

Recenzja rozprawy doktorskiej lek. med. Aleksandry Wakulenko p.t. „ Przewlekła dysfunkcja nerki przeszczepionej – określenie czynników wpływających na jej rozwój“

Przeszczepianie nerek zarówno od dawców zmarłych, jak i od dawców żywych jest uznana i najlepszą metodą leczenia nerkozastępczego u chorych z krańcową niewydolnością nerek. Żadna z metod leczenia nerkozastępczego w analizie długoletniej nie może być porównywana ze świetnymi wynikami jakie daje leczenie przeszczepieniem nerki. Obecnie ponad 95% przeszczepianych nerek funkcjonuje przez okres około 1 roku, 83% przez okres 3 lat, 75% daje 5- letnie przeżycie, natomiast około 60% wykazuje czynność nerki 10 lat po przeszczepieniu. Najważniejszym jednak benefitem z przeszczepienia nerki jest znaczna poprawa jakości życia i komfortu chorych nieporównywalna z dializami i czy innymi metodami leczenia. Przeszczepianie nerek także w dłuższej perspektywie jest najtańszą metodą leczenia nerkozastępczego. Ograniczeniami tej metody leczenia jest wciąż utrzymująca się znaczna dysproporcja pomiędzy liczbą dostępnych narządów do przeszczepiania a zapotrzebowaniem oraz utrata przeszczepu z powodu ostrego lub przewlekłego odrzucania. W warunkach polskich ciągle niedostateczna jest również liczba przeszczepień od dawców żywych. Nie od dzisiaj wiadomo, że wyniki przeszczepiania narządów pochodzących od dawców żywych są znacznie lepsze niż przeszczepianie narządów od dawców zmarłych.

Postęp w transplantologii przyczynił się do poprawy zarówno wczesnych jak i odległych wyników przeszczepienia nerek, mimo że ryzyko zgonu jest wyższe w pierwszym okresie pooperacyjnym natomiast po roku od zabiegu jest dwukrotnie niższe niż w porównywalnej wiekowo grupie chorych dializowanych. Przeszczepienie nerek wiąże się również z koniecznością stosowania immunosupresji. Wszystkie dotychczasowo stosowane leki immunosupresyjne charakteryzują się wystąpieniem wielu działań niepożądanych i toksycznością, która ma wpływ nie tylko na funkcję nerek, ale i innych narządów, zwiększając oprócz śmiertelności związanej z przeszczepianym narządem, również śmiertelność związaną

ze zdarzeniami sercowo- naczyniowymi. Stopień późnej utraty przeszczepu nerkowego jest często określony jako czas połowicznego przeżycia. Jest to czas, w którym połowa pacjentów z funkcjonującą nerką po pierwszym roku ma nadal czynny przeszczep. Okres ten uległ wydłużeniu w ostatnich latach. Jak słusznie cytuje autorka pracę Hariharana czas połowicznego przeżycia nerki od dawcy zmarłego w roku 1988 wynosił 7,9 lat i wydłużył się do 13,8 lat w roku 1995, a przy stosowaniu przeszczepień od dawcy żywego wydłużył się z 12,7 do 21,6 lat. Jednocześnie cytowane dane OPTN/UONS obejmujące ponad 66000 chorych przeszczepionych w latach 1990- 2003 wykazują, że 10- letnie przeżycie graftu od dawcy żywego wynosiło 67%, od dawcy zmarłego- 51%, natomiast przeżycie pacjentów odpowiednio 82% i 71%. Czas połowicznego przeżycia przeszczepu pobranego od dawcy żywego wynosił 17,8 lat a od dawcy zmarłego- 10,8 lat. Czas połowicznego przeżycia pacjentów wynosił odpowiednio 35,5 roku i 21,3 lat.

Doktorantka w swojej pracy podjęła się niezwykle trudnej analizy przewlekłej dysfunkcji przeszczepionej nerki. Przewlekła nefropatia przeszczepu, zwana obecnie przewlekłą dysfunkcją przeszczepu, polega na stopniowym pogorszeniu czynności przeszczepu prowadząc do jego utraty; określana jest również czasami jako przewlekłe odrzucanie. Jednakże ta nazwa sugerowała udział jedynie czynników immunologicznych w patogenezie nieodwracalnego uszkodzenia przeszczepu. Ze względu na wieloczynnikowy mechanizm uszkodzenia w pierwszej połowie lat 90 ubiegłego wieku wprowadzono nazwę przewlekła nefropatia przeszczepu. Ta nazwa z kolei sugerowała jednostkę chorobową o znanej patofizjologii i leczeniu. Po wielu dyskusjach w roku 2005 międzynarodowe gremium na konferencji w Banff zmieniło nazwę z przewlekłej nefropatii na nazwę przewlekłe odrzucanie przeszczepu, która jest zamiennie używana z przewlekłą dysfunkcją przeszczepu. Podobnie jak doktorantka osobiście preferuję określenie przewlekłej dysfunkcji przeszczepu aniżeli przewlekłego odrzucania przeszczepu, gdyż ta nazwa w pełni obejmuje cały zakres zjawisk patofizjologicznych prowadzących do nieprawidłowej funkcji graftu. Przewlekłe odrzucanie przeszczepionej nerki sugeruje tylko i wyłącznie procesy odpornościowe, natomiast jak wszyscy wiemy, zarówno procesy immunologiczne jak i nieimmunologiczne grają równorzędną rolę w pogorszeniu funkcji nerki przeszczepionej i innych narządów unaczynionych.

Przyjęta ostatecznie w 2005 roku definicja mówi, że przewlekłe uszkodzenie przeszczepu jest wieloczynnikowym zaburzeniem kliniczno- patologicznym, charakteryzującym się

postępującą redukcją czynności przeszczepu, której towarzyszy białkomocz i nadciśnienie tętnicze a pod względem histopatologicznym cechuje ją zanik kanalików nerkowych oraz włóknienie zrębu. Rozpoznanie przewlekłej dysfunkcji przeszczepu najczęściej jest stawiane po wykluczeniu takich przyczyn niewydolności graftu jak: nadciśnienie tętnicze, toksyczność inhibitorów kalcyneuryny, przewlekła obturacja cewek nerkowych, odmiedniczkowe zapalenie nerek, infekcje wirusowe, a także przewlekłe odrzucanie zależne od przeciwciał będące stałą odpowiedzią humoralną biorcy na alloantygeny dawcy.

Doktorantka przeprowadziła retrospektywną analizę chorych poddanych transplantacji nerki w latach 1990- 2003 w Akademickim Ośrodku Transplantacyjnym we Wrocławiu. Badaniem objęła ostatecznie 726 chorych, z grupy 833 kolejnych chorych, którzy zachowali czynność przeszczepu powyżej 12 miesięcy po transplantacji. Pozwoliło to na prześledzenie naturalnej historii przewlekłej dysfunkcji alloprzeszczepu nerkowego.

Przedmiotem analizy jest zatem 726 chorych, którzy zachowali czynność przeszczepu przez ponad 12 miesięcy, i u których maksymalny czas obserwacji wynosił od 10 -23 lat po zabiegu transplantacji. Spośród tej populacji u 275 chorych, co stanowi 37,9% chorych rozwinęła się PDP w czasie 10-letniej obserwacji, stabilną dobrą czynność utrzymało 362 chorych (49,9%), natomiast od początku upośledzoną, aczkolwiek stabilną czynność obserwowano u 89 chorych (12,2%). W tych grupach badano wpływ czynników zależnych od biorcy i dawcy, działających w okresie przed, około i poprzyszczepowym oraz samego zabiegu transplantacji jak i leczenia immunosupresyjnego na rozwój PDP.

Nadrzędnym celem pracy opisanym przez Doktorantkę było ustalenie czynników, które spowodowały rozwój i progresję przewlekłej dysfunkcji przeszczepu u pacjentów pozostających pod opieką jednego ośrodka. Poznanie czynników uszkadzających przeszczep, które są dominujące, pozwoliło na ich eliminację, bądź ograniczenie w celu spowolnienia procesu chorobowego. Dodatkowymi celami pracy było:

1. Określenie częstości występowania przewlekłej dysfunkcji przeszczepu po wprowadzeniu nowych schematów immunosupresyjnych;
2. Ocena czynności przeszczepu w zależności od dekady, w której wykonano przeszczep;
3. Określenie rozpowszechnienia poszczególnych stadiów przewlekłej choroby nerek w zależności od czasu po transplantacji.

W przedstawionej pracy doktorskiej, która posiada układ typowy, lek. med. Aleksandra Wakulenko w niezwykle wyczerpującym wstępie omawia teorię powstania przewlekłej dysfunkcji przeszczepu z podziałem na czynniki o charakterze zarówno nieimmunologicznym jak i immunologicznym. Wśród czynników nieimmunologicznych analizowane są czynniki związane z wiekiem, płcią, masą ciała dawcy, z czynnikami związanymi z dawcą mającymi wpływ na rozwój przewlekłej dysfunkcji nerek, rolę niedokrwienia i reperfuzji oraz znaczeniem opóźnionej funkcji przeszczepionej nerki. Szczegółowo doktorantka określa czynniki ryzyka o charakterze nieimmunologicznym związanym z biorą, w tym: wiek, masa ciała, czas dializoterapii, palenie tytoniu przez biorcę, etiologię przewlekłej choroby nerek, występowania i charakteru nadciśnienia tętniczego, obecności cukrzycy, hiperlipidemii, hyperurykemii i niezwykle ważne zagadnienie występowania białkomoczu.

Wśród czynników immunologicznych rozpatrywanych przez autorkę należy wymienić analizę takich czynników jak: liczba niezgodności antygenów głównego systemu zgodności tkankowej, odsetek PRA, czyli obecności przeciwciał cytotoksycznych w stosunku do antygenów dawcy, roli reakcji ostrego odrzucania, odrzucania przewlekłego, związanych z przeszczepieniem i immunosupresją, infekcji wirusowych oraz samą nefrotoksycznością leków immunosupresyjnych.

Założenia badawcze i cele pracy zostały przez Doktorantkę poprawnie sformułowane. Wszystkie części pracy posiadają prawidłowo dobrany przegląd piśmiennictwa liczący 211 pozycji. Analiza piśmiennictwa jest wnikliwa i zawiera materiał pochodzący z publikacji z najlepszych ośrodków transplantacyjnych na świecie. Warto podkreślić, że przegląd ten dokonywany jest z dużym znanstwem problemu i świadczy o dużej wiedzy Autorki opracowania.

Metodyka badania polega na retrospektywnej analizie danych uzyskanych z Karty Zgłoszenia Chorego do Przeszczepu, historii choroby z pobytu w oddziale kliniki związanej z zabiegiem przeszczepienia, powikłaniami w okresie potransplantacyjnym wymagającymi hospitalizacji oraz z historii choroby Przyklinicznej Poradni Transplantacyjnej

Niezwykła zaleta przedstawionej pracy polega na tym, iż jest to badanie jednoośrodkowe. Pozbawione zatem jest różnic wynikających ze stosowania w różnych ośrodkach odmiennych technik chirurgicznych, techniki prezerwacji pobranego narządu, modelu postępowania pooperacyjnego i długotrwałej opieki nad chorym po przeszczepieniu nerki. Doświadczenie i doskonałe wyniki Akademickiego Centrum we Wrocławiu umożliwiły

jednak przedstawienie grupy 833 kolejnych biorców alloprzeszczepu nerek. Wszystkie te przeszczepienia zostały wykonane w Klinice Chirurgii Naczyniowej, Ogólnej i Transplantacyjnej Akademii Medycznej we Wrocławiu w latach 1990 do 2003. Następnie chorzy przebywali pod opieką Poradni przy Klinice Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej we Wrocławiu.

Należy podkreślić, że prezentowana populacja pochodząca z badania jednoośrodkowego jest porównywalna do badań przedstawianych w piśmiennictwie opartych na analizie przeszczepienia w wielu ośrodkach.

Zdecydowaną zaletą tej pracy jest fakt, iż w prezentowanej grupie można wykluczyć błąd wynikający z różnic w postępowaniu pomiędzy ośrodkami chirurgicznymi, jak również z różnic wynikających z modelu postępowania u chorych po przeszczepieniu, w tym kontroli ambulatoryjnej obejmującej badania bioptyczne, rutynowe badania kontrolne i model postępowania immunosupresyjnego.

W przedstawionych wynikach Doktorantka wykazała, iż przewlekła dysfunkcja przeszczepu narastała z czasem po transplantacji i w okresie 10-letniej obserwacji wystąpiła u około 38% chorych w wyniku oddziaływania licznych czynników uszkadzających zależnych od dawcy i biorcy, działających zarówno przed jak i po przeszczepie. Są to wyniki lepsze od większości publikowanych prac opisujących to zjawisko między 40%-60% biorców nerki

Należy podkreślić, fakt stosowania różnych kryteriów rozpoznania przewlekłej dysfunkcji przeszczepu. W przedstawionej pracy diagnoza PDP była oparta na kryteriach K-DOQI. Kliniczne objawy PDP, diagnozowane jako wzrost stężenia kreatyniny $>2\text{mg/dl}$, obniżenie eGFR $<50\text{ml/min}$, białkomocz, pogorszenie nadciśnienia tętniczego lub nadciśnienie *de novo*, wystąpiły około 4 lat po przeszczepieniu. Doktorantka potwierdziła, że najsilniejszymi czynnikami, które wielokrotnie zwiększały ryzyko progresji niewydolności przeszczepu były: białkomocz, infekcje wirusem CMV, funkcja przeszczepu w 12 i 24 miesiącu po transplantacji oraz stosowanie leczenia takrolimusem, MMF i prednisonem. Słusznie doktorantka zauważyła, iż z ostrożnością należy traktować wyniki dotyczące schematów zastosowanego leczenia immunosupresyjnego. Większość chorych leczonych schematem z wykorzystaniem takrolimusu i MMF/MPA otrzymywała ten typ leczenia w odpowiedzi na wystąpienie pogorszenia funkcji przeszczepu. Stąd wyniki te dobiegają od tych

prezentowanych w dużych badaniach kontrolowanych, w których porównywano tzw schematy de novo.

Istotnie statystycznie częściej u chorych z PDP w porównaniu z grupą chorych ze stabilną czynnością nerki występowały wczesne i późne epizody ostrego odrzucania, opóźnienie czynności przeszczepu, zakażenia układu moczowego, częściej była dokonywana konwersja z CsA na Tac. W grupie PDP dawcy byli starsi, a biorcy młodszy z przewagą płci męskiej, mieli wyższe ciśnienie tętnicze, wyższe stężenie kreatyniny i kwasu moczowego od szóstego miesiąca po transplantacji, niższe eGFR i niższe stężenie hemoglobiny od 6 miesiąca, niższe wartości białka całkowitego i albuminy w surowicy w drugim i piątym roku, natomiast istotnie wyższe stężenie triglicerydów w tych samych przedziałach czasowych.

W pierwszym okresie po transplantacji obejmującym 6 miesięcy częstość epizodów ostrego odrzucania wynosiła w grupie z przewlekłą dysfunkcją przeszczepu 46%, i korelowała z występowaniem opóźnionej czynności przeszczepu, a w grupie ze stabilną czynnością przeszczepu 30.8% ($p=0.0002$). Potwierdzona histopatologicznie częstość występowania epizodów ostrego odrzucania wynosiła odpowiednio 37.8% vs. 21.4% i była istotnie wyższa w grupie z opóźnioną czynnością przeszczepu. W grupie z przewlekłą dysfunkcją przeszczepu liczba wielokrotnych epizodów ostrego odrzucania była również istotnie wyższa w porównaniu z grupą chorych ze stabilną czynnością przeszczepu i wynosiła 23%, 9.7% vs 5.4%, 0.8% odpowiednio dla 2 i 3 epizodów ostrego odrzucania. Wyniki Doktorantki są zgodne z przedstawionymi w dyskusji publikacjami. Interesujące są wyniki badania histopatologicznego, które wykonano u połowy chorych z przewlekłą dysfunkcją przeszczepu, oceniające stopień zaawansowania zmian przewlekłych zarówno w kłębuszkach, naczyniach cewkach, śródmiaższu, jak też stopień występowania szkliwienia arterioli. Stopień zaawansowania zmian przewlekłych co najmniej „2” w kłębuszkach dotyczył jedynie 31.5% bioptatów, w naczyniach występował w 31%, bioptatów, w tkance śródmiaższowej w 66% bioptatów, w cewkach nerkowych w 50.5%, a stopień nasilenia szkliwienia arterioli co najmniej w stopniu „2” występował jedynie w 11.5% bioptatów. Jednocześnie wykonane badanie immunohistochemiczne wykazało obecność złogów C4d w 14.5% badanych bioptatów. Istotną wadą tej części analizy jest brak stałego protokołu bioptycznego zastosowanego u wszystkich chorych w pierwszym roku po przeszczepieniu oraz wykonanie biopsji u jedynie połowy chorych z przewlekłą dysfunkcją przeszczepu.

Doktorantka nie wykazała znaczenia takich czynników jak: retransplantacja, uczulenie mierzone odsetkiem PRA, dobór w zakresie antygenów HLA, czas zimnego i ciepłego niedokrwienia, etiologia przewlekłej choroby nerek, czas i metoda dializoterapii przed przeszczepem, masa ciała biorców, stężenie cholesterolu, cukrzyca potransplantacyjna. Nie stwierdzenie wpływu tych czynników na rozwój PDP może wynikać zarówno z wykluczenia grupy chorych, którzy stracili czynność przeszczepu w czasie pierwszego roku, wykluczenia chorych, którzy od początku mieli nieprawidłową czynność przeszczepu, których analizowano w oddzielnej grupie (UCZ) jak i nie uwzględnienia braku adherencji do leczenia immunosupresyjnego.

W analizie czynników immunologicznych istotna jest metodyka zastosowanych metod zarówno wykonania próby krzyżowej jak i panelu przeciwciał cytotoksycznych. W przebiegu lat zmieniła się w sposób istotny stosowana technologia wspomnianych testów. Obecnie odchodzi się od testów opartych na cytotoksyczności na rzecz technologii opartej na cytometrii przepływowej. Autorka przedstawia ujemny wynik próby krzyżowej u wszystkich chorych. Wiemy jednak, iż zastosowaniem metod opartych o cytometrię przepływową identyfikuje pewną grupę, która wykazuje obecność przeciwciał w tym specyficznych dla dawcy (DSA). Oczywiście w badaniu retrospektywnym trudno wykonać takie porównanie. Za cenny uważam fakt wykonywania próby krzyżowej zarówno z aktualnym osoczem biorcy jak i tym o najwyższym mianie PRA.

Ocenia się, że od 2 do 39% chorych po transplantacji nie przestrzega zaleceń dotyczących leczenia (noncompliance). Czynnikiem „noncompliance” jest drugą pod względem częstości przyczyną utraty przeszczepu powyżej 3 miesiąca po transplantacji i konieczności następnej transplantacji u około 13,5% pacjentów. Uzyskanie informacji od chorych o przerwaniu leczenia jest trudne, ponieważ pacjenci obawiają się przyznania do nie zażywania leków, aby nie zmniejszyć swojej szansy na kolejną transplantację. Częstszy rozwój PDP u młodszych mężczyzn mógłby sugerować wpływ braku adherencji do leczenia. Szczegółowa analiza tego problemu w oparciu o istniejące testy psychologiczne i badania ankietowe w mojej opinii powinna stać się ważnym uzupełnieniem tej świetnej pracy doktorskiej.

Rozwój PDP istotnie pogorszył wskaźniki przeżycia pacjentów i przeszczepu. Czternastoletnie przeżycie pacjentów w grupie PDP wynosiło 75%, podczas gdy w grupie kontrolnej prawie 90% .Przeżycie alloprzeszczepu recenzowane zgonem w grupie

z przewlekłą dysfunkcją przeszczepu w 10 i 15 roku wynosiło odpowiednio 44,3% i 16,5%, podczas gdy w grupie kontrolnej (stabilna funkcja graftu) nadal pozostawało wysokie i wynosiło 97,8% i 89,8%

Podsumowując recenzję rozprawy doktorskiej lek. med Aleksandry Wakulenko stwierdzam, że w pracy prawidłowo zdefiniowano zagadnienie i cele pracy. Została ona prawidłowo przeprowadzona pod względem metodycznym z uwzględnieniem niezwykle szerokiego zestawu czynników ryzyka z zastosowaniem współczesnej metodologii statystycznej. Doktorantka podjęła się aktualnego, niezwykle ważnego tematu i w mojej opinii poszerzyła dotychczasową wiedzę na jego temat. Z dużą swobodą posługuje się aktualnym i prawidłowo dobranym piśmiennictwem jednocześnie prezentując zarówno oryginalne wyniki własne jak i konkluzje. Przedstawiona do recenzji rozprawa spełnia ustawowe warunki określone dla prac doktorskich

Polskie Towarzystwo Transplantacyjne doceniając te wartościowe badania nad czynnikami ryzyka rozwoju i progresji przewlekłej dysfunkcji alop przeszczepu nerkowego uznało ją za najlepszą pracę prezentowaną na XI Kongresie Polskiego Towarzystwa Transplantacyjnego w Bydgoszczy.

Z obowiązku recenzenta pragnę zwrócić uwagę, że błędnie Doktoranta używa określenia wirus Epstein-Barra (strona 9). Jego nazwa pochodzi od Michaela Epsteina i Yvonne Barr, którzy odkryli go w 1964 roku zatem jest to wirus Epsteina-Barr.

W mojej opinii rozprawa doktorska lek. med. Aleksandry Wakulenko p.t. „ Przewlekła dysfunkcja nerki przeszczepionej – określenie czynników wpływających na jej rozwój“ zasługują na wyróżnienie.

Przedkładam zatem Wysokiej Radzie Wydziału Lekarskiego Kształcenia Podyplomowego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie lek. med. Aleksandry Wakulenko do dalszych etapów przewodu doktorskiego.


Dr hab. med. Piotr Przybyłowski