* 2017;32(2):249–63.
12. Roufousse C, Simmonds N, Clahsen-Van Groningen M i wsp: A 2018 Reference Guide

- to the Banff Classification of Renal Allograft Pathology. *Transplantation*. 2018;102(11):1795–814.
13. Yoshimura H, Kise T, Fukuyama S: Progressive ischemic chronic renal allograft injury in an infant with an adult-sized kidney transplant : observations over one decade. *Chiba Medical J*. 2019; 95E:79–84.
 14. Mengel M, Gwinner W, Schwarz A i wsp: Infiltrates in protocol biopsies from renal allografts. *Am J Transplant*. 2007;7(2):356–65.
 15. Cosio FG, Grande JP, Wadei H i wsp: Predicting subsequent decline in kidney allograft function from early surveillance biopsies. *Am J Transplant*. 2005;5(10):2464–72.
 16. Bunchman TE, Fryd DS, Sibley RK, Mauer SM: Manifestations of renal allograft rejection in small children receiving adult kidneys. *Pediatric Nephrology*. 1990; 4(3):255–8.
 17. Kanzelmeyer NK, Ahlenstiel T, Drube J i wsp: Protocol biopsy-driven interventions after pediatric renal transplantation. *Pediatr Transplant*. 2010;14(8):1012–8.
 18. Höcker B, Tönshoff B: Treatment strategies to minimize or prevent chronic allograft dysfunction in pediatric renal transplant recipients: An overview. *Pediatr Drugs*. 2009;11(6):381–96.
 19. Dharnidharka VR, Vyas N, Gaut JP i wsp: The utility of surveillance biopsies in pediatric kidney transplantation. *Pediatr Nephrol*. 2018;33(5):889–95.
 20. Kanzelmeyer NK, Lerch C, Ahlenstiel-Grunow T i wsp: The role of protocol biopsies after pediatric kidney transplantation. *Med (United States)*. 2020;99(23).
 21. Miettinen J, Helin H, Pakarinen M i wsp: Histopathology and biomarkers in prediction of renal function in children after kidney transplantation. *Transpl Immunol*. 2014;31(2):105–11.
 22. Rush D, Arlen D, Boucher A i wsp: Lack of benefit of early protocol biopsies in renal transplant patients receiving TAC and MMF: A randomized study. *Am J Transplant*. 2007;7(11):2538–45.
 23. Einecke G, Sis B, Reeve J i wsp: Antibody-mediated microcirculation injury is the major cause of late kidney transplant failure. *Am J Transplant*. 2009;9(11):2520–31.

24. Hidalgo LG, Campbell PM, Sis B i wsp: De novo donor-specific antibody at the time of kidney transplant biopsy associates with microvascular pathology and late graft failure. *Am J Transplant.* 2009;9(11):2532–41.
25. Loupy A, Hil GS, Noch D, Legendre C. Antibody-mediated microcirculation injury is the major cause of late kidney transplant failure. *Am J Transplant.* 2010;10(4):952.
26. Engen RM, Park GE, Schumacher CS i wsp: Donor-specific Antibody Surveillance and Graft Outcomes in Pediatric Kidney Transplant Recipients. *Transplantation.* 2018;102(12):2072–9.
27. Parajuli S, Joachim E, Alagusundaramoorthy S i wsp: Donor-Specific Antibodies in the Absence of Rejection Are Not a Risk Factor for Allograft Failure. *Kidney Int Reports.* 2019;4(8):1057–65.
28. Zhang R: Donor-specific antibodies in kidney transplant recipients. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2018;13(1):182–92.
29. Miettinen J, Peräsaari J, Lauronen J i wsp: Donor-specific HLA antibodies and graft function in children after renal transplantation. *Pediatr Nephrol.* 2012;27(6):1011–9.
30. Nikolov G, Boncheva M, Gruev T i wsp: Urinary biomarkers for follow-up of renal transplantation- Where we are! *J IMAB - Annu Proceeding (Scientific Pap.* 2016;22(2):1139–48.
31. Salvadori M, Tsalouchos A: Biomarkers in renal transplantation: An updated review. *World J Transplant.* 2017;7(3):161.
32. Halloran PF: Immunosuppressive drugs for kidney transplantation. *N Engl J Med.* 2004;351(26):2715–29.
33. Trompeter R, Filler G, Webb NJ i wsp: Randomized trial of tacrolimus versus cyclosporin microemulsion in renal transplantation. *Pediatr Nephrol.* 2002;17(3):141–9.
34. Filler G, Webb NJA, Milford D V i wsp: Four-year data after pediatric renal transplantation: A randomized trial of tacrolimus vs. cyclosporin microemulsion. *Pediatr Transplant.* 2005;9(4):498–503.
35. Neu AM, Ho PL, Fine RN i wsp: Tacrolimus vs. cyclosporine A as primary

- immunosuppression in pediatric renal transplantation: A NAPRTCS study. *Pediatr Transplant*. 2003;7(3):217–22.
36. Webster AC, Woodroffe RC, Taylor RS i wsp: Tacrolimus versus ciclosporin as primary immunosuppression for kidney transplant recipients: Meta-analysis and meta-regression of randomised trial data. *Br Med J*. 2005;331(7520):810–4.
 37. Wagner M, Earley AK, Webster AC i wsp: Mycophenolic acid versus azathioprine as primary immunosuppression for kidney transplant recipients. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015;2015(12).
 38. Krüger B, Banas M, Hoffmann U: Reduced exposure to calcineurin inhibitors in renal transplantation. *N Engl J Med*. 2008;358(23):2518–9.
 39. Grenda R, Watson A, Trompeter R i wsp: A randomized trial to assess the impact of early steroid withdrawal on growth in pediatric renal transplantation: The twist study. *Am J Transplant*. 2010;10(4):828–36.
 40. Pape L: State-of-the-art immunosuppression protocols for pediatric renal transplant recipients. *Pediatr Nephrol*. 2019;34(2):187–94.
 41. Haasova M, Snowsill T, Jones-Hughes T i wsp: Immunosuppressive therapy for kidney transplantation in children and adolescents: Systematic review and economic evaluation. *Health Technol Assess (Rockv)*. 2016;20(61):1–323.
 42. Charakterystyka Produktu Leczniczego - Prograf: kapsułki twarde 0,5; 1 i 5 mg, Astellas Pharma Sp. z o.o. 29 marzec 2012 - ostatnia aktualizacja 11.04.2006
 43. Charakterystyka Produktu Leczniczego - Advagraf: kapsułki o przedłużonym uwalnianiu, twarde 0,5; 1; 3 i 5 mg. Astellas Pharma Europe B.V- ostatnia aktualizacja 6.05.2020
 44. Prytuła A, van Gelder T: Clinical aspects of tacrolimus use in paediatric renal transplant recipients. *Pediatr Nephrol*. 2019;34(1):31–43.
 45. Rubik J, Debray D, Kelly D i wsp: Efficacy and safety of prolonged-release tacrolimus in stable pediatric allograft recipients converted from immediate-release tacrolimus – a Phase 2, open-label, single-arm, one-way crossover study. *Transpl Int*. 2019;32(11):1182–93.

46. Rubik J, Debray D, Iserin F i wsp: Comparative pharmacokinetics of tacrolimus in stable pediatric allograft recipients converted from immediate-release tacrolimus to prolonged-release tacrolimus formulation. *Pediatr Transplant*. 2019;23(4):1–9.
47. Naesens M, Salvatierra O, Li L i wsp: Maturation of dose-corrected tacrolimus predose trough levels in pediatric kidney allograft recipients. *Transplantation*. 2008;85(8):1139–45.
48. Andrews LM, Li Y, De Winter BCM i wsp: Pharmacokinetic considerations related to therapeutic drug monitoring of tacrolimus in kidney transplant patients. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2017;13(12):1225–36.
49. Prytula AA, Bouts AH, Mathot RAA i wsp: Intra-patient variability in tacrolimus trough concentrations and renal function decline in pediatric renal transplant recipients. *Pediatr Transplant*. 2012;16(6):613–8.
50. Connelly J, Pilch N, Oliver M i wsp: Prediction of medication non-adherence and associated outcomes in pediatric kidney transplant recipients. *Pediatr Transplant*. 2015;19(5):555–62.
51. Pollock-Barziv SM, Finkelstein Y, Manlhiot C i wsp: Variability in tacrolimus blood levels increases the risk of late rejection and graft loss after solid organ transplantation in older children. *Pediatr Transplant*. 2010;14(8):968–75.
52. Bucuvalas JC, Ryckman FC, Arya G i wsp: A novel approach to managing variation: Outpatient therapeutic monitoring of calcineurin inhibitor blood levels in liver transplant recipients. *J Pediatr*. 2005;146(6):744–50.
53. Capron A, Haufroid V, Wallemacq P: Intra-cellular immunosuppressive drugs monitoring: A step forward towards better therapeutic efficacy after organ transplantation? *Pharmacol Res*. 2016;111:610–8.
54. Zahir H, McCaughan C, Gleeson M i wsp: Factors affecting variability in distribution of tacrolimus in liver transplant recipients. *Br J Clin Pharmacol*. 2004;57(3):298–309.
55. Brunet M, Van Gelder T, Åsberg A i wsp: Therapeutic Drug Monitoring of Tacrolimus-Personalized Therapy: Second Consensus Report. *Ther Drug Monit*. 2019;41(3):261–307.
56. Wallemacq P, Armstrong VW, Brunet M i wsp: Opportunities to optimize tacrolimus

- therapy in solid organ transplantation: Report of the european consensus conference. *Ther Drug Monit.* 2009;31(2):139–52.
57. Laskow DA, Vincenti F, Neylan JF i wsp: An open-label, concentration-ranging trail of FK506 in primary kidney transplantation: a raport of The United State Multicenter FK506 Kidney Transplant Group1. *Transplantation.* 1996;62:900-905
 58. Filler G: Finding the optimal therapeutic window for tacrolimus. *Pediatr Transplant.* 2014;18(8):783–5.
 59. Bouamar R, Shuker N, Hesselink DA i wsp: Tacrolimus predose concentrations do not predict the risk of acute rejection after renal transplantation: A pooled analysis from three randomized-controlled clinical trials. *Am J Transplant.* 2013;13(5):1253–61.
 60. Monteverde ML, Chaparro A, Goldberg J i wsp: Donor-specific anti-HLA antibodies in pediatric renal transplant recipients with creeping creatinine: Prevalence, histological correlations, and impact on patient and graft survival. *Pediatr Transplant.* 2015;19(7):684–90.
 61. Terasaki PI, Ozawa M: Predicting Kidney Graft Failure by HLA Antibodies: A Prospective Trial. *Am J Transplant.* 2004;4(3):438–43.
 62. Girerd S, Schikowski J, Girerd N i wsp: Impact of reduced exposure to calcineurin inhibitors on the development of de novo DSA: A cohort of non-immunized first kidney graft recipients between 2007 and 2014. *BMC Nephrol.* 2018;19(1):1–14.
 63. Davis S, Gralla J, Klem P i wsp: Lower tacrolimus exposure and time in therapeutic range increase the risk of de novo donor-specific antibodies in the first year of kidney transplantation. *Am J Transplant.* 2018;18(4):907–15.
 64. Mendoza Rojas A, Hesselink DA, van Besouw NM i wsp: Impact of low tacrolimus exposure and high tacrolimus intra-patient variability on the development of de novo anti-HLA donor-specific antibodies in kidney transplant recipients. *Expert Rev Clin Immunol.* 2019;15(12):1323–31.
 65. Lezaic V, Naumovic R, Stanic M i wsp: Factors affecting graft function in pediatric and adult recipients of adult live donor kidney transplants. *Pediatr Transplant.* 2007;11(8):906–13.
 66. Nickerson PW: What have we learned about how to prevent and treat antibody-

- mediated rejection in kidney transplantation? *Am J Transplant*. 2020;20(S4):12–22.
67. Wheeler DS, Wong HR, Shanley TP: Pediatric critical care medicine: Volume 4: Perioperative care of the critically ill or injured child. 2014;1–466.
 68. Horn E, Demehin M: Advances in Immunosuppression. 2020;467–82.
 69. Gill JS, Tonelli M, Mix CH i wsp: The effect of maintenance immunosuppression medication on the change in kidney allograft function. *Kidney Int*. 2004;65(2):692–9.
 70. Jouve T, Noble J, Rostaing L, Malvezzi P: Tailoring tacrolimus therapy in kidney transplantation. *Expert Rev Clin Pharmacol*. 2018;11(6):581–8.
 71. Jouve T, Noble J, Rostaing L, Malvezzi P: An update on the safety of tacrolimus in kidney transplant recipients, with a focus on tacrolimus minimization. *Expert Opin Drug Saf*. 2019;18(4):285–94.
 72. Bradbury L: Annual Report on Kidney Transplantation. 2014;2016(March):83.
 73. Emmes Corporation: Collaborative Studies NAPRTCS 2014 Annual Transplant Report. 2014;102.
 74. Mehrabi A, Golriz M, Khajeh E i wsp: Surgical outcomes after pediatric kidney transplantation at the University of Heidelberg. *J Pediatr Urol*. 2019;15(3):221.
 75. Sugianto RI, Schmidt BMW, Memaran N i wsp: Sex and age as determinants for high blood pressure in pediatric renal transplant recipients: a longitudinal analysis of the CERTAIN Registry. *Pediatr Nephrol*. 2020;35(3):415–26.
 76. Moudgil A, Martz K, Stablein DM, Puliyananda DP: Variables affecting estimated glomerular filtration rate after renal transplantation in children: A NAPRTCS data analysis. *Pediatr Transplant*. 2010;14(2):288–94.
 77. Michelet D, Brasher C, Marsac L i wsp: Intraoperative hemodynamic factors predicting early postoperative renal function in pediatric kidney transplantation. *Paediatr Anaesth*. 2017;27(9):927–34.
 78. Damji S, Callaghan CJ, Loukopoulos I i wsp: Utilisation of small paediatric donor kidneys for transplantation. *Pediatr Nephrol*. 2019;34(10):1717–26.
 79. Maluf DG, Carrico RJ, Rosendale JD i wsp: Optimizing recovery, utilization and

- transplantation outcomes for kidneys from small, ≤ 20 kg, pediatric donors. *Am J Transplant*. 2013;13(10):2703–12.
80. Weitz M, Laube GF, Schmidt M i wsp: Outcome of renal transplantation in small infants: a match-controlled analysis. *Pediatr Nephrol*. 2018;33(6):1057–68.
 81. Goldsmith PJ, Asthana S, Fitzpatrick M i wsp: Transplantation of adult-sized kidneys in low-weight pediatric recipients achieves short-term outcomes comparable to size-matched grafts. *Pediatr Transplant*. 2010;14(7):919–24.
 82. Sarwal MM, Cecka JM, Millan MT, Salvatierra O: Adult-size kidneys without acute tubular necrosis provide exceedingly superior long-term graft outcomes for infants and small children. *Transplantation*. 2000;70(12):1728–36.
 83. Pérez-Bertólez S, Barrero R, Fijo J i wsp: Outcomes of pediatric living donor kidney transplantation: A single-center experience. *Pediatr Transplant*. 2017;21(3):1–6.
 84. Hamilton AJ, Plumb LA, Casula A, Sinha MD: Associations with kidney transplant survival and eGFR decline in children and young adults in the United Kingdom: a retrospective cohort study. *BMC Nephrol*. 2020;21(1):1–13.
 85. Chua A, Cramer C, Moudgil A i wsp: Kidney transplant practice patterns and outcome benchmarks over 30 years: The 2018 report of the NAPRTCS. *Pediatr Transplant*. 2019;23(8):1–17.
 86. Marcén R, Morales JM, Fernández-Rodríguez A i wsp: Long-term graft function changes in kidney transplant recipients. *NDT Plus*. 2010;3(SUPPL. 2):2–8.
 87. Othman MM, Ismael AZ, Hammouda GE: The impact of timing of maximal crystalloid hydration on early graft function during kidney transplantation. *Anesth Analg*. 2010;110(5):1440–6.
 88. Feltran LDS, Nogueira PCK, Silva FAB i wsp: A one year prospective comparison of kidney growth and function in children recipients of grafts from children and adults. *Transplantation*. 2010;90(7):777–81.
 89. Patenka J, Seeman T, Foltynová E i wsp: Effect of donor/recipient body weight ratio, donor weight, recipient weight and donor age on kidney graft function in children. *Nephrol Dial Transplant*. 2012;27(2):820–4.

90. Chua ME, Kim JK, Gnech M i wsp: Clinical implication of renal allograft volume to recipient body surface area ratio in pediatric renal transplant. *Pediatr Transplant*. 2018;22(8):1–9.
91. Feltran LDS, Koch Nogueira PC, Ajzen SA i wsp: Does graft mass impact on pediatric kidney transplant outcomes? *Pediatr Nephrol*. 2014;29(2):297–304.
92. Dinis P, Nunes P, Marconi L i wsp: Small kidneys for large recipients: Does size matter in renal transplantation? *Transplant Proc*. 2015;47(4):920–5.
93. Goh CC, Ladouceur M, Peters L i wsp: Lengthy Cold Ischemia Time Is a Modifiable Risk Factor Associated With Low Glomerular Filtration Rates in Expanded Criteria Donor Kidney Transplant Recipients. *Transplant Proc*. 2009;41(8):3290–2.
94. Hansson J, Mjörnstedt L, Lindnér P: The risk of graft loss 5 years after kidney transplantation is increased if cold ischemia time exceeds 14 hours. *Clin Transplant*. 2018;32(9):1–10.
95. Hwang AH, Cho YW, Cicciarelli J i wsp: Risk factors for short- and long-term survival of primary cadaveric renal allografts in pediatric recipients: A UNOS analysis. *Transplantation*. 2005;80(4):466–70.
96. Oomen L, de Wall LL, Cornelissen EAM i wsp: Prognostic Factors on Graft Function in Pediatric Kidney Recipients. *Transplant Proc*. 2020;(804):1–8.
97. Foroutan F, Friesen EL, Clark KE i wsp: Risk factors for 1-year graft loss after kidney transplantation systematic review and meta-analysis. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2019;14(11):1642–50.
98. Yarlagadda SG, Coca SG, Formica RN i wsp: Association between delayed graft function and allograft and patient survival: A systematic review and meta-analysis. *Nephrol Dial Transplant*. 2009;24(3):1039–47.
99. Cesca E, Ghirardo G, Kiblawi R i wsp: Delayed graft function in pediatric deceased donor kidney transplantation: Donor-related risk factors and impact on two-yr graft function and survival: A single-center analysis. *Pediatr Transplant*. 2014;18(4):357–62.
100. Boom H, Mallat MJK, De Fijter JW. i wsp: Delayed graft function influences renal function, but not survival. *Kidney Int*. 2000;58(2):859–66.

101. Marcén R, Morales JM, Fernández-Rodríguez A i wsp: Long-term graft function changes in kidney transplant recipients. *NDT Plus*. 2010;3(SUPPL. 2):2–8.
102. Gholami S, Sarwal MM, Naesens M i wsp: Standardizing resistive indices in healthy pediatric transplant recipients of adult-sized kidneys. *Pediatr Transplant*. 2010;14(1):126–31.
103. Grenda R: Delayed graft function and its management in children. *Pediatr Nephrol*. 2017;32(7):1157–67.
104. Robertson JD: Pediatric transplantation: Preventing thrombosis. *J Thromb Haemost*. 2015;13(S1):S351–61.
105. Naesens M, Kambham N, Concepcion W i wsp: The evolution of nonimmune histological injury and its clinical relevance in adult-sized kidney grafts in pediatric recipients. *Am J Transplant*. 2007;7(11):2504–14.
106. Dubourg L, Hadj-Aïssa A, Parchoux B i wsp: Role of the donor in post-transplant renal function. *Nephrol Dial Transplant*. 1998;13(6):1494–8.
107. Amesty MV, Sanchez-Galan A, Monsalve S i wsp: Adult-sized Renal Transplantation in Small Pediatric Recipients Achieves Long-term Outcomes Comparable to Size-matched Transplantation. *J Clin Exp Transplant*. 2016;01(01):1–5.
108. Cho MH: Pediatric kidney transplantation is different from adult kidney transplantation. *Korean J Pediatr*. 2018;61(7):205–9.
109. Giuliani S, Gamba PG, Chokshi NK i wsp: The effect of donor/recipient body surface area ratio on outcomes in pediatric kidney transplantation. *Pediatr Transplant*. 2009;13(3):290–9.
110. *Poltransplant*. *Biuletyn Informacyjny*. *Biul Inf*. 2018;26(1):1–144.
111. Qvist E, Their M, Krogerus L i wsp: Early treatment of acute rejections gives favorable long-term function after renal transplantation in small children. *Pediatr Transplant*. 2007;11(8):895–900.
112. Gourishankar S, Hunsicker LG, Jhangri GS i wsp: The stability of the glomerular filtration rate after renal transplantation is improving. *J Am Soc Nephrol*. 2003;14(9):2387–94.

113. Serón D, Fulladosa X, Moreso F: Risk factors associated with the deterioration of renal function after kidney transplantation. *Kidney Int.* 2005;68(SUPPL. 99):113–7.
114. Clayton PA, Lim WH, Wong G, Chadban SJ: Relationship between eGFR decline and hard outcomes after kidney transplants. *J Am Soc Nephrol.* 2016;27(11):3440–6.
115. Wu J, Li H, Huang H i wsp: Slope of changes in renal function in the first year post-transplantation and one-yr estimated glomerular filtration rate together predict long-term renal allograft survival. *Clin Transplant.* 2010;24(6):862–8.
116. Moranne O, Maillard N, Fafin C i wsp: Rate of renal graft function decline after one year is a strong predictor of all-cause mortality. *Am J Transplant.* 2013;13(3):695–706.
117. Larkins N, Matsell DG: Tacrolimus therapeutic drug monitoring and pediatric renal transplant graft outcomes. *Pediatr Transplant.* 2014;18(8):803–9.
118. Grenda R, Watson A, Vondrak K i wsp: A prospective, randomized, multicenter trial of tacrolimus-based therapy with or without basiliximab in pediatric renal transplantation. *Am J Transplant.* 2006;6:1666–72.
119. Min S, Papaz T, Lafreniere-Roula M, Nalli N i wsp: A randomized clinical trial of age and genotype-guided tacrolimus dosing after pediatric solid organ transplantation. *Pediatr Transplant.* 2018;22(7):1–9.
120. Yanik M V., Seifert ME, Locke JE i wsp: CYP3A5 genotype affects time to therapeutic tacrolimus level in pediatric kidney transplant recipients. *Pediatr Transplant.* 2019;23(5):1–9.
121. Loupy A, Hill GS, Jordan SC: The impact of donor-specific anti-HLA antibodies on late kidney allograft failure. *Nat Rev Nephrol.* 2012;8(6):348–57.
122. Hymes LC, Greenbaum L, Amaral SG, Warshaw BL: Surveillance renal transplant biopsies and subclinical rejection at three months post-transplant in pediatric recipients. *Pediatr Transplant.* 2007;11(5):536–9.
123. Hricik DE, Formica RN, Nickerson P i wsp: Adverse outcomes of tacrolimus withdrawal in immune-quiescent kidney transplant recipients. *J Am Soc Nephrol.* 2015;26(12):3114–22.
124. Gonzales HM, McGillicuddy JW, Rohan V i wsp: A comprehensive review of the

- impact of tacrolimus inpatient variability on clinical outcomes in kidney transplantation. *Am J Transplant*. 2020;20(8):1969–83.
125. Prytula AA, Bouts AH, Mathot RAA i wsp: Intra-patient variability in tacrolimus trough concentrations and renal function decline in pediatric renal transplant recipients. *Pediatr Transplant*. 2012;16(6):613–8.
 126. Rodrigo E, Segundo DS, Fernández-Fresnedo G i wsp: Within-Patient Variability in Tacrolimus Blood Levels Predicts Kidney Graft Loss and Donor-Specific Antibody Development. *Transplantation*. 2016;100(11):2479–85.
 127. Whalen HR, Glen JA, Harkins V i wsp: High Inpatient Tacrolimus Variability Is Associated With Worse Outcomes in Renal Transplantation Using a Low-Dose Tacrolimus Immunosuppressive Regime. *Transplantation*. 2017;101(2):430-436.
 128. Süsal C, Döhler B: Late intra-patient tacrolimus trough level variability as a major problem in kidney transplantation: A Collaborative Transplant Study Report. *Am J Transplant*. 2019;19(10):2805–13.
 129. Shuker N, Shuker L, van Rosmalen J i wsp: A high inpatient variability in tacrolimus exposure is associated with poor long-term outcome of kidney transplantation. *Transpl Int*. 2016;29(11):1158–67.
 130. Vanhove T, Vermeulen T, Annaert P i wsp: High inpatient variability of tacrolimus concentrations predicts accelerated progression of chronic histologic lesions in renal recipients. *Am J Transplant*. 2016;16(10):2954–63.
 131. Mo H, Kim SY, Min S i wsp: Association of Inpatient Variability of Tacrolimus Concentration with Early Deterioration of Chronic Histologic Lesions in Kidney Transplantation. *Transplant Direct*. 2019;5(6):1–9.
 132. Goodall DL, Willicombe M, McLean AG, Taube D: High Inpatient Variability of Tacrolimus Levels and Outpatient Clinic Nonattendance Are Associated With Inferior Outcomes in Renal Transplant Patients. *Transplant Direct*. 2017;3(8):e192.
 133. Atay FF, Taskapan H, Berktaş B i wsp: Factors Affecting eGFR Slope of Renal Transplant Patients During the First 2 Years. *Transplant Proc*. 2019;51(7):2318–20.
 134. Jung HY, Cho SY, Choi JY i wsp: Comparison of transplant outcomes for low-level and standard-level tacrolimus at different time points after kidney transplantation. *J Korean Med Sci*. 2019;34(12):1–13.

135. Larkins N, Matsell DG: Tacrolimus therapeutic drug monitoring and pediatric renal transplant graft outcomes. *Pediatr Transplant*. 2014;18(8):803–9.
136. Von Moos S, Cippà PE, van Breemen R, Mueller TF: HLA antibodies are associated with deterioration of kidney allograft function irrespective of donor specificity. *Hum Immunol*. 2020;82(1):19–24.
137. Jordan ML, Naraghi R, Shapiro R i wsp: Tacrolimus rescue therapy for renal allograft rejection - Five-year experience. *Transplantation*. 1997;63(2):223–8.
138. De Sandes-Freitas TV, Felipe CR, Campos EF i wsp: Subclinical lesions and donor-specific antibodies in kidney transplant recipients receiving tacrolimus-based immunosuppressive regimen followed by early conversion to sirolimus. *Transplantation*. 2015;99(11):2372–81.
139. Israni AK, Riad SM, Leduc R i wsp: Tacrolimus trough levels after month 3 as a predictor of acute rejection following kidney transplantation: A lesson learned from DeKAF Genomics. *Transpl Int*. 2013;26(10):982–9.
140. Gralla J, Tong S, Wiseman AC: The impact of human leukocyte antigen mismatching on sensitization rates and subsequent retransplantation after first graft failure in pediatric renal transplant recipients. *Transplantation*. 2013;95(10):1218–24.
141. Yacoub R, Nadkarni GN, Cravedi P i wsp: Analysis of OPTN/UNOS registry suggests the number of HLA matches and not mismatches is a stronger independent predictor of kidney transplant survival. *Kidney Int*. 2018;93(2):482–90.
142. Vu LT: HLA-DR Matching in Organ Allocation. *Arch Surg*. 2011;146(7):824.
143. Opelz G, Döhler B: Effect of human leukocyte antigen compatibility on kidney graft survival: Comparative analysis of two decades. *Transplantation*. 2007;84(2):137–43.
144. Lucisano G, Thiruvengadam S, Hassan S i wsp: Donor-specific antibodies detected by single antigen beads alone can help risk stratify patients undergoing retransplantation across a repeat HLA mismatch. *Am J Transplant*. 2020;20(2):441–50.
145. Böttiger Y, Brattström C, Tydén G i wsp: Tacrolimus whole blood concentrations correlate closely to side-effects in renal transplant recipients. *Br J Clin Pharmacol*. 1999;48(3):445–8.

146. Numakura K, Satoh S, Tsuchiya N i wsp: Incidence and risk factors of clinical characteristics, tacrolimus pharmacokinetics, and related genomic polymorphisms for posttransplant diabetes mellitus in the early stage of renal transplant recipients. *Transplant Proc.* 2005;37(4):1865–7.
147. Ajabnoor A, Nasser M, Khan N, Habhab W: Evaluation of Tacrolimus Trough Level in Patients Who Developed Post-transplant Diabetes Mellitus After Kidney Transplantation: A Retrospective Single-Center Study in Saudi Arabia. *Transplant Proc.* 2020;52(10):3160–7.
148. Campagne O, Mager DE, Brazeau D i wsp: The impact of tacrolimus exposure on extrarenal adverse effects in adult renal transplant recipients. *Br J Clin Pharmacol.* 2019;85(3):516–29.
149. Roest S, Hesselink DA, Klimczak-Tomaniak D i wsp: Incidence of end-stage renal disease after heart transplantation and effect of its treatment on survival. *ESC Hear Fail.* 2020;7(2):533–41.