

LIETUVOS SVEIKATOS MOKSLŲ UNIVERSITETAS

Rima Maslauskienė

**DONORO IR RECIPIENTO INKSTŲ
PAŽEIDIMO BIOLOGINIŲ ŽYMENUŲ BEI
TAKROLIMUZO KONCENTRACIJOS
SĄSAJOS SU INKSTŲ
TRANSPLANTACIJOS IŠEITIMIS**

Daktaro disertacija
Medicinos ir sveikatos mokslai,
medicina (M 001)

Kaunas, 2024

Disertacija rengta 2019–2023 metais Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Nefrologijos klinikoje.

Mokslinė vadovė

prof. dr. Inga Arūnė Bumblytė (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001).

Konsultantas

prof. dr. Edgaras Stankevičius (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001).

Disertacija ginama Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Medicinos mokslo krypties taryboje:

Pirmininkas

prof. habil. dr. Limas Kupčinskas (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001).

Nariai:

prof. dr. Andrius Macas (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001);

prof. dr. Daimantas Milonas (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001);

doc. dr. Laurynas Rimševičius (Vilniaus universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001);

prof. dr. Aivars Petersons (Rygos Paulo Stradinio universitetas (Latvija), medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001).

Disertacija bus ginama viešame Medicinos mokslo krypties tarybos posėdyje 2024 m. rugpjūčio 29 d. 13 val. Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Slaugos fakulteto 106 auditorijoje.

Disertacijos gynimo vietos adresas: Eivenių g. 2, LT-50161 Kaunas, Lietuva.

LITHUANIAN UNIVERSITY OF HEALTH SCIENCES

Rima Maslauskienė

**ASSOCIATIONS BETWEEN DONOR
AND RECIPIENT KIDNEY INJURY
BIOMARKERS, TACROLIMUS
CONCENTRATION AND KIDNEY
TRANSPLANT OUTCOMES**

Doctoral dissertation
Medical and health sciences,
Medicine (M 001)

Kaunas, 2024

Dissertation has been prepared at the Department of Nephrology of Lithuanian University of Health Sciences during the period of 2019–2023.

Scientific Supervisor

Prof. Dr. Inga Arūnė Bumblytė (Lithuanian University of Health Sciences, Medicine and Health Sciences, Medicine – M 001).

Consultant

Prof. Dr. Edgaras Stankevičius (Lithuanian University of Health Sciences, Medicine and Health Sciences, Medicine – M 001).

Dissertation is defended at the Medical Research Council of the Lithuanian University of Health Sciences:

Chairperson

Prof. Habil. Dr. Limas Kupčinskas (Lithuanian University of Health Sciences, Medical and Health Sciences, Medicine – M 001).

Members:

Prof. Dr. Andrius Macas (Lithuanian University of Health Sciences, Medical and Health Sciences, Medicine – M 001);

Prof. Dr. Daimantas Milonas (Lithuanian University of Health Sciences, Medical and Health Sciences, Medicine – M 001);

Assoc. Prof. Dr. Laurynas Rimševičius (Vilnius University, Medical and Health Sciences, Medicine – M 001);

Prof. Dr. Aivars Petersons (Riga Paul Stradins University (Latvia), Medical and Health Sciences, Medicine – M 001).

Dissertation will be defended at the open session of the Medical Research Council of the Lithuanian University of Health Sciences on the 29th of August 2024 at 1 p.m. in auditorium 106 of the Faculty of Nursing of Lithuanian University of Health Sciences.

Address: Eivenių 2, LT-50161 Kaunas, Lithuania.

TURINYS

SANTRUMPOS IR TERMINAI	7
ĮVADAS.....	9
Darbo tikslas	12
Uždaviniai	12
Mokslinio darbo naujumas.....	12
1. LITERATŪROS APŽVALGA.....	14
1.1. Donorinio inksto pažeidimą sukeltys veiksniai.....	16
1.2. Donorinio inksto kokybės vertinimo metodai	19
1.2.1. Ribinių kriterijų donorai ir donorų vertinimo skalės	21
1.3. Inkstų pažeidimo biologiniai žymenys	23
1.3.1. Su neutrofilų gelatinaze susijęs lipokalinas (NGAL)	25
1.3.2. Inkstų pažeidimo molekulė-1 (KIM-1).....	29
1.3.3. Interleukinas-18 (IL-18)	31
1.3.4. Chemokinai: CXCL9 – C-X-C motyvo chemokinas 9 (CXCL9) ir CXCL10 – C-X-C motyvo chemokinas 10 (CXCL10)	32
1.4. Gydymo takrolimuzu iššūkiai	36
2. TYRIMO KONTINGENTAS IR METODAI	38
2.1. Tiriamųjų kontingentas ir duomenų kaupimas	38
2.2. Klininių ir demografinių duomenų rinkimas ir analizė	40
2.3. Biologinių žymenų rinkimas ir analizė.....	41
2.4. Biologinių žymenų ir klinikinių duomenų sąsajų su vėluojančia transplantuoto inksto funkcija tyrimas.....	43
2.4.1. Donorų biologinių žymenų ir klinikinių duomenų grupės tyrimas.....	43
2.4.2. Recipientų biologinių žymenų ir klinikinių duomenų grupės tyrimas	44
2.5. Biologinių žymenų sąsajų su transplantuoto funkcija 1 m., 2 m., 3 m. ir ūminiu atmetimu tyrimas	44
2.6. Takrolimuzo ekspozicijos ir metabolizmo parametrų sąsajų su inksto baigtimis tyrimas.....	45
2.6.1. Takrolimuzo ekspozicijos ir metabolizmo parametrų sąsajų su lėtiniais histologiniais pokyčiais protokolinėse inkstų biopsijose tyrimas.....	46
2.7. Statistinė duomenų analizė	47
3. DARBO REZULTATAI.....	49
3.1. Mirusių inkstų donorų demografiniai ir klinikiniai duomenys	49
3.2. Recipientų, kuriems transplantuoti mirusių donorų inkstai, demografiniai ir klinikiniai duomenys.....	51

3.3. Biologinių žymenų ir klinikinių veiksnių sąsajos su vėluojančia inksto funkcija tyrimas.....	53
3.3.1. Inkstų donorų klinikinių veiksnių ir biologinių žymenų sąsajų su vėluojančia transplantuoto inksto funkcija tyrimas	53
3.3.2. Recipientų biologinių žymenų ir klinikinių duomenų sąsajų su vėluojančia transplantuoto inksto funkcija tyrimas	62
3.5. Biologinių žymenų sąsajų su inksto funkcija vėlyvuojančiu periodu ir ūminiu atmetimu tyrimas.....	75
3.5.1. Donorų veiksnių sąsajos su aGFG vėlyvuojančiu laikotarpiu po inksto transplantacijos	75
3.5.2. Recipientų biologinių žymenų sąsajos su transplantuotų inksto funkcija ir histologiniais pokyčiais protokolinėse biopsijose	77
3.5.3. Biologinių žymenų sąsajos su ūmaus atmetimo dažniu.....	78
3.6. Takrolimuzo ekspozicijos ir metabolizmo parametrų sąsajų su inksto išėjimu tyrimas	79
3.6.1. Takrolimuzo koncentracijos stebėjimo metodų sąsajos su transplantuoto inksto funkcija	80
3.6.2. Takrolimuzo koncentracijos stebėsenos parametrų sąsajos su ūminiu atmetimu	81
3.6.3. Takrolimuzo koncentracijos stebėsenos parametrų ir biologinių žymenų sąsajos	82
3.6.4. Pokyčių inkstų biopsijose analizė	83
4. REZULTATŲ APTARIMAS	85
IŠVADOS	98
PRAKTINĖS REKOMENDACIJOS	99
SUMMARY	100
LITERATŪROS SĄRAŠAS	131
PUBLIKACIJŲ SĄRAŠAS	144
STRAIPSNIŲ KOPIJOS, KURIOSE SKELBIAMI SVARBIAUSI TYRIMŲ REZULTATAI	147
PRIEDAI.....	176
CURRICULUM VITAE	179
PADĖKA	180

SANTRUMPOS IR TERMINAI

ADQI	– Ūminių ligų kokybės iniciatyvos susirinkimas (angl. <i>Acute Disease Quality Initiative</i>)
aGFG	– apskaičiuotasis glomerulų filtracijos greitis
ATG	– antitomocitinis globulinas
AUC	– plotas po kreive (angl. <i>Area Under the Curve</i>)
BEST	– Biologinių žymenų, galutinių rodiklių ir kitų priemonių klasifikacija (angl. <i>Biomarkers, Endpoints, and other Tools</i>)
C ₀	– mažiausia veiksminga vaisto koncentracija kraujyje
CKD-EPI	– lėtinės inkstų ligos epidemiologinis bendradarbiavimas (angl. <i>Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration</i>)
CXCL9	– C-X-C motyvo chemokinas 9
CXCL10	– C-X-C motyvo chemokinas 10
CV	– variabilumo koeficientas
DCD	– neplakančios širdies donoras (angl. <i>donation after circulatory death</i>)
DSA	– donorui specifiniai antikūnai
ELISA	– imunofermentinis analizės metodas
EMA	– Europos vaistų agentūra
ERA	– Europos inkstų (<i>specialistų</i>) asociacija (angl. <i>European Renal Association</i>)
ESOT	– Europos organų transplantacijos draugija (angl. <i>European Society of Organ Transplantation</i>)
Eurotransplant	– tai organizacija, vienijanti aštuonias Europos šalis nares, turinčias 79 transplantacijos centrus ir užtikrinanti mirusių donorų organų sklaidą tarp donorinių ligoninių ir transplantacijos centrų
FDA	– maisto ir vaistų administracija (angl. <i>Food and Drug Administration</i>)
GS	– galimybių santykis
HRSA	– Sveikatos išteklių ir paslaugų administracija (angl. HRSA – <i>Health Resources and Services</i>)
IL-18	– interleukinas 18
IQR	– tarpkvartilinis intervalas
JAV	– Jungtinės Amerikos Valstijos
KAS	– Inkstų paskirstymo sistema (angl. <i>US Kidney Allocation System</i>),
KDIGO	– inkstų liga: globalus baigčių gerinimas (angl. <i>Kidney Disease: Improving Global Outcomes</i>)
KIM-1	– inkstų pažeidimo molekulė -1
KDPI	– inksto donoro profilio indeksas (angl. <i>Kidney Donor Profile Index</i>)
KDRI	– inksto donoro rizikos indeksas (angl. <i>Kidney Donor Risk Index</i>)
KMI	– kūno masės indeksas
KNI	– kalcineurino inhibitoriai
LIL	– lėtinė inkstų liga
L-FABP	– kepenų riebalų rūgštis surišantis baltymas
mln. gyv.	– milijonui gyventojų
MMF	– mikofenolato mofetilis
n	– atvejų skaičius
nulinė biopsija	– donoro inksto biopsija, atliekama iškart persodinus inkstą recipientui

NIH	– Nacionalionis sveikatos institutas (angl. NIH – <i>National Institutes of Health</i>)
NGAL	– su neutrofilų gelatinaze susijęs lipokalinas
PI	– pasikliautinis intervalas
PIT	– pakaitinė inkstų terapija
<i>p/g.</i>	– palyginti su
ribinių kriterijų donoras	– tai miręs inkstų donoras, vyresnis nei 60 m. arba 50–59 m., kuriam patvirtintos dvi iš trijų patologijų: sergamumas AH, kraujagyslinės kilmės galvos smegenų mirtis ir (arba) kreatinino kiekis kraujyje > 133 $\mu\text{mol/l}$
ROC	– testo jautrumo ir specifiškumo sąsają vaizduojantis grafikas (angl. <i>Receiver Operating Curves</i>)
s	– serumas
<i>sin.</i>	– sinonimas
sKR	– serumo kreatininas
SN	– standartinis nuokrypis
SPSS	– statistinės duomenų analizės programinis paketas (angl. <i>Statistical Package for the Social Sciences</i>)
SRTR	– transplantuotų recipientų mokslinis registras (angl. <i>Scientific Registry of Transplant Recipients</i>)
Šaltosios išemijos trukmė	– tai laikas nuo donoro inksto kraujotakos sustabdymo ir konservavimo hipotermijos sąlygomis pradžios iki kraujotakos atnaujinimo transplantacijos recipientui metu
TAC	– takrolimuzas
u	– šlapimas
ŪIP	– ūminė inkstų pažeidimas
UNOS	– Jungtinis organų sklaidos tinklas (angl. <i>United Network for Organ Sharing</i>)
USRDS	– Jungtinių Amerikos valstijų inkstų duomenų sistema (angl. <i>The United States Renal Data System</i>)
Vėluojanti transplantuoto inksto funkcija	– išliekantis dializės procedūrų poreikis per pirmąją savaitę po inksto transplantacijos
ŽLA	– žmogaus leukocitų antigenai (angl. <i>human leukocyte antigen</i> , HLA)

ĮVADAS

Dėl ilgėjančios vidutinės gyvenimo trukmės, didėjančio sergamumo cukriniu diabetu bei širdies ir kraujagyslių ligomis, lėtine inkstų liga (LIL) sergančių asmenų skaičius pastaruosius dešimtmečius didėja. 2021 m. LIL buvo septinta iš dažniausių 288 suaugusiųjų neinfekcinių ligų mirties priežasčių [1]. Paskutiniaisiais metais paskelbtų tarptautinių registrų duomenimis, pakaitine inkstų terapija (PIT) gydomų pacientų skaičius pastarąjį dešimtmetį padidėjo iki 1040 mln. gyv. Europoje [2] ir iki 2219 mln. gyv. JAV [3]. Deja, atliekamų inkstų transplantacijų pokytis išlieka saikus – ERA registro (angl. ERA – *European Renal Association*) duomenimis, 2015–2021 m. transplantacijų skaičius kito nuo 31 iki 37 mln. gyv. [2]. JAV recipientams, įtrauktiems į laukiančiųjų inksto transplantacijos sąrašą, transplantacija atliekama per pirmuosius metus tik 27,5 proc., o per penkerius – 46,3 proc. [4, 5]. Pastaraisiais metais šioje šalyje inksto laukimo trukmės mediana buvo 4,05 m. [6]. Europoje laukimo laikas yra trumpesnis, Eurotransplant registro duomenimis, beveik pusė recipientų (45,1 proc.) sulaukia inksto per pirmuosius metus, bet ilgiau negu 5 m. laukia beveik penktadalis (19,8 proc.) recipientų [7]. **Tinkamų donorų skaičiaus didinimas yra vienas iš pagrindinių transplantologijos uždavinių.**

Daugelio tyrimų duomenimis, transplantacijų iš gyvo donoro ankstyvieji ir tolimieji rezultatai yra daug geresni, tačiau dauguma inksto transplantacijų (išskyrus šalis, kuriose dėl religinio ar teisinio reguliavimo atliekamos transplantacijos tik iš gyvo donoro) yra atliekamos paimant inkstus iš mirusių donorų. Siekiant sumažinti visame pasaulyje esantį donorinių inkstų trūkumą, dedamos pastangos padidinti organų skaičių atliekant transplantacijas iš neplakančios širdies donorų, vyresnio amžiaus donorų, donorų, kuriems diagnozuotas ūminis inkstų pažeidimas (ŪIP) ar įvairios gretutinės patologijos [8]. Nuo 2002 m. atliekamos transplantacijos, naudojant ribinių kriterijų donorų inkstus (angl. ECD – *Expanded Criteria Donor*), t. y. vyresnių negu 60 m. arba 50–59 m. amžiaus ir turinčių bent dvi iš trijų apibrėžtų patologijų [9]. Per pastaruosius dešimtmečius Europoje padvigubėjo (iki 15,4 proc.) transplantacijų iš vyresnių nei 70 m. amžiaus donorų [10]. Neseniai publikuotame septynių Europos šalių tyrime nustatyta, kad per dešimtmetį inksto donoro rizikos indekso (KDRI), rodančio santykinę inksto nepakankamumo riziką, palyginti su praeitų metų transplantacijomis iš mirusių donorų, mediana kasmet didėjo 1,3 proc. Šį padidėjimą, rodantį vis blogesnę inkstų kokybę, daugiausia lėmė donorų amžiaus, arterinės hipertenzijos ir neplakančios širdies donorystės padidėjimas [11]. Ilgėjant žmonių gyvenimo trukmei ir didėjant cukrinio diabeto, arterinės hipertenzijos ir nutukimo paplitimui,

tikėtina, kad **donorų inkstai ir toliau bus blogesnės kokybės**. Įtakos transplantacijų baigtims gali turėti ir tai, jog atitinkamai daugėja vyresnio amžiaus, daugiau gretutinių ligų turinčių recipientų.

Iš kitos pusės, nemažai potencialių mirusių vyresnio amžiaus arba turinčių gretutinių patologijų donorų atsisakoma dėl blogų baigčių baimės. 2022 m. JAV pasiūlytų, bet nepaimtų transplantacijai, inkstų dažnumas padidėjo iki 26,7 proc., palyginti su 2011 m. buvusiais 17,79 proc. [5]. Programai „Eurotransplant“ priklausančiose šalyse 2023 m. neefektyvių potencialių mirusių donorų inkstų buvo 24,7 proc. [7]. **Transplantacijos baigčių rezultatų analizė, naudojant ribinių bei ūmine inkstų pažeidimą sergančių donorų organus, išlieka aktuali tema.**

Olandijoje, Jungtinėje Karalystėje atliktuose tyrimuose ir JAV mokslininkų publikuotoje metaanalizėje nustatyta, kad transplantacija iš ribinio donoro lemia trumpesnį persodinto inksto [12, 13] ir paciento išgyvenamumą [12–14]. Kiti tyrėjai padarė išvadą, kad po ribinių kriterijų donorų operacijų, nors apskaičiuotas glomerulų filtracijos greitis (aGFG) buvo mažesnis pirmaisiais trejais–penkeriais metais, vėliau inksto funkcija reikšmingai nesiskyrė nuo standartinių kriterijų donorų inkstus gavusiųjų recipientų [15, 16]. Daugelio tyrimų duomenimis, donoro ŪIP yra reikšmingas vėluojančios transplantuoto inksto funkcijos rizikos veiksnys. Kai kuriuose tyrimuose nustatyta, kad šios komplikacijos rizika proporcingai didėja didėjant donoro ŪIP stadijai [17–20]. Kiti autoriai, analizavę tokių transplantacijų tolimuosius rezultatus nustatė, kad prieš transplantaciją buvęs donoro kreatinino kiekis tampa mažiau reikšmingas recipiento inksto funkcijai vėlesniu laikotarpiu [21–23]. **Nevienareikšmiai tyrimų rezultatai skatina ieškoti tikslesnių, potransplantacinių komplikacijų prognozinę vertę turinčių veiksmų.**

Vėluojanti transplantuoto inksto funkcija yra dažniausia ankstyvojo laikotarpio komplikacija. Nors daugėja ištyrimo ir gydymo galimybių, vėluojančios transplantuoto inksto funkcijos dažnumas išlieka gana stabilus: svyruoja nuo 2,6 proc. po transplantacijų iš gyvų [24], iki 27–32 proc. iš mirusių dėl galvos smegenų patologijos donorų transplantacijų [25–27] ir 39–65 proc. po transplantacijų iš mirusių dėl širdies ir kraujotakos sustojimo donorų (*sin. neplakančios širdies donorų; angl. DCD – donation after circulatory death*) [28–30]. Daugelio autorių duomenimis, ši komplikacija yra susijusi su blogesnėmis ankstyvojo ir vėlyvojo laikotarpio transplantuoto inksto baigtimis [31–36], todėl **vėluojančios inkstų funkcijos prognostiniai ir preventiniai tyrimai išlieka aktuali transplantologijos sritis.**

Transplantacijos rezultatus lemia dauginiai veiksniai: ne tik donorinio organo kokybė, tinkamas recipiento paruošimas, bet ir adekvati imunosupresinė terapija. Ilgalaiams rezultatams įtakos gali turėti tiek per maža, tiek per

intensyvi imunosupresija – tai abiem atvejais gali lemti blogas baigtis, tokias kaip transplantuoto inksto nepakankamumas, ūminis ar lėtinis atmetimas, infekcinės komplikacijos, vaistų toksiškumas ir piktybinių navikų išsivystymas. Po inksto transplantacijos dažniausiai skiriamas palaikomasis kombinuotas imunosupresinis gydymas mikofenolato mofetilu (MMF), kalcineurino inhibitoriumi (KNI) (takrolimuzu (TAC) arba ciklosporinu) ir gliukokortikoidais. Takrolimuzas yra labai veiksmingas vaistas atmetimo prevencijai, tačiau jo skyrimą sunkina siauras terapinis langas ir farmakokinetikos kintamumas tarp pacientų ir (laikui bėgant) net to paties paciento. Atsižvelgiant į sudėtingą balansavimą tarp atmetimo rizikos ir vaisto toksiškumo, takrolimuzo dozavimui ir poveikio stebėsenai skiriama daug dėmesio. Dauguma transplantacijos centrų įprastai taiko terapinę vaistų stebėseną, tirdami mažiausią veiksmingą vaisto koncentraciją kraujyje prieš kitą dozę (C_0), bet šis metodas per mažai koreliuoja su klinikiniais rezultatais [37]. Todėl analizuojami ir kiti takrolimuzo ekspozicijos ir metabolizmo nustatymo metodai, įskaitant takrolimuzo koncentracijos ir dozės santykį (C/D) [38–40], takrolimuzo variabilumo koeficientą ($TAC C_0 CV$) [41, 42], terapinio intervalo laiką [43], plotą po koncentracijos ir laiko kreivę [44, 45]. Šiuo metu **nėra bendro sutarimo dėl tiksliausio ir tinkamiausio papildomo takrolimuzo parametrų stebėsenos metodo klinikinėje praktikoje.**

Pastaruosius dešimtmečius ieškoma neinvazinių donoro ir recipiento diagnostinių ir prognozinių žymenų, padėsiančių anksti tiksliau objektyvizuoti donorinio organo kokybę, nuspėti komplikacijas, individualizuoti imunosupresinį gydymą, prognozuoti ankstyvasias ir vėlyvasias baigtis. Nacionalinio sveikatos instituto (angl. NIH) Biožymenų apibrėžimo darbo grupė (angl. *Biomarkers Definitions Working Group*) 2001 m. pasiūlė ir dabar vartojamą apibūdinimą: biologinis žymuo – tai objektyviai pamatuojama ir įvertinama charakteristika, kuri yra normalių biologinių procesų, patologinių procesų ar farmakologinio atsako į terapinę intervenciją rodiklis [46]. Sukurta daug novatoriškų technologijų, siekiant nustatyti genominius, transkriptominius, proteominius, metabolominius biologinius žymenis serume, šlapime, periferinio kraujo limfocituose, inksto biopsijos audinyje, perfuzinio aparato tirpaluose, kurie būtų tinkami donoro ūminio pažeidimo diagnostikai ir komplikacijoms prognozuoti, ypač vėluojančiai inkstų funkcijai, imunosupresinių vaistų nefrotoksiniam poveikiui, ūminiam atmetimui bei lėtinei transplantuoto inksto disfunkcijai [47]. Nors atliekama vis daugiau inovatyvių tyrimų, tačiau daugumos biologinių žymenų tyrimų metodikos sudėtingos, reikalinga brangi aparatūra, atlikimą riboja ilga analizės trukmė ir didelė kaina.

Šiame moksliniame darbe papildomam donorinio organo kokybės bei komplikacijų po inksto transplantacijos prognozės vertinimui buvo pasirinkti biologiniai inkstų pažeidimo žymenys yra tirti ne tik transplantacijos, bet ir

įvairiose klinikinėse srityse. Palyginti su genomiais tyrimais, jie yra nesudėtingai atliekami, be to, kai kuriuos žymenis galima gana greitai iširti – tai padidina jų įdiegimo į kasdieninę praktiką galimybę. Takrolimuzo koncentracijų stebėjimo metodų sąsają su inksto baigtimis analizė įgalina teikti individualizuotos imunosupresijos skyrimo rekomendacijas, siekiant pagerinti paciento ir transplantuoto inksto išgyvenamumą.

Darbo tikslas

Nustatyti donoro ir recipiento inkstų pažeidimo biologinių žymenų (su neutrofilų gelatinaze susijusio lipokalino (NGAL), inkstų pažeidimo molekulinės 1 (KIM-1), interleukino 18 (IL-18), C-X-C motyvo chemokino ligando-9 (CXCL9), C-X-C motyvo chemokino ligando-10 (CXCL10)), bei takrolimuzo ekspozicijos ir metabolizmo parametrų sąsajas su transplantacijos baigtimis.

Uždaviniai:

1. Įvertinti donoro ir recipiento inkstų pažeidimo biologinių žymenų NGAL, KIM-1, IL-18, CXCL9, CXCL10 sąsajas su vėluojančia transplantuoto inksto funkcija.
2. Įvertinti donoro ir recipiento biologinių žymenų NGAL, KIM-1, IL-18, CXCL9, CXCL10 sąsajas su transplantuoto inksto funkcija 3 m. laikotarpiu.
3. Nustatyti recipiento biologinių žymenų NGAL, KIM-1, IL-18, CXCL9, CXCL10 sąsajas su histologiniais transplantuoto inksto pokyčiais.
4. Įvertinti takrolimuzo ekspozicijos ir metabolizmo parametrų: mažiausios veiksmingos vaisto koncentracijos, koncentracijos ir dozės santykio, vaisto variabilumo sąsajas su transplantuoto inksto funkcija ir histologiniais pokyčiais.

Mokslinio darbo naujumas

Literatūros duomenimis, pasaulyje vykdoma daug tyrimų, kuriais siekiama nustatyti biologinius žymenis, galinčius padėti prognozuoti inkstų transplantacijos baigtis, tačiau jų rezultatai yra priešaringi ir skatina toliau tęsti paieškas. Iki šiol Lietuvoje dar nebuvo tyrinėti donorų inkstų pažeidimo biologiniai žymenys kaip papildomi donorinio organo kokybės ir transplantuoto inksto baigčių prognostiniai rodikliai, kartu apjungiant ir recipientų žymenis. Šiame moksliniame darbe analizuoti biologiniai žymenys, kurie pirmiausia buvo nustatyti kaip atspindintys ūminę inkstų pažeidimą klinikinėse

situacijose, nesusijusiose su transplantacija. Iškėlėme hipotezę, kad jie galėtų būti potencialiais prognoziniais žymeniais inkstų transplantacijos srityje. Lyginant su genominiiais žymenimis, NGAL, KIM-1, IL-18 tyrimai yra gana nesudėtingai atliekami, todėl galėtų būti lengviau pritaikomi kasdienėje praktikoje. Į tyrimą įtraukėme ir naujos kartos žymenis chemokinus CXCL9, CXCL10, kurių prognozinė reikšmė inkstų transplantacijoje dar nėra aiškiai nustatyta ir išlieka aktualiu tyrinėjimo objektu. Papildomai atlikome inkstų donoro profilio indekso (KDPI) ir inksto rizikos indekso (KDRI) asociacijų su inksto baigtimis analizę. KDPI rekomenduojamas donorinio organo kokybės vertinimui ir gana plačiai naudojamas kai kuriose šalyse. Šio rodiklio taikymo prognozinė nauda Lietuvoje iki šiol nebuvo vertinta. Kitą mūsų tyrimo dalį sudarė vieno iš pagrindinių imunosupresinio vaisto – takrolimuzo koncentracijos kraujyje stebėjimo metodų tyrimas. Imunosupresinės terapijos individualizavimas pacientams po organų transplantacijos – tai vienas iš aktualiausių klausimų transplantacijos srityje tiek Lietuvoje, tiek pasaulyje. Šiame moksliniame darbe išanalizavome kasdienėje praktikoje naudojamos mažiausios veiksmingos takrolimuzo (TAC) koncentracijos kraujyje ir papildomų vaisto matavimų parametrų: koncentracijos ir dozės santykio bei variabilumo koeficiento sąsajas su transplantuoto inksto baigtimis ir pateikėme praktines rekomendacijas. Šio mokslinio darbo naujumas yra tai, kad skirtingai nuo kai kurių kitų šalių transplantacijos centrų, Lietuvos sveikatos mokslų universiteto ligoninėje Kauno klinikose (toliau – Kauno klinikos) yra atliekamos protokolinės transplantuoto inksto biopsijos, tai leido išanalizuoti sąsajas tarp recipientų biologinių žymenų, takrolimuzo koncentracijos stebėjimo parametrų bei histologinių pokyčių.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

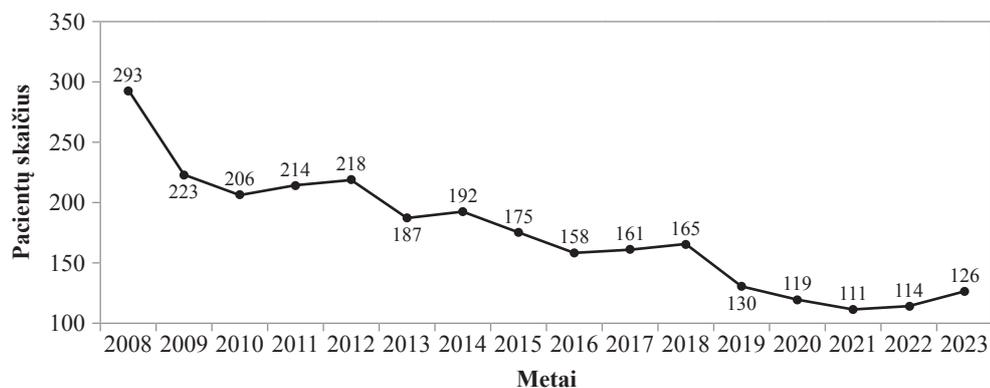
Pastaraisiais dešimtmečiais medicinoje sparčiai tobulėja diagnostikos ir gydymo metodai, tačiau lėtinė inkstų liga (LIL) išlieka aktualia medicinos problema. Naujaisiais publikuotais 161 šalies duomenimis, LIL paplitimo mediana pasaulyje buvo 9,5 proc. (IQR 5,9–11,7), o didžiausias paplitimas Rytų ir Vidurio Europoje – 12,8 proc. [48, 49] ir 14 proc. – JAV [3]. Prognozuojama, kad iki 2040 m. LIL bus penkta pagal svarbą prarastų gyvenimo metų priežastis visame pasaulyje [50]. Didėja pakaitine inkstų terapija gydomų pacientų skaičius: per pastarąjį dešimtmetį Europoje nuo 2015 m. buvusio 801/mln. gyv. išaugo iki 1040 mln. gyv. 2021 m. [2]. JAV tokių pacientų yra beveik du kartus daugiau,USRDS (angl. *United States Renal Data System*) duomenimis, 2021 m. pakaitinės inkstų terapijos paplitimas buvo 2219 mln. gyv. [3].

Inkstų transplantacija yra geriausias pakaitinės inkstų terapijos metodo pasirinkimas pacientams sergantiems galutinės stadijos lėtine inkstų liga ir tinkamiems pagal sveikatos būklę. Ir ankstesnių, ir naujai atliktų tyrimų duomenimis, transplantacija, lyginant su dializėmis, pagerina pacientų gyvenimo kokybę, sumažina širdies ir kraujagyslių komplikacijų dažnį bei prailgina gyvenimo trukmę [51–53]. Nors pirmaisiais metais po atliktos inksto transplantacijos sveikatos apsaugos skiriamos išlaidos, lyginant su dialize gydomiems pacientams, yra didesnės, tačiau vėliau gydymui skiriamų lėšų poreikis yra ženkliai mažesnis negu tęsiantiems gydymą dialize pacientams [49, 54–56].

Atliekamų inkstų transplantacijų skaičiaus pokytis pastarąjį dešimtmetį išlieka saikus. ERA duomenimis, 2015 m. Europoje buvo atliktos 21 056 inkstų transplantacijos, o 2021 m. – 19 568, atitinkamai pakito nuo 31 iki 37 mln. gyv. [2]. JAV per metus atliekamų inkstų transplantacijų skaičius augo nuo 18 597 (2015 m.) iki 26 309 (2022 m.) ir sudarė 77 mln. gyv.

Yra įrodyta, kad transplantacijų iš gyvo donoro ankstyvieji ir vėlyvieji rezultatai yra geresni, negu iš mirusių donorų, tačiau, daugumoje valstybių (išskyrus tas, kuriose dėl religinių motyvų ar teisinių reguliavimo atliekamos transplantacijos tik iš gyvų donorų) vyrauja inksto transplantacijos naudojant mirusių donorų organus. JAV 2022 m. gyvų donorų transplantacijos sudarė tik apie penktadalį (21,97 proc.) visų transplantacijų [57], tuo tarpu Europoje 2021 m. – trečdalį (33 proc.) [2]. Nacionalinio Transplantacijos Biuro prie Sveikatos apsaugos ministerijos duomenimis, 2023 m. Lietuvoje atitinkamai buvo atlikta 35,93 mln. gyv. transplantacijų iš mirusių donorų ir 2,22 mln. gyv. – iš gyvų donorų.

Daugelyje šalių laukiančiųjų inksto transplantacijos skaičius yra didėjantis. 2022 m. JAV inksto laukė 140 165 pacientai, kas sudarė 12,3 proc. dializėmis gydomų pacientų. 2023 m. Jungtinėje Karalystėje buvo 5655 recipientai, kas sudarė 88,4 mln. gyv. [58]. Lietuvoje recipientų skaičiaus dinamika pastarąjį dešimtmetį buvo saiki. Lietuvos Nacionalinio transplantacijos biuro prie Sveikatos apsaugos ministerijos duomenimis, 2024 m. balandžio 30 d. inksto transplantacijos laukė 133 recipientai, iš jų 53 buvo laikinai neaktyvūs, šie duomenys pateikti 1.1 pav.



1.1 pav. *Laukiančiųjų inksto transplantacijos skaičiaus dinamika Lietuvoje 2008–2023 m. (Nacionalinio transplantacijos biuro prie Sveikatos apsaugos ministerijos 2024 04 30 duomenys)*

Duomenys pateikiami kiekvienų metų gruodžio 31 d.

Dėl senstančios visuomenės, gretutinių ligų gydymo pažangos, daugėja pakaitine inkstų terapija gydomų vyresnių pacientų. ERA duomenimis, 2021 m. 47 proc. tokių pacientų buvo 65 m. amžiaus ir vyresni. Atitinkamai pastarąjį dešimtmetį stebimas ir vyresnių recipientų skaičiaus augimas. 2021 m. JAV 42,3 proc. laukiančių transplantacijos sudarė 50–64 m. amžiaus pacientai, bet, vyresnių negu 65 m. amžiaus padaugėjo iki 26,5 proc.

Siekiant sumažinti išliekantį donorinių organų trūkumą, dedamos pastangos padidinti organų skaičių skatinant gyvosios donorystės programas, atliekant transplantacijas iš neplakančios širdies donorų, rekomenduojant apsvarstyti vyresnio amžiaus donorų ar turinčių ūminio inksto pažeidimo požymių organų tinkamumą [8], todėl daugėja atliekamų transplantacijų iš labiau pažeistų donorinių organų.

1.1. Donorinio inksto pažeidimą sukeliančios veiksniai

Transplantacijos proceso metu inkstas yra paveikiamas daugelio žalojančių veiksnių:

- *mirties sukelta donoro uždegiminė būklė*. Didelė bet kokios etiologijos smegenų pažeidimas sukelia sisteminių atsakų: uždegiminius, hemodinaminius ir endokrininius pokyčius. Smegenų mirtis skatina ūmų ir masyvių katecholaminų išsiskyrimą, sukeldama uždegiminę būseną. Jai būdinga pakitusi citokinų reguliacija, panaši į sepsio metu susidariusius uždegiminių citokinų pokyčius [59]. Uždegiminis atsakas susijęs su leukocitų migracija į pagrindinius organus, uždegiminių citokinų aktyvavimu ir gausiu jų išsiskyrimu, reaktyvių deguonies formų susidarymu, padidėjusiu kraujagyslių pralaidumu ir organų funkcijos sutrikimu [60]. Ranjithkumar Ravichandran ir bendr. ištyrė donorų plazmoje eilę uždegiminių žymenų, tokių kaip interleukinas-6 (IL-6), interleukinas-8 (IL-8), interferonas-gama (IFN- γ), IP-10 (CXCL10). Autoriai nustatė, kad mirusių dėl smegenų patologijos donorų plazmoje, šių žymenų kiekis buvo didesnis negu neplakančios širdies donorų [61].
- *išemijos–reperfuzijos sukelta pažeidimas*. Tai audinių pažeidimas dėl anksčiau hipoksijos pažeistų audinių reperfuzijos. Dėl didelio inkstų kanalėlių epitelinių ląstelių metabolinio aktyvumo ir gausaus mitochondrijų bei lizosomų kiekio jose, išemija–reperfuzija labiausiai paveikia kanalėlių sistemą, ypač peritubulinius kapiliarus ir intersticiumą. Audinių pažeidimą sukelia daug sudėtingų mechanizmų, iš kurių pagrindinis vaidmuo tenka dėl hipoksijos nulemtu anaerobinio metabolizmo ląstelėse sumažėjusio pH ir greito adenozino trifosfato (ATF) išsekimo dėl suaktyvėjusios reaktyviųjų deguonies formų gamybos. Reperfuzijos metu pažeidimo vietoje kaupiasi imuninės ląstelės, tokios kaip makrofagai, dendirginės ląstelės, limfocitai ir kt., kurios išskiria prouždegiminius citokinus, generuoja laisvuosius radikalus, taip dar labiau didindamos ląstelių pažeidimą ir skatindamos vėlesnius apoptozės ir nekrozės procesus [62, 63]. Transplantacijos procese išemija yra neišvengiama. Išemijos–reperfuzijos pažeidimas yra susijęs su ankstyvosiomis ir vėlyvosiomis organų transplantacijos komplikacijomis. Jis gali sukelti pirminį transplantuoto inksto nefunkcionavimą arba vėluojančią inkstų funkciją ir skatinti ūminį atmetimą bei fibrozės vystymąsi transplantuotame inkste. Inkstų transplantacija iš neplakančios širdies donorų (DCD) yra susijusi su ilgesniu šaltosios išemijos laiku ir sunkesniu išeminiu–reperfuziniu pažeidimu, todėl, palyginti su transplantacija po gyvosios ar smegenų mirties donorystės, yra didesnė ankstyvo transplantuoto inksto praradimo ir vėluojančios inksto funkcijos rizika.

Kiekvienas transplantuotas mirusio donoro organas yra paveikiamas šių dviejų pažaidą sukeliančių būklių.

- *donoro ūminė inkstų pažaida (ŪIP)*. Mirusiems donorams, kurie paprastai neserga lėtine inkstų liga, sunkia širdies ir kraujagyslių liga ar sepsiu, įvairūs klinikiniai veiksniai gali lemti kreatinino kiekio serume svyravimus, atitinkančius ŪIP kriterijus. Visų pirma, vazopresino svyravimai smegenų mirties metu gali prisidėti prie skysčių netekimo ir įvairių hemodinaminių pokyčių. Mirusių donorų inkstai gali turėti didesnę regeneracijos po pažaidos potencialą, negu dėl kitų priežasčių ŪIP sergantys pacientai, nes donorai paprastai yra jaunesni ir turi mažiau gretutinių ligų nei kiti intensyvios terapijos skyriuose gydomi ligoniai [64]. Kita vertus, donoro ūminis inkstų pažeidimas suaktyvina imuninę sistemą ir gali išprovokuoti recipiento aloimunines reakcijas, nors, pastaraisiais metais kai kurių atliktų tyrimų duomenimis, nenustatyta reikšmingų sąsajų tarp donoro ŪIP ir ūminio atmetimo dažnio pirmaisiais metais po inksto transplantacijos [20, 65]. Johanness Jacobi ir bendr. atliktame tyrime nustatė, kad recipientų, kuriems buvo transplantuoti inkstai iš ribinių donorų su ŪIP, vienerių metų inksto išgyvenamumas buvo blogesnis (78,6 proc. *plg.* 91,3 proc.) [66]. Šiuos rezultatus patvirtino Woo Y. Park ir bendr. atliktas tyrimas, kuriame recipientams po transplantacijų iš ribinių kriterijų donorų su ŪIP buvo didesnė vėluojančios inksto funkcijos ir trumpesnio inksto išgyvenamumo rizika. 3 mėn. po transplantacijos atliktose šių pacientų inkstų biopsijose buvo labiau išreikšta glomeruloskleroze, intersticinė fibrozė bei kanalėlių atrofija palyginti su iš standartinių kriterijų donorų atliktose biopsijose [67]. Tai galima paaiškinti tuo, kad padidėjęs kreatinino kiekis standartinių kriterijų donorams gali būti susijęs su grįžtamu ūminiu inkstų pažeidimu dėl hipoksinių–išeminių ir nefrotoksinių pažeidimų, kurie laikui bėgant gali atsistatyti, o transplantacijų iš ribinių donorų atvejais, padidėjęs kreatinino kiekis gali būti labiau susijęs su negrįžtamais lėtiniais glomerulų ir intersticiumo pokyčiais. Catherina Boffa ir bendr., išanalizavę Jungtinės Karalystės registro 11 219 inkstų transplantacijų duomenis, nustatė, kad donorų ŪIP dažnumas buvo 17 proc. Transplantuoto inksto apskaičiuotas glomerulų filtracijos greitis (aGFG) saikiai didesnis ir 1 m. išgyvenamumas buvo geresnis nesirgusių ŪIP donorų grupėje. Didėjant ŪIP stadijai, dažnėjo vėluojančios inksto funkcijos ir pirminio nefunkcionavimo atvejų, todėl autoriai siūlo atsargiai svarstyti transplantacijų iš 3 st. ŪIP sergančių donorų klausimą [68]. JAV mokslininkai Elisateth Sonnenberg ir bendr., išanalizavę 7760 donorų (vidutinis KDPI – 54,0 (33–75) proc.), iš kurių 33 proc. turėjo 3 st. ŪIP, nustatė, kad recipientams, kuriems transplantuoti inkstai iš ŪIP sergančių donorų, trejų metų inkstų nepakankamumo rizika buvo saikiai didesnė, o

aGFG skirtumas po 1 m. buvo kliniškai nereikšmingas (56,6 ml/min./1,73 m² *plg.* 57,5 ml/min./1,73 m²) [69]. Neseniai, atlikus 15 345 donorų metaanalizę, nustatyta, kad, nors po transplantacijų iš sergančių ŪIP inkstų donorų, recipientams dažniau stebėta vėluojanti inksto funkcija ir jų gydymo trukmė ligoninėje buvo ilgesnė, bet nebuvo reikšmingo transplantato išgyvenamumo skirtumo 12–120 mėnesių laikotarpiu [70]. George Nita ir bendr. kitoje meta analizėje, apimančioje Europoje, Šiaurės Amerikoje, Australijoje ir Azijoje atliktus 11 6975 donorų tyrimus, nustatė, kad atliekant transplantacijas iš sergančių ŪIP donorų, yra didesnė vėluojančios inksto funkcijos rizika (GS = 2,20, p < 0,001), bet nėra reikšmingo skirtumo tarp pirminio inksto nefunkcionavimo, ūmaus atmetimo dažnumo, mažesnio aGFG po metų ir trumpesnio inksto išgyvenamumo rizikų [71].

- *imuninio pažeidimo* (ūmaus ar persistuojančio poūmio atmetimo), susijusiu su destruktivia infiltracija polibranduolėmis ląstelėmis ir lėtine intersticine fibroze. T ląstelių sukeltas atmetimas apima limfocitų infiltraciją ir proliferaciją inkstų intersticiume, vėliau dėl citotoksinio poveikio inkstų kanalėlių epitelio ląstelėms sukeliančių uždegiminę reakciją, t. y. „tubulitą“. Sunkesnis T ląstelių sukeltas atmetimo variantas, susijęs su vienbranduolių ląstelių infiltracija į arterijas, sukelia arteritą ir galimą sunkią transmuralinę transplantato kraujagyslių nekrozę. Antikūnų sukeltas atmetimo atveju, donorui specifiniai antikūnai (DSA) pažeidžia endotelį, todėl aktyvuojama komplemento sistema ir pasireiškia antikūnų sukeltas ląstelių citotoksiškumas. Ūminis antikūnų sukeltas atmetimas pasireiškia, kai transplantuotas inkstas yra paveikiamas greitai padidėjusio didelio titro DSA, kurie dažniausiai susidaro kaip atminties reakcijos sensibilizuotiems recipientams arba *de novo* reakcijos nesensibilizuotiems pacientams, kurie yra vartoję neadekvatą imunosupresinį gydymą, arba anksčiau yra buvęs T ląstelių sukeltas atmetimas. Lėtinis antikūnų sukeltas atmetimas diagnozuojamas atliktoje inksto biopsijoje nustatčius glomerulopatiją, peritubulinių kapiliarų bazinės membranos sluoksniavimąsi ar arteriopatiją, pasireiškiančia intimos fibroze. DSA susidaro lėčiau, jų titras gali būti didelis arba mažas, persistuoti trumpą laiką arba nuolat [72]. Gydymas KNI ir adekvačia mikofenolato mofetilio doze yra susijęs su mažesne DSA susidarymo rizika, negu vartojat mTOR (angl. *mammalian target of rapamycin*) inhibitorius arba per mažą MMF dozę [47]. Atliktų tyrimų duomenimis, per pirmuosius metus po transplantacijos įvyksta iki 30–50 procentų subklinikinio atmetimo epizodų, kurie blogina transplantuoto inksto baigtis, bet juos nustatyti šiuo metu galima tik atlikus inksto biopsijas [73, 74]. Kol kas nėra vieningos nuomonės, kokiais laiko intervalais turėtų būti atliekamos protokolinės biopsijos ir

ar šiuolaikinės neinvazinės stebėsenos strategijos, pavyzdžiui, biologiniais žymenimis pagrįstas įprastinis stebėjimas, galėtų padėti sumažinti diagnostinių intervencinių tyrimų skaičių ir inksto biopsijas atlikti tiksliau [75].

- *vaistų toksiško* (pvz. kontrastinių medžiagų sukulto ŪIP) ir kt. Kiekvienas iš anksčiau paminėtų veiksnių gali paveikti ankstyvasias ir tolimesias transplantuoto inksto baigtis.

1.2. Donorinio inksto kokybės vertinimo metodai

Tikslus potencialių mirusių donorų organų kokybės nustatymas yra svarbus veiksnys, turintis įtakos didinant transplantacijų skaičių. Dabartinėje klinikinėje praktikoje pagrindiniai rodikliai, naudojami vertinti donoro inksto funkciją, yra **šlapimo kiekis ir kreatinino koncentracijos serume (sKr)** nustatymas. Tačiau sKr yra nepakankamai jautrus ir patikimas žymuo nustatyti ūminius inksto funkcijos pokyčius [76]. Jis yra kreatino ir fosfokreatino apykaitos raumenų ląstelėse produktas, todėl sKr koncentracija reikšmingai priklauso nuo amžiaus, lyties, raumenų masės, mitybos, hidratacijos lygmens [77], taip pat gali pakisti dėl skiriamo specifinio gydymo, paveikiančio kreatinino sekreciją inkstų kanalėliuose arba blokuojančio renino–angiotenzino–aldosterono sistemą. Inkstų kraujotakos pablogėjimas (pvz. kardiorenalinio ir hepatorenalinio sindromų atvejais) iš pradžių nesukelia struktūrinės inkstų pažeidimo, tačiau dėl padidėjusio sKr gali būti klaidingai diagnozuotas ūminis inkstų kanalėlių pakenkimas [78]. sKr koncentracija nepadidėja tol, kol sumažėjusį kreatinino klirensą kompensuoja bent apie pusė suaktyvėjusių ir kompensatoriškai funkcionuojančių kitų nefronų, t. y. fenomeno, vadinamo „inkstų rezervu“ [77]. Dėl santykinai lėto sKr didėjimo, ŪIP diagnozė gali būti nustatyta pavėluotai [79]. Pagal sKr diagnozuotas ŪIP nepakankamai atspindi inksto biopsijų histologinius pokyčius. Dennis G. Modelina ir bendr. atliktame tyrime ženkliai ūminė kanalėlių pažeidimo buvo nustatyta 49 proc. donorų, kuriems nebuvo diagnozuotas ŪIP [80]. Daugelio atliktų tyrimų duomenimis, donoro sKr yra nepakankamai tikslus prognozinis tiek ankstyvųjų, tarp jų vėluojančios inksto funkcijos, tiek vėlyvųjų komplikacijų rodiklis. Todėl yra ieškoma tikslesnių donorinio inkstų kokybės įvertinimo metodų. Siekdama tiksliau įvertinti paciento būklę, 23-iaje Ūminių Ligų Kokybės Inicijatyvos susirinkime (angl. *ADQI – Acute Disease Quality Initiative*) buvo pasiūlyta nauja ŪIP apibrėžtis, kurioje kartu su tradiciniais metodais (kreatinino koncentracija, šlapimo kiekiu) naudojami ir biologiniai žymenys. Buvo įvertinti šie žymenys: šlapime ir plazmoje – su neutrofilų gelatinaze susijęs lipokalinas (pNGAL, uNGAL), serume – cistatinas C, proenkefalinas A,

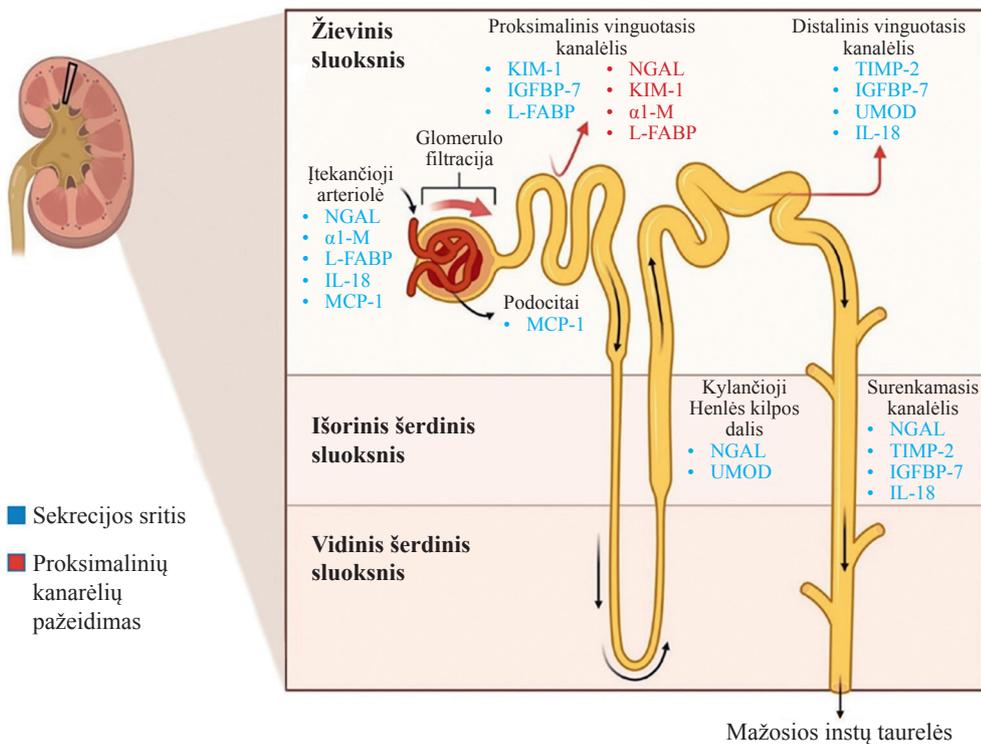
kepenų riebalų rūgščių jungimasis baltymas (uL-FABP), šlapime – inkstų pažeidimo molekulė-1 (uKIM-1), interleukinas 18 (IL-18) ir kiti. Pasiūlyta modifikuoti KDIGO 1 stadijos ŪIP, suskirstant ją į 3 fazes (t. y. 1S, 1A ir 1B), o 2 ir 3 ŪIP stadijas papildomai suskirstyti pagal biologinių žymenų pokyčius [81]. Pagal naują apibrėžimą 1S apibūdina ankstyvą stadiją, kai yra inkstų pažeidimo požymių, kurių neapibrėžia sKR kreatinino ir šlapimo išskyrimo kriterijai [82] (1.2.1 pav.).

Funkciniai kriterijai	Stadija	Pažeidimo kriterijai
Nepakitęs sKR arba jo lygio padidėjimas < 0,3 mg/dl ir nėra ŪIP pagal diurezės vertinimo kriterijus	1S	Biologiniai žymenys +
Padidėjęs sKR lygis > 0,3 mg/dl per 48 val. arba ≥ 150 proc. per ≤ 7 dienas ir/ar diurezė < 0,5 ml/kg/val. per > 6 val.	1A	Biologiniai žymenys –
	1B	Biologiniai žymenys +
Padidėjęs sKR lygis > 200 proc. ir/ar diurezė < 0,5 ml/kg/val. per > 12 val.	2A	Biologiniai žymenys –
	2B	Biologiniai žymenys +
Padidėjęs sKR lygis > 300 proc. (≥ 4,0 mg/dl su greitu padidėjimu ≥ 0,5 mg/dl) ir/ar diurezė < 0,3 ml/kg/val. per > 24 val., arba anurija > 12 val., ar/ir PIT poreikis	3A	Biologiniai žymenys –
	3B	Biologiniai žymenys +

1.2.1 pav. Ūminės inkstų pažeidimo klasifikacija atsižvelgiant pagal biologinius žymenis šlapime (modifikuota pagal Marlies Ostermann ir bendr. 2020)

sKR – serumo kreatininas, PIT – pakaitinės inkstų terapijos poreikis, (+) – nustatyta padidėjusi biologinių žymenų koncentracija šlapime, (–) – nenustatyta padidėjusi biologinių žymenų koncentracija šlapime.

Dažniausiai inkstų pažeidimai tiriamų biologinių žymenų raiška nefrone [83] pateikiama 1.2.2 pav.



1.2.2 pav. Inkstų pažeidos biologinių žymenų pasiskirstymas kanalėliuose (modifikuota pagal Nicole Nourie ir bendr.; 2024)

1.2.1. Ribinių kriterijų donoriai ir donorių vertinimo skalės

2002 m. UNOS (angl. *American United Network for Organ Sharing*) pasiūlė padidinti donorių inkstų skaičių, įtraukiant ribinių kriterijų donorus (angl. *ECD – Expanded Criteria Donor*) [9]. Pagal nurodytus kriterijus, ribinis donoras yra 60 m. amžiaus arba vyresnis, arba 50–59 m. ir turintis patvirtintas bent dvi iš trijų patologijų: arterinę hipertenziją, mirties priežastis yra galvos smegenų kraujagyslių patologija, kreatinino kiekis kraujyje $> 133 \mu\text{mol/l}$. Dr. Rūtos Auglienės duomenimis, Kauno klinikose 2000–2019 m. laikotarpiu stebėta ribinių kriterijų donorių kiekio didėjimo tendencija. 30,3 proc. transplantacijų atlikta panaudojant ribinių donorių inkstus, iš jų, vien dėl vyresnio negu 60 m. amžiaus, ribiniams buvo priskirti 23,6 proc. donorių [26].

2009 m. Panduranga S. Rao ir bendr., analizuodami JAV transplantuotų recipientų mokslinio registro (angl. *SRTR – Scientific Registry of Transplant Recipients*) duomenis, iš keturiolikos kintamųjų sukūrė kiekybinį santykinės rizikos matą – inkstų donoro rizikos indeksą (KDRI), kuris apibendrina donoro amžiaus, gretutinių ligų ir mirties priežasties, šaltosios išemijos

trukmės, pakartotinos transplantacijos ir kt. parametrus. KDRI parodo santykinę transplantuoto inksto nepakankamumo riziką po transplantacijos konkrečiam mirusiam donorui, palyginti su ankstesnių metų vidutinio donoro (40 m. amžiaus, baltosios rasės, nesergančiu cukriniu diabetu) inkstais. [84]. Nuo 2012/2014 m. UNOS įdiegė naują inkstų paskirstymo sistemą (angl. *KAS – US Kidney Allocation System*), pagal kurią kiekvienas transplantacijos centrui pasiūlomas mirusio donoro organas kiekybiškai įvertinamas modifikuotu, vien donoro parametrus vertinančiu KDRI ir inkstų donoro profilio indeksu (KDPI). KDPI – tai procentinė KDRI versija, kuri suteikia daugiau informacijos, palyginti su binarine ribinių ir standartinių kriterijų donorų klasifikacija. KDPI apskaičiuojamas vertinant dešimt mirusio inkstų donoro veiksnių (amžių, ūgį, svorį, rasę, sirgimą arterine hipertenzija, hepatitu C, cukriniu diabetu, galvos smegenų mirties priežastį, kreatinino kiekį kraujyje, neplakančios širdies donoro tipą) ir svyruoja nuo 0 proc. iki 100 proc. Mažesni procentai rodo geresnę donorinio inksto kokybę, taigi ir geresnę prognozuojamą transplantuoto inksto išgyvenamumą. Tačiau, dėl KDPI prognozinio tikslumo naudojant už JAV ribų, nėra vieningos nuomonės. Neseniai atlikta analizė parodė, kad KDPI yra potencialiai naudinga donorų kokybės vertinimo priemonė kai kuriose Europos kohortose, pavyzdžiui, Vokietijoje, Belgijoje ir Ispanijoje [85–87]. Tačiau, Airijoje atliktame tyrime KDRI/KDPI balas, palyginus su vien tik donoro amžiumi, reikšmingai nepagerino transplantuoto inksto baigčių prognozės [88]. Didesni KDRI ir KDPI buvo susiję su blogesne transplantuoto inksto funkcija, nors jų prognozinis gebėjimas atskirti ilgalaikį transplantuoto inksto nepakankamumą Graikijos kohortoje buvo ribotas [89], o Nyderlandų autorių tyrime buvo pasiūlytos tam tikros korekcijos Europos populiacijai [90]. Neseniai atliktame didelės apimties septynių Europos šalių tyrime buvo analizuotos mirusio donoro inkstų kokybės tendencijos, vertinant inkstų donoro rizikos indeksą (KDRI) ir jo poveikį vėlesniems išgyvenamumo rezultatams Europos šalių populiacijoje. KDRI mediana skyrėsi atskirose šalyse. Olandijoje, Jungtinėje Karalystėje 2015 m. apie 50 proc. mirusių donorų sudarė neplakančios širdies donoriai, tuo tarpu Norvegijoje tik 5 proc., todėl šioje šalyje KDRI buvo mažesnis. Be to, dėl šalių bendrųjų populiacijų sergamumo skirtumų, tarp donorų atitinkamai skyrėsi rizikos veiksnių, tokių kaip arterinės hipertenzijos, cukrinio diabeto, nutukimo dažnumas. Dešimties metų laikotarpiu kasmet bendra mirusio donoro inkstų kokybė prastėjo, tačiau penkerių metų pacientų ir transplantuotų inkstų išgyvenamumo tikimybė išliko nepakitusi, be to, laikui bėgant, pagerėjo rezultatai po transplantacijų iš didžiausiais KDRI įvertintų donorų. Autorių nuomone, tai galėjo lemti bendras recipientų sveikatos, baigčių po neplakančios širdies donorystės ir imunosupresinių režimų pokyčių pagerėjimas. Taip pat gali būti, kad mirusio donoro inkstų

kokybė neigiamai veikia transplantacijos rezultatus ne vidutinės trukmės laikotarpiu (tyrimo trukmė penkeri metai), o ilguoju laikotarpiu. KDRI mediana tiriamuoju laikotarpiu padidėjo nuo 1,31 iki 1,47. Palyginant tą patį laikotarpį JAV, KDRI šioje šalyje išliko mažesnis ir gana stabilus, 1,3–1,32. 2015 m. Europoje skyrėsi nuo JAV donorų mirties priežastis: 55 proc. mirė dėl smegenų kraujotakos patologijos, 64 proc. buvo vyresni negu 50 m. ir 37 proc. neplakančios širdies donorai, tuo tarpu tais pačiais metais JAV buvo dvigubai mažiau (25 proc.) mirusių dėl smegenų kraujagyslių patologijos, tik 25 proc. donorų buvo vyresni negu 50 m. ir tik 18 proc. – neplakančios širdies donorai. Tai paaiškinama tuo, kad JAV transplantacijoms buvo atrenkami geresnės kokybės inkstai [11]. Šioje šalyje 2004–2014 m. buvo atsisakyta 17,9 proc. potencialių donorų organų, kai tuo tarpu Prancūzijoje, kur vidutinis KDRI buvo aukštesnis, atsisakyta tik 9,1 proc. inkstų. Mokslininkų Olivier Aubert ir bendr. duomenimis, pritaikius Prancūzijoje naudojamą organų paskirstymo modelį JAV mirusių donorų inkstų populiacijai, būtų buvę panaudoti transplantacijai 62 proc. JAV utilizuotų organų [91]. 2022 m. JAV 71,3 proc. atvejų, buvo atsisakyta pasiūlytų inkstų, jeigu jų apskaičiuotas KDPI buvo 85 proc. ir daugiau. Šio tyrimo duomenimis, nepaisant KDRI skirtumų, 5 m. išgyvenimas tarp JAV ir Europos recipientų buvo panašus [11].

KDPI ir KDRI indeksai nėra vieninteliai rodikliai, pagal kuriuos nustatomas donoro tinkamumas, kai kurie autoriai rekomenduoja juos naudoti kaip išsamaus vertinimo dalį kartu su kitais veiksniais, tokiais kaip prieš implantaciją atliktos inksto biopsijos histologinius pokyčius ir hipoterminės mašininės perfuzijos parametrus [92].

1.3. Inkstų pažeidimo biologiniai žymenys

Dabartiniu laikotarpiu, transplantuoto inksto būklė įprastai yra stebima vertinant kreatinino ir proteinurijos dinamiką. Biopsija laikoma auksiniu standartu inkstų patologijos klasifikavimui, tačiau, dėl invazinio procedūros pobūdžio, jos taikymo galimybės yra ribotos ankstyvam inkstų pažeidimo atpažinimui ar reguliariam transplantuotų inkstų būklės stebėjimui. Protokolinės biopsijos yra atliekamos ne visuose transplantacijos centruose. sK_{cr} koncentracija ir baltymas šlapime nėra pakankamai jautrūs tyrimai aptikti pradinius struktūrinius ar funkcinius pokyčius, todėl subkliniškas inkstų pažeidimas gali likti nepastebėtas. Yra tiriama ir ieškoma optimalių skirtingą inkstų pažeidimo mechanizmą atspindinčių biologinių žymenų, taip pat dedamos pastangos nustatyti imuninės tolerancijos stebėjimui tinkamus žymenis, kurie galėtų leisti palaipsniui mažinti ar net visiškai nutraukti kooperacinę

imunosupresiją, taip dar labiau sumažinant su gydymu susijusio šalutinio poveikio ir komplikacijų riziką. Biologiniai žymenys – tai objektyviai išmatuojami normalių biologinių procesų, patogeninių reakcijų ir (arba) gydomųjų intervencijų rodikliai [46], todėl jie taip pat gali suteikti svarbios informacijos apie persodinto inksto būklę. Pastaruosius dešimtmečius plėtojami proteominių, metabolominių, transkriptominių ir genominių biologinių žymenų, gautų iš įvairių biologinių šaltinių, t. y. donoro ir recipiento periferinio kraujo, serumo, limfocitų, šlapimo, perfuzinio aparato skysčio ir audinių biopsijos mėginių, tyrimai, siekiant nustatyti kam gresia (sub)klinikinis atmetimas ir taip sudaryti sąlygas atlikti biopsijas tikslingiau, prognozuoti atsaką į atmetimo gydymą, individualizuoti imunosupresinį gydymą ir prognozuoti ilgalaikį transplantuoto organo išgyvenamumą [47, 75, 93]. Biologiniai žymenys apibrėžiami ir skirstomi į kategorijas pagal BEST (angl. *Biomarkers, Endpoints, and other Tools*) – bendrą Maisto ir vaistų administracijos (angl. *FDA – Food and Drug Administration*) ir NIH darbo grupės klasifikaciją. Joje biologiniai žymenys skirstomi į septynias kategorijas, apibūdinančias jų funkcijas – įskaitant diagnostinius, farmakodinaminius, arba atsako biologinius žymenis, rodančius reakciją į gydymą, nuspėjamuosius biologinius žymenis, pagal kuriuos nustatomi pacientai, galintys patirti gydamosios medžiagos poveikį, prognozuojančius klinikinį įvykį, ligos recidyvą ar jos progresavimą jau sergantiesiems, rizikos nustatymo dar nesergantiems ir saugumo biologinius žymenis, pagal kuriuos nustatomas medikamentų toksiškumas. Vieną biologinį žymenį dažnai galima priskirti keliems tipams, atsižvelgiant į jo paskirtį [94].

Biologiniai žymenys gali būti klasifikuojami atsižvelgiant į jų savybes atspindėti imunologinius ir neimunologinius procesus. Šiuo metu daug žadančiomis neinvazinių biologinių žymenų kryptimis laikomi: pasiuntinių (m)RNR transkripcijų, limfocitų fenotipo žymenų, chemokinių, mikro(mi)RNR ir donorui specifinius antikūnų (DSA) [47] tyrimai, bet lygiagrečiai atliekami įvairių proteominių žymenų tyrimai, kuriuose analizuojama jų reikšmė ūminio atmetimo, lėtinės nefropatijos, BK viruso pažaidos ir kt. būklių diferenciacijai [95, 96].

Biologiniai žymenys gali būti analizuojami visuose transplantacijos etapuose, pradedant nuo donorinio inksto įvertinimo, iki recipiento būklės stebėjimo vėlyvuju laikotarpiu po transplantacijos. Donoro biologiniai žymenys labiausiai gali būti naudingi prognozuojant trumpalaikius rezultatus, ypač vėluojančios transplantuoto inksto funkcijos atsiradimui bei jos sunkumui. Nedaug atlikta tyrimų analizuojant donoro biologinių žymenų sąsajas su atokiaisiais rezultatais.

Daug daugiau tyrimų yra atlikta analizuojant potencialių įvairių recipiento biologinių žymenų reikšmę poūmio ir ūminio inksto atmetimo diagno-

zavimui, inksto pažaidos etiologijos diferenciacijai ir komplikacijų prevencijos stebėjimui ilgalaikiu laikotarpiu [93].

1.3.1. Su neutrofilų gelatinaze susijęs lipokalinas (NGAL)

Su neutrofilų gelatinaze susijęs lipokalinas (NGAL), taip pat žinomas kaip lipokalin-2, priklauso lipokalinų baltymų šeimai. Nors pagrindinis NGAL šaltinis yra neutrofilai, jo raiška taip pat aptinkama daugelyje žmogaus audinių, tame tarpe inkstų, širdies, plaučių, kepenų, skrandžio, storosios žarnos kanalėlių ląstelėse, epitelio ląstelėse, makrofaguose, dendritinėse ląstelėse ir adipocituose [83, 97]. Yra trys NGAL formos: 25 kDa monomeras, kurį išskiria inkstų kanalėliai, 45 kDa homodimeras, kurį neutrofilai išskiria uždegiminio atsako metu, ir 135 kDa NGAL kompleksas su profibrotinį efektą turinčia matrikso metaloproteinaze (MMP-9) [97, 98]. NGAL palengvina hidrofilinių medžiagų pernešimą per ląstelių membranas ir reguliuoja geležies apykaitą ląstelėse [83, 99, 100]. Anksčiau atliktuose tyrimuose rasta, kad NGAL gebėjimas su dideliu afinitetu surišti bakterijų sideroforus arba endogeninius junginius yra svarbi įgimtos imuninės sistemos sudedamoji dalis, reikalinga kovai su bakterinėmis infekcijomis [101, 102]. Vėlesniuose tyrimuose buvo analizuojamas NGAL daugiafunkciškumas įskaitant bakteriostazę, apoptozės kontrolę ir inkstų kanalėlių proliferacijos indukciją, kaip galimą NGAL inkstų apsauginį mechanizmą esant ŪIP [103–105]. NGAL sekrecija inkstuose, Henlės kilpos kylančiojoje dalyje ir surenkamuosiuose kanalėlių epitelinėse ląstelėse, sudaro nereikšmingą dalį bendros NGAL koncentracijos plazmoje. Įprastai NGAL koncentracija plazmoje ir šlapime yra labai maža, tačiau patyrus ūminį inkstų pažeidimą ir sergant LIL, NGAL koncentracija plazmoje ir šlapime padidėja dėl padidėjusios NGAL sekrecijos distaliniame nefrone, kiek mažiau – dėl sumažėjusios reabsorbcijos proksimaliniuose kanalėliuose [106]. Plazmos NGAL filtruojamas per glomerulus ir visiškai reabsorbuojamas proksimaliniame kanalėlyje, todėl aptikti plazminės kilmės NGAL šlapime galima tik esant proksimalinio kanalėlio pažeidimui, arba kai žymens sintezė viršija kanalėlių reabsorbcijos pajėgumą. Kita vertus, sumažėjus glomerulų filtracijos greičiui, sumažėja ir NGAL išsiskyrimas, todėl padidėja jo kaupimasis plazmoje. Nors NGAL, vertinant kanalėlių pažeidimą, tiriamas ir plazmoje, ir šlapime, kai kurių autorių nuomone, šlapime esantis NGAL yra tikslesnis inkstų pažeidimo rodiklis [83]. NGAL yra vienas ankstyviausių ŪIP žymenų, jo padidėjimą plazmoje galima aptikti po dviejų valandų po ŪIP, šlapime – iš karto po kardiovaskulinių intervencijų sukeltos pažaidos. Didžiausia koncentracija pasiekama po 6 val., NGAL sumažėja per 24–48 val. [100]. Kitų autorių

duomenimis, padidėjęs NGAL kiekis serume buvo stebimas maždaug penkias dienas po ŪIP [107].

NGAL aprašymas. 2000 m. pirmą kartą buvo aprašyta NGAL trimatė struktūra ir sekos panašumas į lipokalinų baltymų šeimą bei žymens dalyvavimas uždegiminiuose procesuose [108]. Atskaitos taškas NGAL tyrimams inkstų transplantacijos srityje 2006 m. buvo padėtas Jaya Mishra ir bendr. [109]. Autoriai, analizuodami transplantuoto inksto biopsijos mėginius, paimtus maždaug po vienos valandos reperfuzijos po operacijos iš gyvų ir mirusių donorų. Jie nustatė daug didesnę NGAL raišką mirusių donorų biopsijose bei jos koreliaciją su ilgesne šaltosios išemijos trukme, didesne serumo kreatinino koncentracija ir vėluojančia inksto funkcija.

Donorų NGAL tyrimai prognozuojant vėluojančia inkstų funkcija. 2011 m. Maria Halmen ir bendr. publikavo pirmąjį inkstų donorų tyrimą, kuriama analizuotos donorų serumo ir šlapimo NGAL sąsajos su vėluojančia inkstų funkcija ir transplantuoto inksto funkcija po vienerių metų [110]. Autoriai nustatė, kad NGAL tiesiogiai koreliavo su donoro sKr. Po transplantacijų iš donorų, kurių šlapime NGAL koncentracija buvo aukštesnė, dažniau vėluojanti inksto funkcija užsitęsėdavo ilgiau nei 14 dienų (23 proc. *plg.* 11 proc. $p = 0,028$), bet, atlikus ROC analizę, NGAL nebuvo reikšmingas kaip vėluojančios inkstų funkcijos prognozinis žymuo. Tų donorų, kuriems nustatyta didesnė uNGAL koncentracija, histologiniai pokyčiai biopsijose buvo ryškesni. Svarbu pažymėti, kad į šį tyrimą nebuvo įtraukti donoriai turintys pagal kreatinino koncentraciją serume patvirtintą ŪIP. Į Peter P. Reese ir bendr. atliktą tyrimą buvo įtraukti 1304 mirę inksto donoriai, iš kurių 112 (9 proc.) turėjo ŪIP ir 2441 recipientas [111]. Tyrėjai nustatė reikšmingą donoro uNGAL ir kitų tirtų biologinių žymenų (KIM-1, IL-18, L-FABP) asociaciją su donoro ŪIP. Donoro uNGAL koncentracija buvo didesnė tiems recipientams, kurių sveikimo eiga po transplantacijos komplikavosi vėluojančia inksto funkcija (palyginti viršutinį tertilį su apatiniu, RR 1,21; 95 proc. PI: 1,02–1,43) [111].

Tai Yeon Koo su bendr. daugiacentriame tyrime analizavo donoro biologinių žymenų reikšmę septynių ar ilgesnės trukmės uždelstos transplantuoto inksto funkcijos išsivystymui (nepriklausomai, ar buvo atliekamos hemodializės). uNGAL buvo susijęs su donoro ŪIP (GS 8,99; 95 proc. PI: 1,25–7,14, $p = 0,014$) ir vėluojanti inksto funkcija (plotas po ROC kreive 75,8; 95 proc. PI: 0,645–0,871; $p < 0,001$). Biopsijose NGAL, KIM-1 kanalėlių raiška reikšmingai nesiskyrė tarp geros ir lėtos inksto funkcijos grupių bei nebuvo susijusi su inksto funkcija po transplantacijos. Pažymėtina, kad šiame tyrime recipientai ir donoriai buvo jaunesni, mažesnis skaičius atitiko ribinių donorų kriterijus, buvo trumpesnė šaltosios išemijos trukmė, retesnė vėluojanti

inksto funkcija (tik 15 proc.), bet aukštesnis donorų sKr, tai galėjo įtakoti rezultatus [97].

Yra atlikta nedaug tyrimų, analizuojančių prognozinę donorų sNGAL reikšmę recipientams. Smegenų mirtis lemia gausų citokinų išsiskyrimą, panašų į sepsio atvejų ir uždegiminį atsaką. Tai gali paaiškinti gana aukštas sNGAL koncentracijas santykinai sveikiems donorams [59, 112].

Antoine Buemi ir bendr. publikuotame darbe, NGAL tirtas donorų plazmoje ir šlapime prieš eksplantaciją ir recipientams 6, 24 ir 48 valandos po operacijos [113]. Gyvų donorų plazmos NGAL koncentracija buvo ženkliai mažesnė, šioje grupėje nebuvo vėluojančios inkstų funkcijos atvejų. Nenustatyta reikšmingos asociacijos tarp donorų plazmos ir šlapimo NGAL ir vėluojančios inkstų funkcijos išsivystymo ar sKr sumažėjimo iki mažesnio negu 2 mg/dl (176,84 μ mol/l) trukmės.

NGAL sąsajos su aGFG vėlesniu periodu. Halmen ir bendr. tyrime analizuota serumo ir šlapimo NGAL prognozinė vertė ankstyvuojančiu periodu ir sąsaja su transplantuoto inksto funkcija po vieno metų [109]. Autoriai nustatė, kad recipientams, kuriems atlikta transplantacijų iš donorų, kurių NGAL buvo didesnis, vieno metų transplantato išgyvenamumas buvo blogesnis (90,3 proc. *p/g.* 97,4 proc. $p = 0,048$). Modelina ir bendr. tyrime nebuvo nustatyta reikšmingų asociacijų tarp donorų uNGAL, KIM-1, IL-18 didesnių koncentracijų negu ribinės vertės ir 6 mėnesių aGFG [80]. Reese ir bendr. tyrime recipientams, kuriems inkstas transplantuotas iš donorų, turėjusių didesnę uNGAL koncentraciją, po 6 mėnesių buvo nedaug blogesnė inksto funkcija, bet tik tiems, kuriems ankstyvuojančiu laikotarpiu nebuvo vėluojančios inkstų funkcijos [111]. Autoriai kitame tyrime nustatė, kad subklinikinės donorų ŪIP (kai biologinių žymenų koncentracija padidėjusi, o kreatinino – normali), nebuvo susijęs su transplantuoto inksto nepakankamumu [114].

Recipientų tyrimai. Dauguma tyrimų, analizavusių NGAL, kaip biologinio žymens reikšmę inkstų transplantacijos procese, atlikta tiriant recipientų šlapimo mėginius. Vieningos nuomonės, ar kraujo, ar šlapimo biologiniai žymenys geriau prognozuoja baigtis po transplantacijos, nėra. Neseniai van Duijl ir bendr. atliktame tyrime buvo analizuoti recipientams pirmą parą po gyvų ir mirusių donorų transplantacijų paimti aštuoni šlapimo biologiniai žymenys. Iš jų didžiausią atsaką turėjo NGAL, kurio koncentracija padidėjo 2,8 karto (95 proc. PI: 2,6–3,1) esant lengvai ir 6,7 karto (95 proc. PI: 5,9–7,5) esant sunkiai išeminei–reperfuzinei pažaidai. CXCL9 buvo susijęs su išemijos–reperfuzijos sunkumu – atitinkamai 1,4 (95 proc. PI: 1,3–1,6) karto padidėjo iš gyvų donorų transplantuotų recipientų grupėje ir 2,7 (95 proc. PI: 2,2–3,1) kartus – neplakančios širdies donorų recipientų grupėje. Iš visų biologinių žymenų, tik NGAL buvo atvirkščiai proporcingas aGFG [99]. Buemi ir bendr. tyrime per 6, 24 ir 48 val. po

transplantacijos ištirtas recipientų serumo NGAL asocijavosi su vėluojančia inksto funkcija, o tirtas po 24 ir 48 val. – su greitesniu sKr sumažėjimu po operacijos [113]. Naujame Guadalupe Taberero ir bendr. atliktame tyrime recipientų šlapime didesnė NGAL koncentracija 1–7 d. po operacijos asocijavosi su vėluojančia inksto funkcija ir ilgesne aGFG stabilizavimosi trukme (90–120 d.) [101]. Anksčiau atliktoje Haase-Fielitz ir bendr. metaanalizėje, kuri apėmė 1079 recipientų iš 14 studijų duomenis, nustatė, kad NGAL tiek šlapime, tiek serume ištirtas per 6–12 valandų po transplantacijos, buvo reikšmingas prognozinis vėluojančios inksto funkcijos žymuo (agreguotas AUC ROC 0,87 proc.) [115]. Ya Mei Li ir bendr. atliktoje meta analizėje iš 1039 recipientų duomenų, padarytos išvados, kad ir kraujo, ir šlapimo NGAL yra tinkami. Autorių nuomone, NGAL kraujyje didesniu jautrumu ir specifiškumu negu šlapime prognozuoja vėluojančią inksto funkciją [102]. Atskirose moksliniuose tyrimuose mėginiai NGAL analizei buvo imami skirtingomis valandomis. Tyrėjų nuomone, iš praktinės pusės, racionaliausia tyrimus atlikti per pirmąsias 24 valandas arba stebėti biologinius žymenis dinamikoje [102].

Didesnis plazmos NGAL yra susijęs su padidėjusia LIL išsivystymo rizika bendroje populiacijoje [103] ir jos progresavimu iki galutinės stadijos jau sergantiems pažengusia lėtine inkstų liga pacientams [104]. Kitame tyrime, šlapimo NGAL, skirtingai nuo sergančiųjų 1–2 stadijos lėtine inkstų liga, rastas reikšmingai padidėjęs sergant trečios ir sunkesnės stadijos lėtine inkstų liga [99].

Atlikta nedaug tyrimų, kuriuose analizuota NGAL reikšmė vėlesniu laikotarpiu po transplantacijos. Modeliuose su gyvūnais nustatyta, kad makrofagų produkuojamas NGAL yra reikšmingas inkstų fibrozės procese [116]. Tyrimuose, kuriuose dalyvavo pacientai, kuriems nebuvo atlikta transplantacija, nustatyta, kad NGAL kiekis plazmoje reikšmingai koreliavo su intersticinių ląstelių infiltracija ir fibroze [117]. Bansal ir bendr. atliktame tyrime, 1027 recipientams, praėjus daugiau negu šešiams mėnesiams po transplantacijos, padidėjusi uNGAL, IL-18, KIM-1 koncentracija buvo susijusi su didesne inksto netekimo, širdies kraujagyslių patologijos ir pacientų mirties rizika [105]. Neseniai publikuotame Juta S. Swolinsky ir bendr. tyrime, NGAL buvo tirtas plazmoje ir šlapime 709 stabiliems recipientams, kuriems inksto transplantacija buvo atlikta prieš daugiau nei du mėnesius. Tyrime vertinta prognozinė NGAL reikšmė mirčiai cenzūruoto inksto nepakankamumo išsivystymui penkerių metų laikotarpiu. pNGAL buvo reikšmingas nepriklausomas inksto praradimo rizikos faktorius, bet jo prognozinė vertė buvo mažesnė negu aGFG (atitinkamai plotas po ROC kreive 79,5 proc. ir 86,6 proc.) [106]. Priešingai negu ankstesniame Bansal ir bendr. atliktame tyrime, nebuvo nustatyta uNGAL sąsajų su inksto praradimu. Malgorzata

Kielar ir bendr. tyrime 109 stabiliems recipientams, kuriems transplantacija atlikta anksčiau negu prieš metus, du kartus didesnė uNGAL koncentracija nustatyta tiems, kurių aGFG bent dešimt procentų buvo mažesnis lyginant su geresnės inkstų funkcijos grupės pacientais. Diagnostinis uNGAL tikslumas prognozuojant aGFG sumažėjimą nebuvo didelis (plotas po ROC kreive 65 proc.), bet jis reikšmingai nesiskyrė nuo šlapimo albumino prognozinės vertės [107].

1.3.2. Inkstų pažeidimo molekulė-1 (KIM-1)

1998 m. Takaharu Ichimura ir bendr. pirmieji paskelbė, kad KIM-1, išskiriamas į šlapimą po ūminės inkstų pažeidimos, yra inkstų kanalėlių pažeidimo žymuo [108]. Vėliau šių mokslininkų laboratorijoje nustatyta, kad padidėjusi KIM-1 sekrecija taip pat yra LIL ilgalaikės prognozės žymuo. 2008 m. Zhiwei Zhang ir bendr. pirmą kartą nustatė tiesioginį ryšį tarp padidėjusios KIM-1 raiškos transplantuoto inksto audinyje ir didesnio sKr [118].

KIM-1 yra 1 tipo transmembraninis baltymas, sudarytas iš ekstraląstelinės ir citoplazminės dalies. Jis taip pat vadinamas HAVCR1 (hepatito A viruso ląstelinis receptoriumi 1) arba TIM1 (T ląstelių imunoglobulino mucino receptoriumi 1) ir yra sekretuojamas inkstuose, kepenyse ir blužnyje. KIM-1 yra išreikštas aktyvuotose CD4+ T ląstelėse. Po inkstų pažeidimo jis greitai ekspresuojamas proksimaliniuose kanalėliuose ir koreliuoja su inkstų pažeidimos apimtimi. Padidėjęs KIM-1 išsiskyrimas su šlapimu yra labai specifinis inkstų pažeidimo žymuo, nes dėl didelės molekulinės masės (104 kDa) laisvas KIM-1, patenkantis į kraują iš ne inkstinių šaltinių, nėra filtruojamas per glomerulų barjerą. Be to, joks kitas audinys negamina KIM-1 tokiu kiekiu, kuris galėtų turėti esminės įtakos jo kiekiui šlapime [110]. KIM-1 daugiausia išreikštas proksimalinių inkstų kanalėlių nediferencijuotose epitelio ląstelėse, apikalinėje membranoje, ypač proksimalinių kanalėlių S3 išorinės medulos srityje, kurie yra jautrūs išemijai, hipoksijai ir toksiškiems veiksniams [118]. Fosfatidilserino receptorių dėka, KIM-1 sekretuojančios ląstelės gali absorbuoti ir pašalinti apoptozines ląsteles, o tai yra svarbus ląstelių homeostazės ir imuninio atsako procesas [119]. In vitro, trumpalaikė KIM-1 perteklinė raiška gali skatinti inkstų kanalėlių epitelio ląstelių migraciją ir proliferaciją aktyvuojant ERK/MAPK signalinį kelią ir palengvinti inkstų regeneracijos procesą po ŪIP [118]. Gyvūnų modeliuose nustatyta, kad KIM-1 taip pat slopina ląstelių Gal2 aktyvaciją po uždegiminių dirgiklių, taip apsaugodamas nuo inkstų išemijos–reperfuzijos pažeidimo [120]. Ankstyvoje inkstų kanalėlių pažeidimos stadijoje, padidėjusi KIM-1 raiška skatina ląstelių fagocitozę ir slopina inkstų uždegiminį atsaką. Nuolatinis KIM-1 koncentracijos padidėjimas, priešingai, nėra apsauginis veiksnys sergant LIL,

o skatina inkstų fibrozės atsiradimą ir vystymąsi [119]. Didesnė sKIM-1 koncentracija kraujyje koreliuoja su mažėjančiu glomerulų filtracijos greičiu sergant cukriniu diabetu [121] bei sergantiems 3 st. LIL pacientams yra inkstų funkcijos progresavimo iki galutinio inkstų nepakankamumo [104, 122] ir paciento mirties [122] rizikos veiksnys.

2010 m. FDA ir EMEA (Europos vaistų agentūra) patvirtino uKIM-1 kaip jautrų ir tikslų žymenį vaistų nefrotoksiškumo vertinimui ikiklinikiškuose ir klinikiniuose tyrimuose.

Šlapime KIM-1 analizuotas daugelyje ŪIP tyrimų, jo reikšmė mažiau ištyrinėta inkstų transplantacijos srityje. Anksčiau atliktame tyrime KIM-1, ištirtas donorui po smegenų mirties, buvo teigiamai susijęs su recipiento aGFG po 14 d. ir po 1 m. Mirusių donorų šlapime KIM-1 koncentracija buvo du kartus didesnė nei gyvų donorų [131]. Melanie Filed ir bendr. tyrė KIM-1 182 dauginių donorų šlapime ir nustatė, kad didesnė jo koncentracija buvo susijusi su blogesne ankstyvąja inksto funkcija po transplantacijos [123]. Neseniai atliktame Yi-Jie Mao ir bendr. tyrime buvo tirtas serumo ir šlapimo KIM-1 donorams ir recipientams po transplantacijos, vertinant vėluojančios inkstų funkcijos prognozę, bet reikšmingų sąsajų nenustatyta [124]. P. Reese ir kt. atliktame tyrime, šlapime aukštesnė KIM-1 koncentracija buvo ŪIP sergantiems donorams, bet asociacija su vėluojančia inkstų funkcija nustatyta tik viduriniame tertilyje [111]. Kitame tyrime uKIM-1 nebuvo reikšmingai susijęs su donoro ŪIP ir su vėluojančia inkstų funkcija. KIM-1 raiška inksto biopsijose reikšmingai nesiskyrė geros ir sumažėjusios inkstų funkcijos grupėse bei nekoreliavo su vėlesne inksto funkcija. Vienveiksmėje tiesinėje regresinėje analizėje uKIM-1 buvo susijęs su aGFG po 1 m., bet rezultatai nepatvirtinti daugiaveiksmėje analizėje [97]. Modelina ir kt. tyrime nenustatyta reikšmingų uKIM-1 sąsajų su ūminės kanaliukų pažaidos išraiška inkstų biopsijose bei recipiento aGFG po 6 mėn. [80]. KIM-1 raiška inksto biopsijose iki reperfuzijos tiesiogiai koreliavo su donoro sKr ir su fibrozės laipsniu, tačiau nenustatyta jos asociacijos su vėluojančia inksto funkcija [125]. Joana R. Bank ir bendr. atliktame tyrime, nerasta reikšmingų asociacijų tarp 10 d. po inkstų transplantacijų iš neplakančios širdies donorų atliktose biopsijose KIM-1 kiekybinės išraiškos su vėluojančia inkstų funkcija, be to, pokyčiai biopsijose nekoreliavo su KIM-1 koncentracija šlapime [126].

Aline L. Nogare ir bendr. transplantuotų inkstų biopsijų, atliktų pagal indikacijas tyrime, KIM-1 baltymo raiška buvo didesnė biopsijose su išreikšta intersticine fibroze ir kanalėlių atrofija (IF/TA), palyginti su biopsijomis, kuriose nustatyti ūminis KNI nefrotoksiškumas, ūminis atmetimas ar ūminė kanaliukų nekrozė. Autorių nuomone, KIM-1 galima vertinti kaip fibrozės žymenį [127]. Brijesh Yadav ir bendr. nedidelės apimties tyrime analizavo KIM-1 prognozinę vėluojančios inksto funkcijos vertę po gyvo donoro

transplantacijos tiriant šį žymenį praėjus 6, 12, 18, 24 ir 48 val. po operacijos. Autoriai nustatė, kad nors abiejose pacientų grupėse buvo stebimas laipsniškas uKIM-1 verčių didėjimas, bet nuo 18 val. po transplantacijos KIM-1 koncentracija reikšmingai buvo didesnė vėluojančios inkstų funkcijos grupėje (AUC 0,998, specifiskumas buvo 100 proc. o jautrumas – 89,9 proc.) [128]. van Duijl TT ir kt. atliktame tyrime KIM-1, kaip išemijos–reperfuzijos pažaidą atspindintis žymuo, ištirtas pirmą parą po gyvų ir mirusių donorų transplantacijų, buvo didesnis lyginant su bendros populiacijos duomenimis [99]. Neseniai publikuotame tyrime analizuota recipientų šlapime KIM-1, NGAL dinamika 1, 3, 5 ir 7 parą po transplantacijos. Tiriamieji stebėti 3 mėn. Autoriai nustatė, kad trečią parą uKIM-1 vertės buvo didesnės pacientams po transplantacijų iš jaunesnių negu 55 m., nei iš vyresnio amžiaus mirusių donorų, ir tų, kurių vidutinė šaltosios išemijos trukmė buvo 120–900 min. Priešingai negu NGAL analizėje, pacientų, kurių KIM-1 vertės buvo didesnės pirmąją savaitę po transplantacijos, inkstų funkcija stabilizavosi greičiau, per 30–60 dienų po transplantacijos [101]. Kitame, neseniai publikuotame tyrime, autoriai nustatė reikšmingas uKIM-1 sąsajas su vėluojančia inksto funkcija, o su uNGAL, priešingai, reikšmingų asociacijų su blogesne ankstyvąja inksto funkcija, nenustatyta. Daugiaveiksmėje Cox regresijos analizėje recipientai, kurių uKIM-1 koncentracija pirmą dieną po transplantacijos buvo didesnė, turėjo 23,5 proc. padidėjusią riziką vėluojančios inkstų funkcijos išsivystymui ir 27,3 proc. užsitęsusiai transplantato disfunkcijai. Recipientų, kurių KIM-1 buvo mažesnis, per stebėtą laikotarpį (mediana 30,3 mėn.) buvo geresnė inksto funkcija (aGFG > 60 ml/min./1,73 m²) [129]. Keshavar Shahbaz S ir bendr. nustatė, kad KIM-1 koncentracija recipientų serume ir šlapime, ištirta 2 d., 90 d. ir 180 d. po transplantacijos, buvo reikšmingai didesnė esant aGFG mažiau 60 ml/min./1,73 m². ROC kreivių analizėje kraujo ir šlapimo KIM-1 buvo nepakankamai tikslūs vertinant inkstų funkciją po 3 ir 6 mėn., bet, autorių nuomone, jie gali būti naudingi biologiniai žymenys aGFG prognozei po 1 m. [130].

1.3.3. Interleukinas-18 (IL-18)

IL-18 yra prouždegiminis citokinas, dalyvaujantis imuniniuose procesuose. Jo kiekis padidėja uždegimo bei išemijos atvejais. IL-18 sintetina aktyvuoti makrofagai, vienbranduolės ląstelės, keratinocitai, osteoblastai, žarnyno epitelio ląstelės, dendritinės ląstelės, inkstų proksimalinių kanalėlių epitelio ląstelės. Gyvūnų modeliuose prieš išeminį pažeidimą neutralizavus IL-18, sumažėjo sKr kiekis, kanalėlių infiltracija neutrofilais bei makrofagais, ypač profibrozinais M2, kurie yra svarbūs ŪIP fibrozinių procesų progresavimui ir perėjimui į LIL [83, 131].

Yra atlikta daug tyrimų analizuojant IL-18 išeminio ŪIP kontekste [132]. BioMaRK studijos tyrėjai nustatė, kad padidėjusi plazmos IL-18 koncentracija, nustatyta pirmą ir aštuntą dieną pradėjus pakaitinę inkstų terapiją reanimacijų skyriuje gydomiems pacientams, buvo susijusi su ilgesniu inkstų funkcijos atsistatymu ir didesniu pacientų mirtingumu [133]. TRIBE-AKI (angl. *Translational Research involving Biomarkers of Early Acute Kidney Injury*) grupės atlikti tyrimai parodė, kad IL-18 šlapime padaugėja per 6 valandas po išeminio pažeidimo ir bent dieną anksčiau iki kreatinino serume padidėjimo.

Vėluojančios inkstų funkcijos grupės recipientų šlapime nustatytas didesnis IL-18 kiekis 4–48 val. po transplantacijos [134, 135] ir buvo susijęs su blogesne transplantuoto inksto funkcija pirmąją savaitę, o didžiausias IL-18 tertilis asocijavosi su didesniu sKr po trijų mėnesių [135]. Atlikta nedaug tyrimų, analizavusių donoro IL-18, kaip prognozinį ankstyvos transplantuoto inksto disfunkcijos biologinį žymenį Reese ir bendr. tyrime nustatyta, kad nors uIL-18 koncentracija buvo didesnė donorams, kuriems diagnozuotas ŪIP bei vėluojančios inkstų funkcijos grupėje, tačiau negauti reikšmingi rezultatai šiai komplikacijai prognozuoti bei nenustatyta uIL-18 sąsajų su šešių mėn. inkstų funkcija [111].

1.3.4. Chemokinai: CXCL9 – C-X-C motyvo chemokinas 9 (CXCL9) ir CXCL10 – C-X-C motyvo chemokinas 10 (CXCL10)

Chemokinai yra didelė mažų citokinų šeima, kurių molekulinis svoris yra tarp 7 ir 15 kDa. Chemokinai ir jų receptoriai vaidina lemiamą vaidmenį pritraukiant, aktyvuojant ir skatinant įvairių tipų leukocitų adheziją uždegiminiuose židiniuose. CXCL9 ir CXCL10 yra susiję su autoimuniniais procesais ir inkstų transplantuoto inksto atmetimo atsiradimu [136]. CXCL9 ir CXCL10 gamina makrofagai, endotelio ląstelės ir fibroblastai. CXCL10 dar sekretuoja limfocitai, neutrofilai, monocitai, be to, galima jo raiška mezangiomo ląstelėse, kanalėlių epitelio ląstelėse bei podocituose. CXCL10 dar vadinamas interferono produkuojamu baltymu-10 (IP-10), kiek mažiau jį indukuoja tumoro nekrozės faktorius. CXCL10 indukcija beveik visada pasireiškia vykstant ląsteliniam imuniniam atsakui į įvairias patologines būkles, įskaitant infekciją, transplantato atmetimą ir autoimunines reakcijas [137]. Atlikti tyrimai parodė, kad CXCL10 dalyvauja įvairių inkstų ligų patogenezėje, tokių kaip mezangioproliferacinis glomerulonefritas, ūminė inkstų pažeida [138] ir toksinis nefritas. Jis chemoatrakciniu būdu pritraukia uždegimines ląsteles, tarpininkauja CD4 Th1 atsakui (pvz., didina prouždegiminių citokinų gamybą), turi angiostatinį poveikį, dalyvauja slopinant endotelio ląstelių proliferaciją ir fibroblastų migravimą [75, 139]. Be to,

nustatyta, kad CXCL10 gali būti vertinamas kaip ligos sunkumo biologinis žymuo ir gali būti naudojamas kaip prognostinis rodiklis tokioms ligoms, kaip transplantuoto inksto disfunkcija ir vilkligės nefritas. Šio chemokino vaidmuo išemijos reperfuzijos pažaidos mechanizme buvo įrodytas gyvūnų modeliuose [139, 140]. Neseniai Lorenzo Piemonti ir bendr. daugiacentriame tyrime, į kurį įtraukė 1100 mirusių donorų ir 2869 recipientų po įvairių organų transplantacijų (iš jų – 1479 inkstų) nustatė, kad hemodinamikos nestabilumas, anoksija kaip mirties priežastis, kitų širdies ir kraujagyslių pažaidos rizikos veiksnių buvimas bei infekcija buvo reikšmingai susiję su CXCL10 kiekio padidėjimu serume. Didelė CXCL10 koncentracija buvo reikšmingai susijusi su mažesne geros ankstyvos inksto veiklos tikimybe ir buvo recipiento išgyvenimo prognozinius faktorius po inkstų, kepenų ir širdies transplantacijų [141]. CXCL10 tirtas daugelyje tyrimų kaip transplantuoto inksto atmetimo rodiklis. Nustatyta, kad esant ūminiam atmetimui, jo koncentracija šlapime padidėja keletą dienų anksčiau negu sKr. Recipientams, kuriems CXCL10 serume buvo padidėjęs dar iki transplantacijos, buvo didesnė inkstų nepakankamumo išsivystymo rizika esant ūminiam atmetimui [138, 142]. Olga Milan ir bendr. tyrime CXCL10 buvo tirtas praėjus savaitei po transplantacijos, po to dar keturis kartus 6 mėn. laikotarpiu. Nustatyta, kad atmetimo grupėje buvo daug didesnė žymens koncentracija negu grupėje be atmetimo, slenkstinė vertė nustatyta 84,73 pg/ml (ROC analizėje plotas po kreive – 86,5 proc., jautrumas – 84 proc., specifiskumas – 90 proc.) [143]. Padidėjusi CXCL10, CXCL9 koncentracija nustatoma ne tik vykstant imuniniam procesui, bet rezultatus paveikia ir esanti šlapimo takų infekcija (bet ne izoliuotai leukociturija), BK viremija ir BK nefropatija, į ką buvo atsižvelgiama ne visuose tyrimuose [144]. Neseniai publikuotas pirmasis atsitiktinių imčių kontroliuojamas tyrimas, kuriame tirtas neinvazinio šlapimo CXCL10 stebėsenos kliniškas naudingumas inkstų transplantacijos proceso metu [145]. Biologinis žymuo tirtas recipientų šlapime po 4, 5, 10, 11, 22 ir 24 savaitės po transplantacijos. Intervencinėje grupėje radus padidėjusias vertes, buvo atliekama transplantuoto inksto biopsija ir, atsižvelgiant į jos rezultatus, pritaikomas gydymas. Kontrolinėje grupėje CXCL10 šlapime buvo matuojamas, tačiau rezultatai nedarė įtakos tolesniam recipientų tyrimų ir gydymo eigai. Pirminės išeitys buvo vertinamos praėjus vieniems metams po transplantacijos (paciento mirtis, kliniškas atmetimas, ūminis ar lėtinis aktyvus atmetimas, nustatytas atliekant 1 m. protokoline biopsijas, naujai atsiradę DSA arba aGFG < 25 ml/min./1,73 m²). Pirminių išeičių rezultatai intervencinėje ir kontrolinėje grupėse reikšmingai nesiskyrė (51 proc. palyginti su 49 proc., santykinė rizika (RR) 1,04; p = 0,80), taip pat nebuvo skirtumo tarp 1 m. aGFG, proteinurijos dydžio ir lėtinių pokyčių biopsijose, bei takrolimuzo ir mikofenolato mofetilio koncentracijų.

Biopsijose, atliktose dėl nustatyto žymens padidėjimo, atmetimo dažnis buvo panašus kaip diagnostinėse biopsijose, tačiau klinikinio arba subklinikinio atmetimo, apibrėžto pagal Banff (2015 m. klasifikaciją), atvejų skaičius buvo didesnis intervencinėje grupėje (48 proc. palyginti su 36 proc.; $p = 0,08$). Tai rodo, kad stebint CXCL10 šlapime buvo aptikta papildomų subklinikinio atmetimo epizodų. CXCL10 viršutinis tertilis koreliavo su atmetimu vienu metu protokolinėse biopsijose. Atlikus ROC analizę CXCL10 prognostinei ūmaus atmetimo diagnostinei vertei nustatyti, gautas reikšmingas rezultatas (plotas po kreive – 73 proc., jautrumas – 78 proc., specifiškumas – 55 proc., $p = 0,002$). Nors šlapimo CXCL10 stebėseną negalėjo įrodyti teigiamo poveikio vienerių metų rezultatams, tyrimas patvirtina uCXCL10 tyrimų reikšmę transplantuotų inkstų uždegiminei būklei įvertinti. Pacientų, kurių chemokino koncentracijos per pirmuosius 6 mėnesius po transplantacijos buvo nepadidėjusios, dažnai klinikinė eiga buvo sklandi, o vienu metu protokolinėje biopsijoje atmetimo požymių nebuvo [145]. Prancūzijos mokslininkai atsižvelgė į klinikinius parametrus, galinčius iškreipti biologinių žymenų koncentracijas faktorius ir atsižvelgdami į biopsijų rezultatus (mediana 8 mėn. po transplantacijos) sudarė modelį iš aštuonių parametrų (recipientų amžius, lytis, aGFG, DSA, šlapimo infekcijos, BK infekcijos buvimas ir CXCL9, CXCL10) kuris gali atskirti ūmų atmetimą nuo kitų priežasčių esant stabiliai transplantuoto inksto funkcijai ar disfunkcijai, inksto biopsijos atlikimo metu ir po metų (plotas po kreive nuo 81 iki 92 proc.). Naudojant šį modelį, atsižvelgiant, ar atmetimo rizika yra daugiau ar mažiau negu dešimt procentų, būtų galima optimizuoti biopsijų atlikimą stabiliems pacientams (centruose, kurie įprastai neatlieka protokolinių biopsijų) arba, dar svarbiau, pateisinti mažesnį protokolinių biopsijų skaičių (centruose, kurie įprastai jas atlieka) [144]. Kitame naujai publikuotame Belgijos mokslininkų tyrime, išanalizavus 662 recipientų 1559 inkstų biopsijų rezultatus (jos buvo atliekamos pagal protokolą po 3 mėn., 1 m., 2 m. ir pagal indikacijas), šlapimo CXCL9, CXCL10 ir klinikinius parametrus, buvo sudarytas penkių kintamųjų modelis (aGFG, DSA, BK infekcijos buvimas ir CXCL9, CXCL10). Chemokinai, integruoti su įprastais klinikiniais žymenimis, turėjo didelę diagnostinę vertę nustatant ūminį atmetimą, modelio ROC analizėje plotas po kreive buvo 81,3 proc., jautrumas 75,2 proc., specifiškumas 71,4 proc., ribinė ūmaus atmetimo tikimybės vertė buvo 7,5 proc. Aukštesnės CXCL9, CXCL10 koncentracijos, žemesnis aGFG, DSA ir polioma viruso buvimas didino ūmaus atmetimo riziką. Autorių nuomone, toks integruotas modelis padėtų išvengti 59 protokolinių biopsijų šimtui pacientų, tais atvejais, kai atmetimo rizika prognozuojama mažesnė nei dešimt procentų. Be to, šlapimo chemokino koncentracijos didėjo esant ryškesniems uždegiminiams poky-

čiams biopsijose bei buvo nepriklausomai susijusios inksto išgyvenamumu. Viršutinis kvartilis buvo susijęs su didžiausia inksto netekimo rizika [146].

Atlikta tyrimų, kuriuose vertinta ne tik prognozinė chemokinių vertė nustatant atmetimą, bet ir sąsajos su transplantuoto inksto netekimu ir vėlyvąja inksto funkcija. Hirt-Minkowski P. ir bendr. tyrė 141 pacientą, kuriam inksto biopsija buvo atlikta pagal indikacijas po daugiau 12 mėn. po inksto transplantacijos, stebėjimo mediana 4,1 m. Vertintos baigtys: inksto netekimas arba funkcijos pablogėjimas nuo buvusio biopsijos metu daugiau kaip 30 proc. Didesnės CXCL10 koncentracijos nustatytos ūmaus atmetimo (tiek ląstelinio, tiek antikūnų sukulto, tiek mišraus) grupėse, taip pat, padidėjimas, bet beveik per pusę mažesniu lygiu, fiksuotas ir subklinikinio atmetimo grupėje. 51 proc. pacientų nustatytos pirminės baigtys, jų uCXCL10 koncentracijos buvo reikšmingai didesnės negu stabilios inkstų funkcijos pacientų (9,3 ng/mmol *plg.* 3,3 ng/mmol, $p < 0,001$). Mažesnė CXCL10 koncentracija, $\leq 7,0$ ng/mmol CXCL10 buvo susijusi su geresne penkerių metų inksto išgyvenamumo tikimybe [75]. Rezultatai buvo panašūs į šių mokslininkų anksčiau atliktą tyrimą, kuriame CXCL10 sąsajos su inksto išgyvenimu ir aGFG sumažėjimu buvo vertintos praėjus 6 mėn. po transplantacijos [147].

Zahran ir bendr. tyrė 19 uždegiminių chemokinių, tarp jų ir CXCL10, bei jų ligandus plazmoje, stabiliems pacientams po inksto transplantacijos ir vertino asociacijas su aGFG. Nors transplantuotų pacientų grupėje CXCL10 koncentracija buvo reikšmingai didesnė negu kontrolinėje sveikų tiriamųjų grupėje, bet, atlikus logistinę regresiją, negauta šio chemokino reikšmingų sąsajų su transplantuotų pacientų aGFG [148]. Neseniai Lukas Weseslindtner ir bendr. atliktame tyrime nustatė, kad CXCL10, išmatuotas kraujyje ir šlapime koreliuoja su poliomos viruso BK infekcijos progresavimu, taip pat aukštesnės koncentracijos nustatytos kartu esant citomegalo viruso infekcijai [149].

2024 m. paskelbtas Europos Organų Transplantacijos draugijos (ESOT) konsensusas dėl rekomenduojamų tyrimų transplantuoto inksto atmetimo neinvazinei diagnostikai. Jame nerekomenduojama transplantuoto inksto subklinikiniam ir kliniškai išreikštam atmetimo vertinimui atlikti kraujo genų raiškos profiliavimą. Pareiškime rekomenduojama tirti plazmos donoro laisvų ląstelių DNR (angl. *donor-derived cell-free DNA*) ir chemokinus CXCL-9 ir CXCL10 subklinikinio atmetimo, ląstelinio ir antikūnų sukulto ūmaus atmetimo diagnostikai. Vertinama, kad įrodymų kokybė yra vidutinė, rekomendacija – silpnai teigiama [150].

Apibendrinant galima teigti, kad, nors daugelyje tyrimų buvo nustatytas įvairių biologinių žymenų ir ŪIP ar transplantato baigčių ryšys, šių įrodymų vis dar nepakanka, kad būtų nuspręsta juos įdiegti į kasdienę praktiką. Norint

patvirtinti naujų biologinių žymenų klinikinę naudą, būtina atlikti perspektyvius gerai suplanuotus klinikinius tyrimus [151].

1.4. Gydomo takrolimuzu iššūkiai

Daugumoje transplantacijos centrų skiriamą palaikomąjį imunosupresinį gydymą po inkstų transplantacijos dažniausiai sudaro mikofenolato mofetilis (MMF), takrolimuzas (TAC) ir gliukokortikoidai. Remiantis naujausiais Mokslinio transplantuotų recipientų registro (angl. SRTR – *Scientific Registry of Transplant Recipients*) duomenimis, daugiau kaip 92,1 proc. JAV transplantuotų recipientų gydymui skiriama TAC [5]. Slopindamas T limfocitų aktyvinimą ir nuo T helperių priklausančią B limfocitų proliferaciją, taip pat limfocinų (interleukino-2, interleukino-3 ir interferono- γ ir kt.) formavimąsi, interleukino-2 receptoriaus ekspresiją, TAC yra labai veiksmingas vaistas atmetimo prevencijai. Dėl jo siauro terapinio lango ir farmakokinetinio kintamumo tarp skirtingų pacientų, ir net ir to paties paciento atveju, optimalių dozių paskyrimas kelia tam tikrų iššūkių.

Individualizuotos medicinos tikslas – pasiekti pritaikytą imunosupresijos valdymą, siekiant pagerinti pacientų ir transplantuoto inksto išgyvenimą ir sumažinti komplikacijų dažnumą. Atsižvelgiant į trapią pusiausvyrą tarp atmetimo rizikos ir TAC toksiskumo, TAC poveikio stebėsenai skiriama daug dėmesio. Dauguma transplantacijos centrų įprastai taiko terapinę vaistų stebėseną (TDM), tirdami mažiausią veiksmingą vaisto koncentraciją kraujyje (C_0) ryte, prieš kitos dozės vartojimą. TAC C_0 koncentracija nepakankamai koreliuoja su klinikiniais rezultatais [37], todėl ieškoma kitų vaisto stebėsenai tinkamų metodų. Analizuojami kiti takrolimuzo koncentracijų stebėjimo metodai, įskaitant takrolimuzo koncentracijos ir dozės santykį (C/D) [38–40, 152], mažiausios veiksmingos takrolimuzo koncentracijos kraujyje variacijos koeficientą (TAC CV) [41, 42], takrolimuzo paros dozės koncentracijos santykį [153], laiką terapiniame intervale [43, 154], plotą po koncentracijos ir laiko kreivę [44, 45]. Atlikta tyrimų, kuriuose buvo vertinama TAC koncentracija periferinio kraujo vienbranduolėse ląstelėse bei transplantuoto inksto biopsijose [155]. Šiuo metu nėra vieningo sutarimo dėl rekomenduojamo tinkamiausio papildomo vaisto stebėsenai taikytino metodo. Daugėja tyrimų, kuriuose tiriamas TAC koncentracijos kraujyje variabilumas. Didelis koncentracijos kintamumas gali būti susijęs su tam tikromis biologinėmis priežastimis, įskaitant viduriavimą, kepenų funkcijos sutrikimus, kartu vartojamų vaistų pokyčius (ypač steroidų mažinimą) bei hematokrito pokyčius, taip pat manoma, kad šis rodiklis yra labai susijęs su paskirto vaistų vartojimo režimo nesilaikymu [156]. Neseniai publikuoto Čekijos

mokslininkų tyrimo duomenimis, takrolimuzo vartojimo režimo nesilaikymas (angl. *non-adherence*), įvertinus variabilumo koeficientą, nustatytas 42 proc. pacientų [157].

Ilgalaikiams inkstų transplantuoto inksto rezultatams gali turėti įtakos nepakankama arba per intensyvi imunosupresija. Abu šie veiksniai gali lemti blogus rezultatus ir sutrumpinti inkstų bei pacientų išgyvenamumą. Pastarąjį dešimtmetį dėl imunosupresinio gydymo pažangos ženkliai sumažėjo ūmaus inksto atmetimo atvejų ir dėl šios priežasties prarastų inkstų, tačiau lėtinis transplantuoto inksto funkcijos sutrikimas išlieka pagrindinė ilgalaikio transplantuoto inksto netekimo priežastis [158]. Protokolinėse biopsijose, atliekamos skirtingais laiko intervalais, galima nustatyti subklinikinį uždegimą, fibrozinį pokyčius ir jų progresavimą. Keliuose anksčiau atliktuose tyrimuose nustatyta, kad mažesnė TAC koncentracija yra susijusi su intersticinės fibrozės ir kanalėlių atrofijos (IF/TA) progresavimu [159]. Kitų autorių duomenimis, ryšys tarp TAC dozės sumažinimo ir subklinikinio uždegimo yra, bet jis sietinas ne su IF/TA progresavimu [160, 161], o padidėjusia DSA atsiradimo rizika [161]. Didesnis TAC C_0 variabilumas tarp pacientų taip pat buvo susijęs su greitesniu IF/TA progresavimu [162], blogesniu transplantuoto inksto išgyvenimu ir didesne atmetimo rizika [163].

Atlikta tyrimų su įvairiais inkstų pažeidimo žymenimis, tarp jų ir su NGAL bei KIM-1, siekiant neinvaziniais metodais prognozuoti dėl KNI sukeltos inkstų vazokonstrikcijos ir intersticinės fibrozės pasireiškiantį ūminį ir lėtinį nefrotoksiškumą. Kai kurių autorių nuomone, jie gali būti vertingi šios patologijos prognoziniai žymenys [164].

2. TYRIMO KONTINGENTAS IR METODAI

2.1. Tiriamųjų kontingentas ir duomenų kaupimas

Klinikinis perspektyvusis tyrimas atliktas 2019–2023 m. Lietuvos sveikatos mokslų universiteto ligoninės Kauno klinikų Nefrologijos klinikoje tęsiant nuo 2017 m. pradėtą Lietuvos Mokslų tarybos finansuotą projektą S–MIP–17–18 „Imunosupresinės terapijos individualizavimas farmakokinetinio modeliavimo ir prognostinių rodiklių pagalba pacientams po organų transplantacijos“ ir nuo 2015 m. Nefrologijos klinikoje tęsiamą tyrimą „Inkstų ligų ir lėtinio inkstų nepakankamumo komplikacijų išaiškinimo ir jų prevencijos galimybių bei gydymo optimizavimo tyrimo programa“ (Programinis protokolas Nr. 1, versija 5, 2019-07-02). Tyrimas buvo atliktas vadovaujantis Helsinkio deklaracija. Gauti Kauno regioninio biomedicinų tyrimų etikos komiteto leidimai, BE-2-52, P1-BE-2-52/2014, P3-BE-2-9/2014.

Tiriamųjų atranka vyko nuo 2017 m. gegužės mėn. iki 2022 m. gruodžio 31 d. Visi atrankos kriterijus atitinkantys pacientai buvo kviečiami dalyvauti tyrime.

Recipientų įtraukimo į tyrimą kriterijai:

- atlikta mirusio donoro inksto transplantacija;
- recipiento amžius ≥ 18 m.,
- raštiškas sutikimas pasirašant informuoto asmens sutikimo formoje.

Neįtraukimo kriterijai:

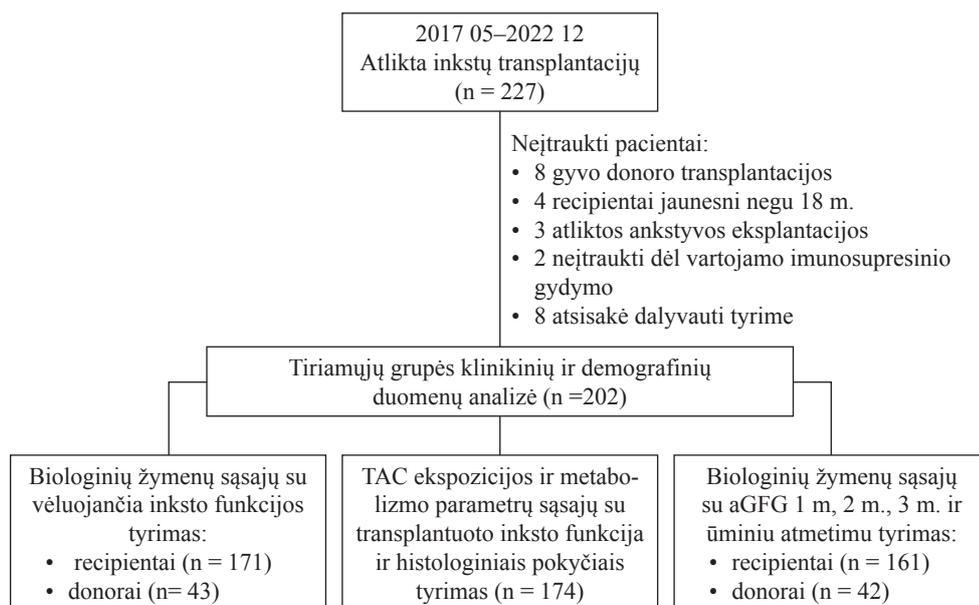
- pakartotina transplantacija, kai iki transplantacijos dar tęsiamas vartojamas imunosupresinis gydymas,
- paciento nesutikimas dalyvauti tyrime,
- dėl komplikacijų pašalintas transplantuotas inkstas per pirmas dvi paras.

Į galutinį tyrimą įtraukti 202 suaugę recipientai ir 119 mirusio donoro atliktų inksto transplantacijų duomenys. Recipientų stebėjimo laikotarpis buvo trys metai, skaičiuojant nuo įtraukimo iki 2022 m. gruodžio 31 d. Tų tiriamųjų, kurie išvyko tolimesniam gydymui į kitą transplantacijos centrą, arba išsivystė inkstų nepakankamumas su dializių poreikiu, arba mirė, arba buvo įtraukti į tyrimą likus mažiau nei trys metai iki tyrimo pabaigos, stebėjimo trukmė buvo trumpesnė. Analizuoti donorų, kurių inkstai panaudoti tyrime dalyvaujantiems recipientams, duomenys. Į donorų klinikinių ir demografinių veiksnių analizę neįtraukti gyvi donoriai dėl mažos grupės ($n = 8$) ir daugelyje tyrimų patvirtintų daug geresnių baigčių rezultatų, palyginti su transplantacijomis iš mirusių donorų. Į donoro biologinių žymenų analizės grupę neįtraukti jaunesni negu 18 m. donoriai ($n = 7$), taip pat kitose

ligoninėse paruošti inksto donorai (n = 19), nes nebuvo imami jų mėginiai; abiejų mėginių tiriama medžiaga buvo neinformatyvi (n = 6) arba tinkamu laiku nebuvo paimta (n = 44).

Vertinant donoro biologinių žymenų grupės imties tinkamumą analizei, buvo palygintos šios grupės savybės su analogiškais donorų, kuriems žymenys nebuvo ištirti, grupės savybėmis. Nenustatyta jokių reikšmingų skirtumų tarp tirtų kintamųjų (donoro amžius (p = 0,687), lytis (p = 0,636), mirties priežastis (p = 0,581), įvertinimas kaip ribinių kriterijų donorų (p = 0,665), KDPI (p = 0,693), KDRI (p = 0,733), kreatininas (p = 0,117), diurezė (p = 0,307), KMI (p = 0,053), proteinurija (p = 0,889)).

Tyrimo dizainas pateiktas 2.1.1 pav.



2.1.1 pav. Tyrimo dizainas

Po transplantacijos laboratoriniai ir instrumentiniai tyrimai recipientams buvo atliekami vadovaujantis Sveikatos apsaugos ministerijos nustatyta tvarka bei Kauno klinikose patvirtintu Inksto transplantacijos protokolu šios įstaigos laboratorijose. Papildomai buvo atliekami tik kraujo ir šlapimo tyrimai standartiškai netiriamų biologinių žymenų nustatymui moksliniame darbe numatytu laikotarpiu, pagal toliau pateikiamą metodiką. Biologiniai žymenys buvo ištirti Latvijos Paulo Stradinio klinikinės universitetinės ligoninės laboratorijoje. Pagal Kauno klinikose patvirtintą Inksto transplantacijos protokolą, transplantacijos operacijos metu atliekamos transplantuoto inksto nulinės biopsijos, kurias atlieka gydytojas urologas, kai yra atstatoma

transplantuoto organo kraujotaka. Protokolines biopsijas pacientams buvo rekomenduojama atlikti praėjus 3 mėn. ir 1 m. po inksto transplantacijos. Visi histologiniai inkstų audinio preparatai buvo tirti ir vertinti Valstybiniame patologijos centre dirbančių gydytojų patologų pagal atnaujinamą Banff transplantuoto inksto histologinio vertinimo klasifikaciją [165]. Kreatininas kraujo serume buvo tirtas kiekybiniu fotometriniu Jaffe metodu Kauno klinikų Laboratorinės medicinos klinikoje ir išreikštas mikromoliais litre ($\mu\text{mol/l}$). Transplantuotų inkstų funkcija vertinta pagal apskaičiuotą transplantuoto inksto glomerulų filtracijos greitį (aGFG), naudojant CKD-EPI (angl. *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*) formulę be cistatino: $\text{aGFG} = 141 \times \text{Min. (Skreat./}\kappa, 1)\alpha \times \text{Maks. (Skreat./}\kappa, 1) - 0,544 \times 0,9938 \text{ amžius} \times 1,012$ (jei moteris).

(*Skreat.* – kreatinino kiekis kraujo serume ($\mu\text{mol/l}$); α – koeficientas ($-0,241$ moterims ir $-0,302$ vyrams); κ – stabili kreatinino kiekio kraujo serume reikšmė (moterims – $61,9 \mu\text{mol/l}$, vyrams – $79,6 \mu\text{mol/l}$); *Min.* – mažiausias nustatytas kreatinino kiekis kraujo serume/ κ arba 1; *Maks.* – didžiausias nustatytas kreatinino kiekis kraujo serume/ κ arba 1; *amžius* – tiriamojo amžius (metai). Apskaičiuota reikšmė pateikiama ml/min./1,73 m^2).

Takrolimuzo koncentracijos buvo matuotos ACMIA (antikūnų konjuguotu magnetinės imunoanalizės) metodu naudojant Dimension EXL 200 (Siemens) integruotą chemijos sistemą (angl. *Dimension EXL 200 (Siemens) Integrated Chemistry System*).

2.2. Klininių ir demografinių duomenų rinkimas ir analizė

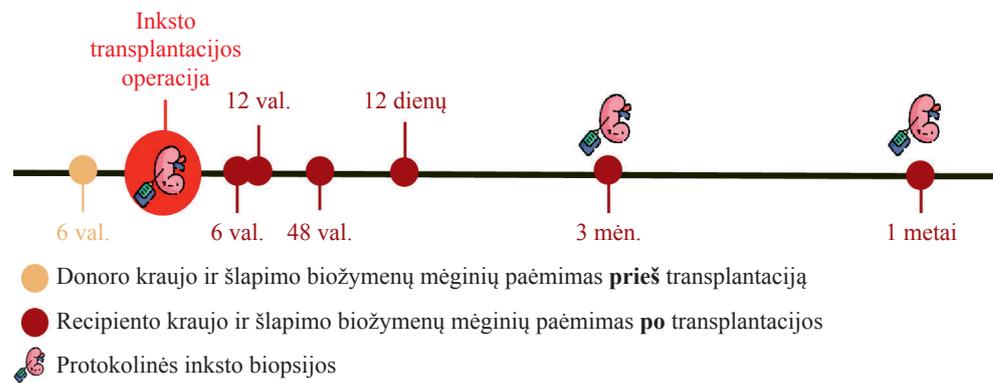
Surinkti Nacionalinio Transplantacijos Biuro prie Sveikatos apsaugos ministerijos transplantacijos centrai pateikti inkstų donorų demografiniai ir klinikiniai duomenys: amžius, lytis, ūgis, svoris, mirties priežastis, sirgimas arterine hipertenzija, virusiniu hepatitu C, diurezė paskutinę parą prieš inksto paėmimo operaciją, laboratorinių tyrimų rezultatai (bendrojo šlapimo tyrimo, sKr). Pagal tarptautinius UNOS (angl. *United Network for Organ Sharing*) nustatytus kriterijus donoriai buvo suskirstyti į standartinių kriterijų ir ribinių inksto donorų grupes. Ribiniams donorams priskirti visi vyresni negu 60 m. donoriai arba 50–59 m. donoriai, kuriems nustatyti bent du iš nurodytų pokyčių: 1) kraujagyslinės patologijos nulemta galvos smegenų mirtis; 2) sirgimas arterine hipertenzija; 3) kreatinino kiekis kraujyje daugiau nei $133 \mu\text{mol/l}$ ($1,5 \text{ mg/dl}$). Pagal UNOS adaptuotą ir pasiūlytą donoro kokybės vertinimo metodiką, buvo apskaičiuoti inksto donoro rizikos indeksas (KDRI) ir Inksto donoro profilio indeksas (KDPI) naudojant internetiniame Sveikatos išteklių ir paslaugų administracijos (angl. HRSA – *Health Resources and Services*)

tinklapyje skelbiamą skaičiuoklę <https://optn.transplant.hrsa.gov/resources/allocation-calculators/kdpi-calculator>. Šių rodiklių apskaičiavimui naudojami dešimt donoro duomenų: mirties priežastis, amžius, ūgis, svoris, rasė, kreatininas kraujyje, sirgimas arterine hipertenzija, hepatitu C, cukriniu diabetu, vertinimas ar tai neplakančios širdies donoras. Pagal apskaičiuotą KDRI, tinklapyje skelbiamose atskirų metų duomenų lentelėse apskaičiuoti KDPI.

Iš įrašų Ligoninės informacinėje sistemoje surinkti inkstų recipientų demografiniai bei klinikiniai duomenys: amžius, lytis, 5 stadijos LIL sukėlusio priežastis, anksčiau taikytas pakaitinės inkstų terapijos gydymo metodas, gydymo dializėmis iki transplantacijos trukmė, laukimo inksto transplantacijos laikas, sirgimas cukriniu diabetu, arterine hipertenzija, ankstesnių inksto transplantacijų skaičius, šaltosios išemijų laikai, žmogaus leukocitų antigenų (ŽLA) nesutapimų skaičius, buvusių paskutiniiais metais limfocitotoksinių antikūnų titras, imunologinės rizikos įvertinimas, skirta įvadinė (skirti ar neskirti monokloniniai antikūnai, ar antitimocitinis globulinas (ATG)) bei palaikomoji (*sin.* bazinė) imunosupresija. Vėlesniu periodu numatytais laiko intervalais (1 mėn., 3 mėn., 6 mėn., 1 m., 2 m., 3 m.) stebėta sKr, aGFG, proteinurijos, vartojamų KNI C₀ koncentracijos, skiriamų imunosupresinių vaistų dozės, AKFI arba ARB grupės vaistų vartojimas, su imunosupresinių vaistų vartojimu susijusios komplikacijos ir histologinių pokyčių protokolinėje inkstų biopsijose duomenys. Kiekvienam tiriamajam buvo suteikiamas unikalus kodas. Nuasmeninti duomenys buvo kaupiami anketoje ir apsaugotame duomenų rinkinyje. Atlikta tiriamųjų aprašomoji statistika.

2.3. Biologinių žymenų rinkimas ir analizė

Tiriamųjų recipientų kraujo ir šlapimo mėginiai biologinių žymenų nustatymui per pirmąsias 24 valandas po inksto transplantacijos imti po du kartus: po 6 val. (nakties metu nuo 6 val. iki mažiau 11 val.) ir po 12 val. (nakties metu nuo 12 val. iki mažiau 23 val.) nuo inksto kraujotakos atstatymo Intensyvios terapijos skyriuje į specialiai doktorantės pristatomus koduotus du 4 ml vakuuminius kraujo vakutainerius su krešėjimo aktyvikiu ir steriliu šlapimo indeliu. Vėliau biologinių žymenų nustatymui kraujo ir šlapimo mėginiai imti į koduotus vakutainerius Nefrologijos stacionare kartu su kitais standartiškai atliekamais tyrimais iš viso keturis kartus: antrą parą po transplantacijos, kai pradėtas gydymas KNI, po 12 dienų (kai jau daugumai pacientų stabilizuojasi klinikinė būklė ir vaistų dozės) ir kai pacientai buvo kartotinai stacionarizuoti protokolinės inksto biopsijos atlikimui po 3 mėn. ir 12 mėn. po inksto transplantacijos. Mėginių ėmimo schema pateikta 2.3.1 pav.



2.3.1 pav. Mėginių biologinių žymenų tyrimams ir inksto biopsijų atlikimo schema

Surinkti šlapimo mėginiai biologinių žymenų tyrimams Lietuvos sveikatos mokslų universiteto ligoninės Kauno klinikų laboratorijoje buvo centrifuguojami 10 min. $2500 \times g$ greičiu. Kraujo mėginiai buvo palikti 30–60 min. kambario temperatūroje, kad susidarytų krešulys, tada centrifuguoti. Tiriamoji medžiaga buvo išpilstoma į 1,5 ml ependorfus ir užšaldyta saugoma $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje. Sukaupus transportavimui ir mėginių ištyrimui ekonomiškai optimalų kiekį, kartu derinant su laboratorijos darbuotojų galimybėmis užtikrinant reikiamas temperatūrines sąlygas, doktorantė mėginius išveždavo į Latvijos Paulo Stradinio klinikinės universitetinės ligoninės laboratoriją. Šioje laboratorijoje biologinių žymenų tyrimus atliko tas pats specialistas, jam nebuvo pateikta informacija apie klinikinius tiriamųjų duomenis. Tyrimai buvo atliekami imunofermentiniu analizės metodu (ELISA) pagal gamintojų pateiktas rekomendacijas. Analizuoti biologiniai žymenys: inkstų pažeidimo molekulė-1 (KIM-1), su neutrofilų gelatinaze susijęs lipokalinas (NGAL), interleukinas 18 (IL-18), chemokinai: C-X-C motyvo chemokinas 9 (CXCL9) ir C-X-C motyvo chemokinas 10 (CXCL10).

KIM-1 tyrimai atlikti naudojant komercinius rinkinius TIM-1/KIM-1/HAVCR Quantikine ELISA Kit (R&D Systems Europe, Ltd; 19 Barton Lane, Abingdon Science Park Abingdon, OX14 3NB Jungtinė Karalystė), kiti biologiniai žymenys buvo tirti naudojant gamintojo Sigma-Aldrich Chemie GmbH, (Eschenstrasse 5; D-82024 Taufkirchen) priemones: NGAL buvo matuojamas naudojant Human Lipocalin-2 / NGAL ELISA Kit; CXCL9 – Human MIG / CXCL9 ELISA Kit; CXCL10 – Human IP-10 / CXCL10 ELISA Kit; IL-18 – Human IL18 / Interleukin-18 ELISA Kit. uKIM-1 komercinio rinkinio biologinio žymens nustatymo ribos buvo 0,2–10 ng/ml, jautrumas – 0,046 ng/ml, sKIM-1 komercinio rinkinio biologinio žymens nustatymo ribos buvo 10,9–700 pg/ml, jautrumas – 3,63 pg/ml, NGAL komercinio

rinkinio nustatymo žingsnis buvo 4,1–1000 pg/ml, jautrumas – 4 pg/ml, variacijos koeficientas – < 12 proc., IL-18 komercinio rikinio biologinio žymens jautrumas – 0,5 pg/ml, variacijos koeficientas – < 12 proc., CXCL10 komercinio rikinio nustatymo žingsnis buvo 8,23–6000 pg/ml, jautrumas – 8 pg/ml, variacijos koeficientas – < 12 proc., CXCL9 komercinio rikinio nustatymo žingsnis buvo 8,23–6000 pg/ml, jautrumas – 20 pg/ml, variacijos koeficientas – < 12 proc.

2.4. Biologinių žymenų ir klinikinių duomenų sąsajų su vėluojančia transplantuoto inksto funkcija tyrimas

2.4.1. Donorų biologinių žymenų ir klinikinių duomenų grupės tyrimas

Dažniausia ankstyvojo stacionarinio laikotarpio komplikacija yra vėluojanti transplantuoto inksto funkcija. Ji apibrėžta kliniškai pasireiškianti ūmine transplantuoto inksto pažaida su išliekančiu dializės procedūrų poreikiu per pirmąją savaitę po transplantacijos [166]. Į šį tyrimą įtraukti 43 inkstų donorai, kuriems 2017 m. gegužės mėn.–2020 m. spalio mėn. laikotarpiu buvo ištirti biologiniai žymenys, ir 76 recipientai, kuriems transplantuoti šių donorų inkstai. Donorams transplantacijos dieną, prieš inksto eksplantacijos operaciją, buvo imami kraujo ir šlapimo mėginiai biologinių žymenų tyrimams ir paruošiami pagal anksčiau aprašytą metodiką. Identifikuoti ribinių kriterijų ir standartinių kriterijų donorai, apskaičiuoti KDPI ir KDRI. Recipientai, kuriems buvo transplantuoti šios grupės donorų inkstai, suskirstyti į vėluojančios inkstų funkcijos ir geros (kai po transplantacijos nebebuvo dializių poreikio) inkstų funkcijos grupes. Tarp šių grupių atlikta serumo ir šlapimo KIM-1, NGAL, IL-18, CXCL10 ir klinikinių donorų bei recipientų veiksmų palyginamoji analizė. Nustačius reikšmingus skirtumus, nustatytos jų koncentracijų ribinės vertės ir atlikta vėluojančios inksto funkcijos prognozė analizė. Sudaryti du prognostiniai modeliai: įtraukiant tik klinikinius duomenis ir klinikinių duomenų kartu su biologiniais žymenimis bei atlikta modelių palyginamoji analizė.

2.4.2. Recipientų biologinių žymenų ir klinikinių duomenų grupės tyrimas

Į vėluojančios transplantuoto inksto funkcijos tyrimą buvo įtraukti 171 inkstų transplantacijų atvejai, kai buvo tirti recipientų biologiniai žymenys. Recipientai suskirstyti į vėluojančios inkstų funkcijos ir geros (kai po transplantacijos nebebuvo dializių poreikio) inkstų funkcijos grupes. Įvertinta, kurie prieš transplantacijos operaciją žinomi donorų ir inksto recipientų klinikiniai ir demografiniai veiksniai ir recipientų biologiniai žymenys serumo ir šlapimo KIM-1, NGAL, IL-18, CXCL9, CXCL10, paimti per pirmąją parą, gali prognozuoti vėluojančios transplantuoto inksto funkcijos galimybę. Sudaryti vėluojančios inkstų funkcijos prognoziniai modeliai vertinant atskirai serumo ir šlapimo biologinius žymenis, bei analizuojant juos modelyje kartu. Palyginti po dviejų parų paimtų biologinių žymenų skirtumai vėluojančios ir geros inkstų funkcijų grupėse.

2.5. Biologinių žymenų sąsają su transplantuoto funkcija 1 m., 2 m., 3 m. ir ūminiu atmetimu tyrimas

Donoro biologinių žymenų asociacijų su vėlyvąja inksto funkcija įvertinimui analizuoti toliau tyrime tęsiančių dalyvavimą 72 recipientų, kuriems buvo transplantuoti inkstai iš 41 donoro ir kuriems buvo ištirti prieš transplantaciją paimti biologiniai žymenys. Vertintos sąsajos su recipientų aGFG praėjus 6 mėn., 1 m., 2 m. ir 3 m. po transplantacijos.

Recipientų biologinių žymenų sąsajos su atokiaja inkstų funkcija analizuotos 161 recipientui, kurie tęsė dalyvavimą ilgiau negu 3 mėn. po transplantacijos. Analizuotos serumo ir šlapimo biologinių žymenų, ištirtų praėjus 3 mėn. ir 1 m. po transplantacijos, kai buvo atliekamos ir protokolinės biopsijos, sąsajos su aGFG 3 mėn.–3 m. ir ūminiu atmetimu. Įvertintas KDPI ryšys su vėlyvąja inksto funkcija po 1 m., 2 m., 3 m. Įvertintos biologinių žymenų sąsajos su histologiškai patvirtintu transplantuoto inksto atmetimo dažniu. Šiame moksliniame tyrime neanalizuotas pacientų ir inksto išgyvenamumas, nes tiriamuoju laikotarpiu buvusios COVID-19 pandemijos metu, dalis recipientų sirgo šia infekcija ir buvo reikalinga imunosupresinio gydymo korekcija. Dėl pakeistos imunosupresijos (ją silpninti buvo pradėdama mažinant arba nutraukiant MMF, po to – takrolimužą) ir sunkios infekcinės ligos eigos išgyvenamumo rezultatai atskirais laikotarpiais ženklai skyrėsi. Be to, pandemijos laikotarpiu pacientai rečiau atvykdavo kontroliniams vizitams pas gydytojus, o tai galėjo turėti įtakos baigtis lemiančių gretutinių patologijų gydymui.

2.6. Takrolimuzo ekspozicijos ir metabolizmo parametrų sąsajų su inksto baigtimis tyrimas

Imunosupresinis gydymas yra skiriamas pagal Sveikatos apsaugos ministerijos nustatyta tvarką (Įsakymas Nr. V-759, 2011 m. rugpjūčio 5 d.) bei Kauno klinikose patvirtintą Inksto transplantacijos protokolą. Prieš inksto transplantaciją, konsiliumo metu, yra nustatoma imunologinė inksto recipiento rizika (įprasta, vidutinė, didelė), numatoma indukcinė (*sin.* įvadinė) imunosupresija bei suplanuojama imunosupresinis gydymas po transplantacijos. Įvadinei imunosupresijai, esant įprastai imunologinei rizikai, skiriamas metilprednizolonas į veną ir MMF per burną. Esant vidutinei ar didelei imunologinei rizikai, papildomai skiriami ir monokloniniai antikūnai: prieš transplantaciją ir ketvirtą dieną po operacijos. Jeigu pacientas yra įprastos imunologinės rizikos, po transplantacijos paprastai skiriama ciklosporino. Jeigu pacientas vidutinės imunologinės rizikos – ciklosporino arba takrolimuzo. TAC rekomenduojama rinktis, jei yra įvertinama esanti didesnė atmetimo arba širdies kraujagyslių sistemos komplikacijų rizika. Kaip pirmojo pasirinkimo KNI TAC yra skiriamas didelės imunologinės rizikos recipientams. Visiems Kauno klinikose gydomiems pacientams, vartojantiems TAC, yra skiriama prailginto veikimo vaisto forma, pradinė vaisto dozė (Advagraf, Dailiport) 0,2 mg/kg/d., arba 0,17 mg/kg/d. (Envarsus). TAC stebėjimas vykdomas tiriant mažiausią veiksmingą vaisto koncentraciją kraujyje (toliau C_0) ryte, prieš sekančios dozės vartojimą. Remiantis Kauno klinikose patvirtintu Inksto transplantacijos protokolu, rekomenduojamas recipientui ambulatorinių tyrimų dažnis ištiriant KNI koncentraciją: vieną mėnesį po išrašymo iš stacionaro – kas 2 savaites, nuo 2 iki 6 mėnesio po inksto transplantacijos – 1 ar 2 kartus per mėnesį, atsižvelgiant į paciento būklę, nuo 6 iki 12 mėnesio po inksto transplantacijos – vieną kartą per mėnesį, praėjus metams po inksto transplantacijos – ne rečiau kaip kartą per 3 mėnesius. Tikslinė vaisto koncentracija per pirmus tris mėnesius yra 6–15 ng/ml ir 3–10 ng/ml (5–10 ng/ml, jei nėra šalutinių reiškinių), nuo 3 mėnesių iki metų po inksto transplantacijos. Tiriamuoju laikotarpiu, esant Lietuvoje paskelbtai COVID-19 pandemijai ir jos sukeltiems mobilumo apribojimams, darbo organizavimo pokyčiams ir suretėjusiems ambulatoriniams pacientų vizitams dėl infekcijos grėsmės, tyrimų dažnis kito.

Tiriamuoju laikotarpiu gydymas takrolimuzu buvo paskirtas 190 pacientų. Į analizę įtraukti 174 tiriamieji, kurie nefrologo stebėti ilgiau negu tris mėnesius po transplantacijos, imunosupresiniam gydymui vartojo TAC ir buvo ištirtos biologinių žymenų koncentracijos (bent vienu moksliniame darbe suplanuotu laiku).

Analizuotos trijų TAC ekspozicijos ir metabolizmo parametrų stebėjimo metodų: mažiausios veiksmingos vaisto koncentracijos kraujyje (*sin.* liekamosios vaisto koncentracijos kraujyje) (TAC C₀), koncentracijos ir dozės santykio (C/D) ir mažiausios veiksmingos vaisto koncentracijos kraujyje variabilumo koeficiento (TAC C₀ CV) sąsajos su ūminiu atmetimu bei aGFG 1 m., 2 m. ir 3 m. po inksto transplantacijos. Į šią analizę įtraukti pagal transplantacijos protokolą ištirtų 3, 6, 12, 24 ir 36 mėn. laiko taškuose TAC C₀ duomenys. Takrolimuzo koncentracijos ir dozės santykis apskaičiuotas vaisto koncentraciją padalinus iš vartojamos dozės, rezultatas išreikštas µg/l/mg. Remiantis anksčiau atliktų tyrimų metodika ir rekomendacijomis [38], pagal gautą reikšmę tiriamieji buvo suskirstyti į lėto metabolizmo (C/D ≥ 1,05 µg/l/mg) ir greito metabolizmo (C/D < 1,05 µg/l/mg) grupes.

TAC C₀ CV apskaičiavimui papildomai surinkta informacija apie visas 6–12 mėn. tiriamuoju laikotarpiu ištirtas takrolimuzo koncentracijas. Peržiūrėti pacientų duomenys, atmetant vaisto vertes, kurioms įtakos turėjo ne laiku paimti tyrimai, skiriamas infekcijų, atmetimo gydymas ar kitos priežastys. TAC C₀ CV skaičiuotas iš ne mažiau trijų kiekvieno paciento koncentracijų reikšmių pagal formulę: CV (proc.) = (SN/vidurkis) × 100 (kur SN – standartinis nuokrypis), rezultatai išreikšti procentais. Analizei apskaičiuoti koncentracijų tertiliai, darant prielaidą pagal kitų autorių atliktų tyrimų rezultatus, kad aukščiausias didžiausias tertilis gali būti susijęs su blogesnėmis baigtimis.

Išanalizuoti galimi klinikinių veiksnių (donoro ir recipiento amžiaus, donoro kreatinino, imunologinės rizikos, šaltosios išemijos laiko, biologinių žymenų ir TAC parametrų stebėjimų metodų ryšiai su vėluojančia inksto funkcija, ūminiu inksto atmetimu pirmaisiais metais po transplantacijos, suskirstant tiriamuosius į grupes pagal šių komplikacijų buvimą. Atlikta TAC koncentracijų stebėjimų metodų sąsajų su transplantuoto inksto funkcija po 1 m., 2 m. ir po 3 m. analizė, į modelį įtraukiant donoro ir recipiento klinikinius veiksnius. Pagal aGFG vertę, tiriamieji suskirstyti į aGFG > 60 ml/min./1,73 m² (geros transplantuoto inksto funkcijos rodiklis) ir < 60 ml/min./1,73 m² grupes.

2.6.1. Takrolimuzo ekspozicijos ir metabolizmo parametrų sąsajų su lėtiniais histologiniais pokyčiais protokolinėse inkstų biopsijose tyrimas

Į tyrimą įtraukti 131 pacientas, kuriam buvo atlikta nulinė biopsija ir bent viena protokolinė biopsija: po 3 mėn. ir/arba 1 m. Atsižvelgiant į Valstybinio Patologijos centro gydytojų patologų biopsijų vertinimo pagal Banff klasifikaciją [165] duotus atsakymus, analizuotas intersticinės fibrozės ir kanalėlių atrofijos (IF/TA) bei lėtinių pokyčių balo (angl. *chronicity score*) progresavimas kartotinėse biopsijose. Intersticiumo uždegimas (i) buvo

vertinamas esant i -balui ≥ 1 , biopsijos be inksto stromos monomorfonuklearinės infiltracijos (i -balas = 0) buvo klasifikuojamos kaip be uždegimo požymių. Lėtinių pokyčių balas buvo apskaičiuojamas kaip glomerulų bazinės membranos kontūrų dvigubėjimo (cg), intersticinės fibrozės (ci), kanalėlių atrofijos (ct), arterijų fibrozinio intimos sustorėjimo (cv), mesangiumo matriksų padidėjimo (mm), ir arterijų hialinozės (ah) suma [167]. IF/TA balas (ci + ct) buvo apskaičiuotas kiekvienai biopsijai, jos progresavimas apibrėžtas kaip ci + ct balų suma ≥ 1 (skalė nuo 0 iki 6) vertinant su ankstesnėje biopsijoje buvusiu ci+ct. Šiame tyrime pacientai buvo suskirstyti į IF/TA progresavimo grupę (ci + ct protokolinėje biopsijoje didesnis nei nulinėje biopsijoje) ir IF/TA neprogresavimo grupę (protokolinėje biopsijoje po 3 mėn. arba 1 m. ci + ct nepadidėjo lyginant su buvusiais nulinėje biopsijoje). Esant neinformatyviai donorinio inksto nulinei biopsijai, recipientui priskirtas to paties donoro kito inksto biopsijos rezultatas. Atlikta tirtų TAC terapinio stebėjimo metodų ir biologinių žymenų ryšio su lėtiniais pokyčiais biopsijose analizė.

2.7. Statistinė duomenų analizė

Statistinė analizė atlikta naudojant SPSS, 29.0 versijos programinę įrangą (IBM Corp., Armonk, NY, USA) ir MedCalc statistinę programinę įrangą (Ltd., versija 22.016, Ostendė, Belgija). Kiekybiniai dydžiai imtyje tikrinti ir analizuoti atsižvelgiant į jų pasiskirstymą pagal Gauso dėsnį. Išsidėstymas analizuotas pagal histogramą bei Kolmogorovo–Smirnov, donorų žymenų imtyje – pagal Shapiro-Wilk testą. Tenkinantys normalumo sąlygas dydžiai apibūdinti pateikiant vidurkį ir standartinį nuokrypį (vidurkis (SN), o neparametriniams dydžiams apibūdinti pateikta mediana ir mažiausios ir didžiausios reikšmės arba Q1-Q3 kvartilai. Kokybiniai požymiai aprašyti absoliučiais skaičiais (n), nurodant procentinę išraišką (proc.). Normaliai išsidėsčiusiems nepriklausomiems skaitiniams dydžiams palyginti taikytas Stjudento t testas. Neparametriniams tolydiesiems dydžiams analizuoti taikytas Mann-Whitney testas. Poriniams kintamiesiems palyginti esant normaliam skirstiniui – Wilcoxon testas. Priklausomų imčių kiekybinių ir kokybinių rodiklių vertinimui naudoti Friedmano ir Vilkoksono testai. Kategorinių dydžių skirtumai tarp grupių buvo vertinti naudojant Chi kvadrato (χ^2) testą. Kiekybinių kintamųjų, neatitinkančių normaliojo skirstinio, tarpusavio ryšio įvertinimui apskaičiuotas Spearman koreliacijos koeficientas. Ryšys laikytas silpnu, kai $r < 0,3$, vidutiniu, kai $0,3 \leq r \leq 0,7$, stipriu, kai $r > 0,7$. Prognozių reikšmių vertinimas atliktas naudojantis ROC kreivėmis. Remiantis jomis, pagal Youden indeksą nustatytos matavimų ribinės vertės (angl. *cut off*

values), kuriomis pateiktas vertės jautrumo ir specifiškumo sąryšis. Analizės tikslumui nurodyti naudotas plotas po ROC kreive (angl. *area under the ROC curve* – AUC), kurio reikšmė artima 1,0 nurodo aukštą vertės diagnostinį tikslumą. ROC kreivių prognozinės vertės tarpusavyje palyginimui naudotas Delong testas. Donoro veiksnių analizėje atlikta biologinių žymenų reikšmių logaritminė transformacija, tokiu būdu gautas jų pasiskirstymas pagal Gauso dėsnį ir atlikta tiesinė regresinė analizė.

Atlikta vienaveiksni dvinarė logistinė regresijos analizė ir atrinkti veiksniai, turintys prognozinę vertę inkstų funkcijai. Statistiškai reikšmingi vienveiksni analizėje rodikliai buvo naudoti daugiaveiksni logistinės regresijos modeliams sudaryti. Jie buvo sudaryti taikant kintamųjų eliminavimo metodą ir įvertinus prognozių kintamųjų multikolinearumą. Daugiaveiksni logistinės regresijos analizės rodikliai, kurių $p < 0,05$, buvo laikomi reikšmingais prognoziniais veiksniais. Apskaičiuotos jų galimybių santykių (GS) vertės su 95 proc. pasikliautiniais intervalais (95 proc. PI). Pasirinkta p vertė $< 0,05$ laikyta statistiškai reikšminga.

3. DARBO REZULTATAI

3.1. Mirusių inkstų donorų demografiniai ir klinikiniai duomenys

Panaudojant 119 mirusių donorų organus, inkstai transplantuoti 202 recipientams. Dauguma donorų buvo paruošti Kauno klinikose, 19 – kitose ligoninėse, iš jų transplantuoti inkstai 31 recipientui.

Transplantuoti 114 (56,4 proc.) vyrų ir 88 (43,6 proc.) moterų donorų inkstai. Vidutinis donorų amžius buvo 50,82 (15,9) m., moteriškos lyties donorai buvo vyresni negu vyrų (55,68 m. *plg.* 47,1 m.). Jaunesni negu 18 m. buvo 7 donorai, iš jų transplantuota 10 inkstų. Jauniausias donoras buvo 2 m. amžiaus, recipientui transplantuoti abu inkstai „en-bloc“. Vyriausiam iš vaikų grupės buvo 16 m., jo inkstai transplantuoti dviem recipientams. Suaugusių donorų amžiaus vidurkis buvo 52,89 (13,4) m., mediana 53,5 m. Aštuoni (4 proc.) inkstai transplantuoti iš šešių neplakančios širdies donorų, jų amžiaus mediana – 46,5 (40–59) m., sK_r normos ribose buvo trimis atvejais. Tarp abiejų lyčių vyraujanti galvos smegenų mirties priežastis buvo galvos smegenų kraujagyslių patologija (73,3 proc.), moterų tarpe ši patologija reikšmingai dažnesnė (88,6 proc. *plg.* 61,4 proc.). Moterys rečiau negu vyrai patyrė mirtį nulėmusią galvos smegenų traumą (5,7 proc. *plg.* 22,8 proc.). Beveik pusė (52 proc.) inkstų transplantuota iš arterine hipertenzija sirgusių donorų, ši patologija moteriškos lyties donorių tarpe buvo dažnesnė negu vyrų (63,6 proc. *plg.* 43 proc.). Ribinius kriterijus atitiko pusė (50 proc.) donorų, iš jų 65,6 proc. buvo 60 m. ir vyresni. Padidėjęs kreatininas iki 133 μmol ir daugiau šioje grupėje buvo 19 (18,8 proc.) donorų. Ribinių ir standartinių kriterijų donorų kreatininas reikšmingai nesiskyrė ($p = 0,513$). Beveik penktadalio (21,7 proc.) KDPI buvo 80 proc. ir didesnis. Vertinant donorinio inksto kokybę pagal lytį, daugiau moteriškos lyties donorų buvo įvertinti kaip ribiniai (55,4 proc. *plg.* 44,6 proc.), jų KDPI (66 proc. *plg.* 49 proc.) ir KDRI (1,2 *plg.* 1,0) medianos buvo reikšmingai didesnės. Kūno masės indeksas (KMI) apskaičiuotas tik suaugusiems asmenims dėl skirtingų matavimo metodikų vaikams. Vidutinis donorų, vyresnių negu 18 m., KMI buvo 26,69 (4,26) kg. 57,4 proc. donorų KMI buvo didesnis negu normalus, iš jų 18,3 proc. atitiko nutukimo kriterijus (kai $KMI > 30 \text{ kg/m}^2$). Ribinių donorų KMI buvo didesnis negu standartinių kriterijų donorų (27,68 (20,5–43,8) *plg.* 24,66 (15,2–34,3), $p < 0,001$). Moterų paskutinis žinomas kreatininas serume buvo reikšmingai mažesnis negu vyrų donorų (76,66 (32,16) *plg.* 105,16 (55,77)). Tiriamojo lyčiai specifiskas normos (n. vyrams 59–104 μmol/l, moterims 45–84 μmol/l) viršijo 30,7 proc. vyrų ir 35,2 proc.

moterų. Ribinio donoro kriterijuose apibrėžtą didesnę nei 133 $\mu\text{mol/l}$ kreatinino vertę atitiko 13,9 proc. ($n = 28$) donorų. Diurezė per paskutinę parą, baltymo kiekis šlapime, šaltosios išemijos trukmė tarp lyčių reikšmingai nesiskyrė. Po lygiai buvo donorų I (0) (41, proc.) ir II (A) (41,1 proc.), rečiau – III (B) (15,3 proc.) ir IV (AB) (2,5 proc.) kraujo grupių. 90,5 proc. turėjo Rh (+), 9,5 proc. – Rh (–). Po transplantacijų iš 43 donorų, kurių abu inkstai buvo tinkami transplantacijai, abiem recipientams stebėta gera inksto funkcija. Iš 30 donorinių inkstų porų, vienam recipientui buvo vėluojanti inksto funkcija, kitam – gera. Po 13 porinių inkstų transplantacijų abiem recipientams eiga buvo komplikauta vėluojančia inkstų funkcija.

3.1.1 lentelė. Mirusių inkstų donorų demografiniai ir klinikiniai duomenys

Rodiklis	Visi donoriai (n = 202)	Vyrai (n = 114)	Moterys (n = 88)	p vertė
Amžius, m.*	50,82 (15,9) 53 (2–77)	47,1 (15,3) 49 (2–76)	55,68 (14,6) 55 (14–77)	< 0,001
Galvos smegenų mirties priežastis				< 0,001
Kraujagyslių patologija	148 (73,3)	70 (61,4)	78 (88,6)	< 0,001
Trauma	31 (15,3)	26 (22,8)	5 (5,7)	< 0,001
Kita	23 (11,4)	18 (15,8)	5 (5,7)	0,025
Kūno masės indeksas, kg/m^2 *	25,98 (16,26–43,83)	25,7 (20–43,83)	26,1 (16,26–38,06)	0,173
Arterinė hipertenzija, (proc.)	105 (52,0)	49 (43,0)	56 (63,6)	0,004
Ribinių kriterijų donoras, (proc.)	101 (50)	45 (44,6)	56 (55,4)	< 0,001
KDPI, proc.*	55,81 (26,99) 55 (3–99)	48,69 (26,4) 49 (3–96)	64,95 (25,04) 66 (9–99)	< 0,001
KDRI*	1,13 (0,36) 1,05 (0,58–2,2)	1,03 (0,30) 1 (0,58–1,8)	1,26 (0,39) 1,2 (0,68–2,2)	< 0,001
Kreatinino kiekis kraujyje, $\mu\text{mol/l}$ *	92,69 (48,91) 84 (22–332)	105,2 (55,8) 94 (42–332)	76,7 (32,2) 78 (2–173)	0,001
Diurezė per paskutinę parą, ml *	2910 (780–12000)	3000 (800–12000)	2875 (780–9500)	0,317
Proteinurija, g/l *	0,1 (0–3,3)	0,1 (0–3,0)	0,05 (0–3,3)	0,317
Šaltosios išemijos trukmė, val.*	16,04 (4,49) 15,2 (9,05–34,3)	15,23 (3,65) 15,2 (10,37–27)	16,47 (5,40) 15,3 (9,05–34,3)	0,717

Pastaba: * – duomenys nėra pasiskirstę pagal normalųjį (Gauso) skirstinį. p vertė – reikšmingumo lygmuo. Kiekybiniai kintamieji pateikti kaip vidurkis (SN – standartinis nuokrypis), ir medianos (minimalios–maksimalios reikšmės). Kategoriniai kintamieji pateikti absoliučiais skaičiais ir procentais.

3.2. Recipientų, kuriems transplantuoti mirusių donorų inkstai, demografiniai ir klinikiniai duomenys

Atlikta 202 recipientų duomenų analizė. Tiriamuoju laikotarpiu išvyko tolimesniam gydymui į kitą transplantacijos centrą 30 recipientų, mirė 21, galutinis inkstų nepakankamumas su dializių poreikiu išsivystė 11 pacientų. Vieną mėnesį ir trumpiau stebėti 15 (7,4 proc.) recipientų. Tris metus stebėtas 101 recipientas. Vyrams inksto transplantacija atlikta dažniau ($n = 123$, 60,9 proc.) negu moterims ($n = 79$; 39,1 proc.). Dažniausiai recipientai turėjo I (O) 41,1 proc. ir II (A) (39,1 proc.), rečiau – III (B) 12,9 proc. ir IV (AB) 6,9 proc. kraujo grupes. Vidutinis amžius transplantacijos metu buvo 49,04 (12,63) m., jauniausiam buvo 20 m., vyriausiam – 76 m. Daugiau negu pusė (50,4 proc.) recipientų buvo vyresni negu 50 m., iš jų penktadalis (20,3 proc.) – 60 m. ir vyresni. Reikšmingo amžiaus skirtumo tarp lyčių nebuvo ($p = 0,624$). Dažniausia patologija, sukėlus 5 st. lėtinės inkstų ligos išsivystymą buvo lėtinis glomerulonefritas (38,1 proc.). Paveldima inkstų policistozė ir lėtinis pielonefritas buvo dažnesni moterų tarpe negu vyrų (20,8 proc. *plg.* 12,9 proc.) ir (13,8 proc. *plg.* 2,5 proc.). Diabetinė inkstų liga buvo diagnozuota 10,4 proc. pacientų, o rečiausia priežastis – hipertenzinė nefropatija (7,4 proc.). Įvairios kitos ligos sudarė beveik ketvirtadalį (24,3 proc.) atvejų. Cukriniu diabetu sirgo 10,9 proc. recipientų. Daugumai recipientų (79,7 proc.), buvo diagnozuota arterinė hipertenzija, šie pacientai vartojo nuo vieno (15,8 proc.) iki 5–6 hipotenzinių vaistų (11,4 proc.). Daugiau negu pusės tiriamųjų ($n = 108$; 53,5 proc.) KMI buvo didesnis negu normalus, jų tarpe 19,8 proc. ($n = 70$) atitiko nutukimo kriterijus (kai $KMI > 30 \text{ kg/m}^2$). Dauguma pacientų iki transplantacijos buvo gydomi hemodializėmis (86,1 proc.), rečiau – peritoninėmis dializėmis (10,4 proc.). Septyniems recipientams transplantacija buvo pirmasis pakaitinės inkstų terapijos būdas. Vidutiniškai dializėmis iki transplantacijos pacientai buvo gydomi 29,04 (25,6) mėn. (mediana 22 mėn.), gydymo trukmė skyrėsi nuo 1 mėn. iki 171 mėn. Ketvirtadalis (25,1 proc.) pacientų gydyti dializėmis trumpiau negu vienerius metus, o 20 pacientų (9,9 proc.) gydyti 5 metus ir ilgiau. Nuo įtraukimo į laukiančiųjų inksto transplantacijos sąrašus, pacientai inksto laukė nuo 5 d. iki 2061 d., mediana – 204 d. Per pirmuosius metus transplantacija atlikta 68,9 proc. recipientų, o ilgiau negu 3 metus laukė 13 pacientų (6,4 proc.). Didžiajai daliai pacientų (92,1 proc.) atlikta pirmoji inksto transplantacija, 7,9 proc. – pakartotinos: antroji transplantacija – 5,4 proc., trečioji – 2 proc. ir vienam recipientui (0,5 proc.) atlikta ketvirtoji operacija.

Daugiau negu trečdalis transplantacijų atlikta kai recipiento ir donoro poros nesutapimas pagal ŽLA sistemą buvo 3 antigenai (37,6 proc.). 27,2 proc. nesutapo 4 antigenai, 10,4 proc. – 5 arba 6 antigenai, 24,8 proc. – iki dviejų

antigenų. Didžiąjai daliai (94,7 proc.) recipientų paskutiniųjų metų laikotarpiu buvo nustatoma mažiau 50 proc. limfocitotoksinių antikūnų. Prieš transplantaciją dauguma recipientų buvo įvertinti kaip vidutinės imunologinės rizikos (76 proc.), lygiomis dalimis (po 12 proc.) įvertinti kaip turintys įprastą ir kaip didelę riziką. Reikšmingo skirtumo tarp lyčių vertinant imunologinę riziką nenustatyta ($p = 0,336$). Tiriamuoju laikotarpiu ankstyvoji eiga po transplantacijos buvo komplikantuota vėluojančia inksto funkcija 33,2 proc. ($n = 67$) recipientų, iš jų 38,2 proc. vyrų ir 25,3 proc. moterų, reikšmingo šios komplikacijos skirtumo pasiskirstymo tarp lyčių nebuvo ($p = 0,057$). Pacientams buvo atlikta nuo 1 iki 25 hemodializės procedūrų, mediana 3 hemodializės. Kitiems 135 pacientams dializių poreikio po transplantacijos nebuvo. Pagrindiniam (*sin.* baziniam) imunosupresiniam gydymui po transplantacijos visiems recipientams buvo skiriami trijų grupių medikamentai: metilprednizolonas, mikofenolato mofetilis ir KNI (ciklosporinas arba prailginto veikimo TAC). Daugumai pacientų buvo skirtas gydymas TAC (91,6 proc.), mažiau pacientų vartojo ciklosporiną (8,4 proc.) Tiriamuoju laikotarpiu dėl komplikacijų arba vaisto pašalinių reiškinių, vienas KNI buvo pakeistas kitu 15 (7,4 proc.) pacientų.

3.2.1 lentelė. Recipientų, kuriems atlikta inksto transplantacija demografiniai ir klinikiniai duomenys

Rodiklis	Visi recipientai (n = 202)	Vyrai (n = 123)	Moterys (n = 79)	p vertė
Amžius, m.*	49,04 (12,63) 51 (20–76)	48,51 (12,65) 51,0 (20–73)	49,80 (12,63) 51,0 (20–76)	0,568
Pagrindinė inkstų liga, proc.				0,02
Glomerulonefritas	38,1	43,4	30,0	0,054
Diabetinė inkstų liga	10,4	11,5	8,8	0,535
Policistozė	12,9	8,2	20,8	0,014
Hipertenzinė nefropatija	7,4	6,6	8,8	0,301
Pielonefritas	6,9	2,5	13,8	0,002
Kitos ligos	24,3	27,9	18,8	0,139
Cukrinis diabetas, proc.	22 (10,9)	16 (13,0)	6 (7,6)	0,228
Arterinė hipertenzija, proc.	79,7	82,9	74,7	0,155
Kūno masės indeksas, kg/m ² *	25,2 (17,2–43,1)	25,1 (17,8–43,1)	25,4 (17,2–38,1)	0,414
Pakaitinės inkstų terapijos metodas, n (proc.)				0,535
Hemodializė	174 (86,1)	106 (86,2)	68 (86,1)	
Peritoninė dializė	21 (10,4)	14 (11,4)	7 (8,9)	
Dar nepradėta	7 (3,5)	3 (2,4)	4 (5,1)	
Dializių trukmė, mėn.*	29,04 (25,6) 22,0 (1–171)	26,24 (21,99) 20,0 (1–102)	33,41 (30,06) 24,0 (1–171)	0,07

3.2.1 lentelės tęsinys

Rodiklis	Visi recipientai (n = 202)	Vyrai (n = 123)	Moterys (n = 79)	p vertė
Laukimo inkstų recipientų sąrašuose trukmė, d.*	204 (5–2061)	185 (5–2016)	224 (6–1602)	0,339
Transplantacijų skaičius, n (proc.)				0,11
1	186 (92,1)	111 (90,2)	75 (94,98)	
2	11 (5,4)	10 (8,1)	1 (1,3)	
3	4 (2,0)	2 (1,6)	2 (2,5)	
4	1 (0,5)	0	1 (1,3)	
Imunologinė rizika, proc.				0,336
Maža	12,0	14,0	8,9	
Vidutinė	76,0	76,0	75,9	
Didelė	12,0	9,9	15,2	
ŽLA nesutapimai, n (proc.)				0,302
0–2	50 (24,8)	36 (29,3)	14 (17,7)	
3	76 (37,6)	40 (32,5)	36 (45,6)	
4	55 (27,2)	34 (27,6)	21 (26,6)	
5–6	21 (10,4)	13 (10,6)	8 (10,2)	
Kalcineurino inhibitorius				0,736
Ciklosporinas, n (proc.)	17 (8,4)	8,9	7,6	
Takrolimusas, n (proc.)	185 (91,6)	91,1	92,4	

Pastaba: * – duomenys nėra pasiskirstę pagal normalųjį (Gauso) skirstinį; p vertė – reikšmingumo lygmuo. Kiekybiniai kintamieji pateikti kaip vidurkis (SN), ir medianos, (minimalios–maksimalios reikšmės. Kategoriniai kintamieji pateikti procentais

3.3. Biologinių žymenų ir klinikinių veiksnių sąsajų su vėluojančia inksto funkcija tyrimas

3.3.1. Inkstų donorų klinikinių veiksnių ir biologinių žymenų sąsajų su vėluojančia transplantuoto inksto funkcija tyrimas

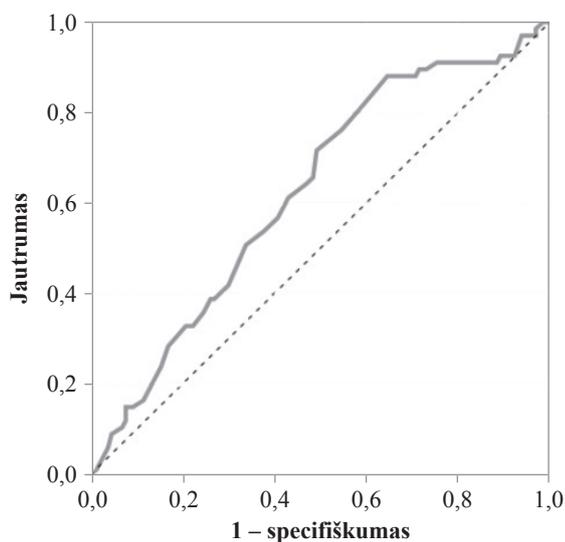
Vėluojanti inksto funkcija vertinta kaip dializių poreikis per pirmąją savaitę po inksto transplantacijos. Tiriamuoju laikotarpiu ankstyvoji eiga po transplantacijos buvo komplikauta vėluojančia inksto funkcija 33,2 proc. (n = 67) recipientų, iš jų 38,2 proc., vyrų ir 33,2 proc., moterų, reikšmingo šios komplikacijos skirtumo pasiskirstymo tarp lyčių nebuvo (p = 0,807). Šioje mokslinio tyrimo dalyje analizuotų tiriamųjų klinikinių donorų duomenų palyginamoji analizė, suskirstant į geros (kai po transplantacijos nebebuvo dializių poreikio) ir vėluojančios inkstų funkcijos grupes, pateikta 3.3.1.1 lentelėje.

3.3.1.1 lentelė. Donorų veiksmių sąsajos su vėluojančia transplantuoto inksto funkcija

Rodiklis	Gera inksto funkcija, (n = 135)	Vėluojanti inksto funkcija, (n = 67)	p vertė
Donoro amžius, m.	49,2 (16,5) 51 (2–77)	54,1 (14,1) 56 (11–74)	0,021
Serumo kreatininas, $\mu\text{mol/l}^*$	91,58 (49,69) 84 (22–332)	94,87 (49,69) 89 (40–332)	0,654
Diurezė, ml/p*	3000 (780–9500)	2800 (780–12000)	0,039
KMI, kg/m^2	26,1 (4,03)	27,47 (4,95)	0,043
Donoro įvertinimas kaip ribinis, proc.	44	61,2	0,025
KDPI, proc.	52,82 (27,62)	61,79 (24,79)	0,026
KDRI	1,099 (0,368)	1,189 (0,34)	0,051
Šaltosios išemijos trukmė, val.	14,89 (3,6) 14,4 (9,02–30)	18,53 (5,13) 18,0 (9,2–34,3)	< 0,001

Pastaba: * – duomenys nėra pasiskirstę pagal normalųjį (Gauso) skirstinį; p vertė – reikšmingumo lygmuo. Kiekybiniai kintamieji pateikti kaip vidurkis (SN), ir medianos, skliausteliuose nurodytos minimalios ir maksimalios reikšmės. Kategoriniai kintamieji pateikti procentais

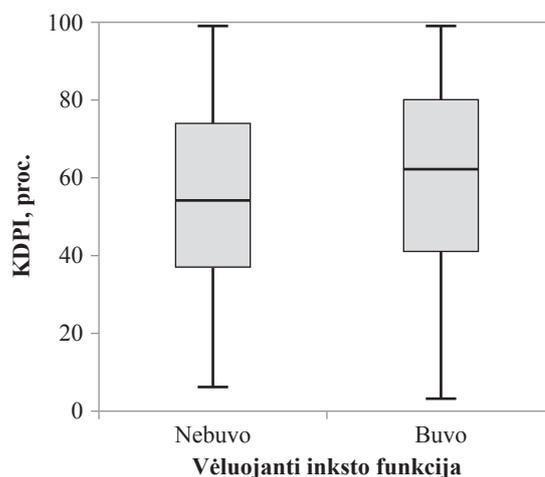
Vėluojančios inkstų funkcijos grupėje, atliktos transplantacijos iš vyresnio amžiaus donorų (54,1 (14,1) *plg.* 49,2 (16,5); $p = 0,021$). Siekiant identifikuoti slenkstinę donoro amžiaus reikšmę, atlikta ROC analizė ir nustatyta, kad ribinė vertė yra 46,5 m. (plotas po kreive – 60,0 proc., jautrumas – 80,6 proc., specifiškumas – 40 proc., $p = 0,015$). Vėluojančios inksto funkcijos grupėje 47 m. ir vyresni buvo 88,1 proc. donorų, o geros inksto funkcijos grupėje tokio amžiaus pacientų buvo mažiau – 65,9 proc. (3.3.1.1 pav.).



3.3.1.1 pav. Inkstų donoro amžiaus ROC kreivė, prognozuojant vėluojančią transplantuoto inksto funkciją

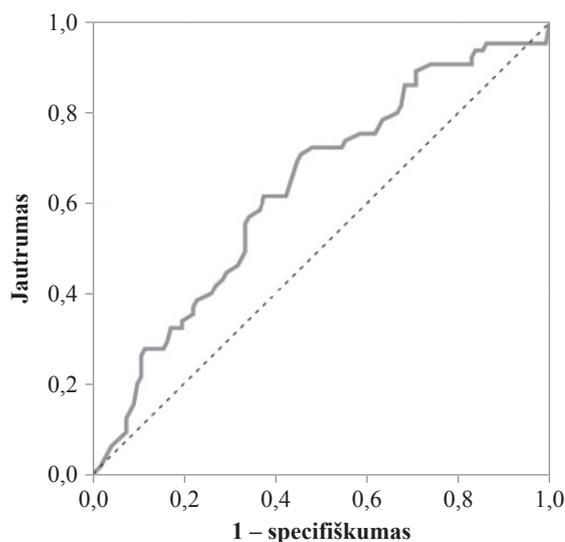
Vėluojančios inksto funkcijos grupės donorų KMI reikšmingai skyrėsi nuo geros inkstų funkcijos donorų ($27,47$ ($4,95$) kg/m^2 *plg.* $26,10$ ($4,95$) kg/m^2 ; $p = 0,043$). Atlikta ROC analizė: plotas po kreive – $59,7$ proc., jautrumas – $55,4$ pro., specifiškumas – $64,3$ proc., $p = 0,043$. Didesnis negu nustatyta ribinė vertė $29,16$ kg/m^2 KMI buvo $21,1$ proc. donorų, iš jų vėluojančios inkstų funkcijos grupėje – $30,8$ proc. ir geros inkstų funkcijos grupėje – $21,7$ proc.

Nebuvo reikšmingo skirtumo skirstant donorus pagal mirties priežastį ($p = 0,951$) ir sergamumą arterine hipertenzija ($p = 0,343$). Donorų inkstų funkciją vertinant pagal sKR, reikšmingo skirtumo tarp grupių nebuvo ($p = 0,754$). Vėluojančios inkstų funkcijos grupėje buvo mažesnė paskutinės paros diurezė (medianos 2800 ml/p *plg.* 3000 ml/p , $p = 0,039$). Vėluojančios inksto funkcijos grupėje donoriai dažniau įvertinti kaip ribiniai ($61,2$ proc. *plg.* 44 proc., $p = 0,025$), jų įvertinimo indeksai KDPI ($61,79$ ($24,79$) proc. *plg.* $52,82$ ($27,62$) proc., $p = 0,026$) ir KDRI ($1,099$ ($0,37$) *plg.* $1,89$ ($0,35$), $p = 0,029$) buvo didesni. Duomenys pateikiami 3.3.1.2 pav.



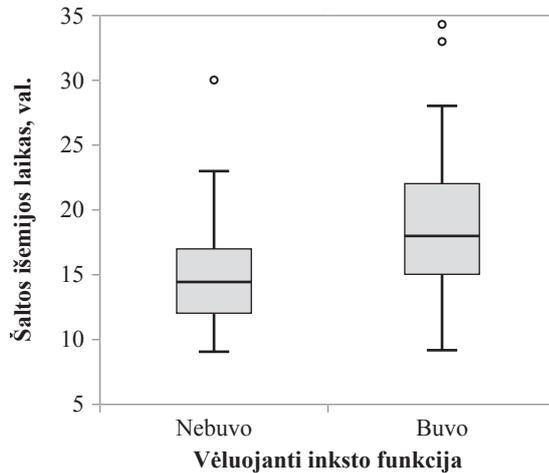
3.3.1.2 pav. Inksto donoro profilio indekso ryšys su vėluojančia transplantuoto inksto funkcija

Siekiant identifikuoti ribinę KDPI reikšmę, atlikta ROC analizė ir nustatyta, kad slenkstinis KDPI yra 52 procentai (plotas po kreive – 63,2 proc., jautrumas – 70,8 proc., specifiškumas – 54,5 proc.; $p = 0,002$). Kai po transplantacijos stebėta vėluojanti inksto funkcija, 63,2 proc. atvejų donoro KDPI buvo didesnis negu 52 proc. Didesnė, negu nustatyta KDPI ribinė reikšmė, buvo 49,3 proc. tiriamųjų, o vėluojančios inksto funkcijos grupėje – 70,1 proc. ROC kreivė pateikta 3.3.1.3 pav.

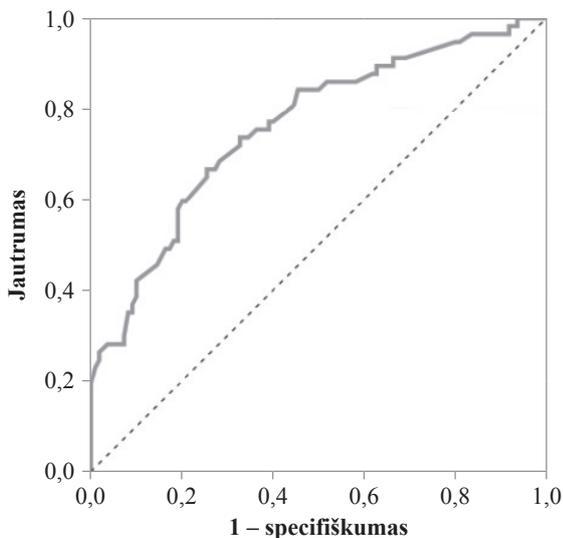


3.3.1.3 pav. Inkstų donoro profilio indekso ROC kreivė, prognozuojant vėluojančią transplantuoto inksto funkciją

Vėluojanti inksto funkcija dažniau stebėta tiems pacientams, kurių šaltosios išemijos trukmė buvo ilgesnė (18,53 (5,13) *plg.* 14,89 (3,6) val.; $p < 0,001$), 3.3.1.4 pav. Atlikta ROC analizė ir nustatyta ribinė šaltosios išemijos vertė – 16,57 val. (plotas po kreive – 76,0 proc., jautrumas – 66,7 proc., specifiškumas – 74,0 proc., $p < 0,001$). Geros inksto funkcijos grupėje 38,4 proc. pacientų viršijo nustatytą ribinę šaltosios išemijos vertę, o vėluojančios inksto funkcijos grupėje – 62,7 proc. pacientų šaltosios išemijos laikas buvo ilgesnis. Rezultatai parodyti 3.3.1.5 pav.



3.3.1.4 pav. Šaltosios išemijos laiko ryšys su vėluojančia transplantuoto inksto funkcija



3.3.1.5 pav. Šaltosios išemijos trukmės ROC kreivė, prognozuojant vėluojančią transplantuoto inksto funkciją

Į inkstų donoro biologinių žymenų ir klinikinių veiksnių sąsajų su vėluojančia transplantuoto inksto funkcija analizę įtraukti 43 inkstų donorai, kuriems buvo ištirti biologiniai žymenys ir 76 recipientai, kuriems transplantuoti šių donorų inkstai. Donorų amžiaus vidurkis 53,51 (13,33) m. 37,2 proc. buvo vyresni negu 60 m. amžiaus. Daugiau negu pusė donorų (58,1 proc.) sirgo arterine hipertenzija. Jauniausias donoras buvo 20 m., vyriausias – 74 m. Dažniausia mirties priežastimi buvo galvos smegenų kraujagyslių patologija (72,1 proc.). Į tyrimą įtrauktas vienas neplakančios širdies donoras. 53,5 proc. donorų atitiko ribinių donorų vertinimo kriterijus. Vidutinis KDPI buvo 59,14 (26,57) proc., iš jų KDPI > 85 proc. įvertinta 18,5 proc. donorų. sKr vidurkis inksto eksplantacijos dieną buvo 95,13 (39,35) $\mu\text{mol/l}$, svyravo nuo 22 $\mu\text{mol/l}$ iki 221 $\mu\text{mol/l}$, padidėjęs daugiau negu 26,5 $\mu\text{mol/l}$ virš normalaus atsižvelgiant į lytį (kas atitiktų ūminės inkstų pažaidos kriterijus) buvo 16,7 proc. moterų ir 12,0 proc. vyrų. Diurezės per paskutinąją parą mediana 3330 (2400–4000) ml. Septyniasdešimt penkiems pacientams atliktos nulinės biopsijos. Nei vienoje biopsijoje nebuvo nustatyta jokių reikšmingų inkstų kanalėlių pažeidimų, pvz. tubulito ar ūminės kanalėlių nekrozės. Vidutinis recipientų amžius buvo 46,92 (13,39) m. Vyriskos lyties recipientams dažniau (61,8 proc.) atliktos transplantacijos negu moterims. Keturiems recipientams transplantacija atlikta dar nepradėjus gydymo dializėmis. Daugumai (90,8 proc.) recipientų tai buvo pirmoji transplantacija, septyniems (9,2 proc.) – pakartotinos. Vidutinis šaltosios išemijos laikas buvo 15,63 (3,95) val. 70,9 proc. pacientų įvertinti kaip vidutinės imunologinės rizikos. Tik trims pacientams nustatyta paskutinių metų bėgyje citotoksinių antikūnų > 50 proc. ŽLA nesutapimas 0–2 antigenais buvo 35 proc., 3–5 antigenais – 64,5 proc. recipientų. 81,6 proc. atvejų įvadinei imunosupresijai paskirtai monokloniniai antikūnai. Visiems pacientams po transplantacijos skirtas standartinis gydymas MMF, KNI (takrolimuzu – 78,8 proc. arba ciklosporinu 21,1 proc.). Po transplantacijos klinikinė eiga komplikavosi vėluojančia inksto funkcija 27,6 proc. pacientų, po *pre-emptive* (*sin.* išankstinė) transplantacijų šios komplikacijos nestebėta. Nebuvo reikšmingo skirtumo tarp mirties priežasčių ($p = 0,078$), donoro lyties ($p = 0,839$), nesutapimų pagal ŽLA ($p = 0,635$), imunologinės rizikos įvertinimo ($p = 0,112$). sKr vėluojančios inkstų funkcijos grupėje prieš eksplantaciją nors ir buvo aukštesnis, bet nereikšmingai ($p = 0,511$). Po transplantacijos sKr sumažėjimas pusiau, vertinant nuo buvusio iki transplantacijos, svyravo nuo 1 iki 38 d., vėluojančios inksto funkcijos grupėje – reikšmingai lėčiau (mediana 11,5 d. (3–38 d.) *plg.* 3 d. (1–16 d.)). Pacientai, kurių pooperacinė eiga komplikavosi vėluojančia inksto funkcija, buvo reikšmingai ilgiau gydyti stacionare (18 (5,3) *plg.* 25,56 (11,3); $p < 0,001$). Šioje tyrimo dalyje tirtiems pacientams per pirmus metus po transplantacijos 10,5 proc. atlikus

inksto biopsijas patvirtintas ūminis atmetimas, reikšmingai dažniau stebėtas vėluojančios inkstų funkcijos grupėje (23,8 proc. *plg.* 5,5 proc., $p = 0,033$). sNGAL, uIL-18 ir serumo bei šlapimo CXCL10 nesiskyrė tarp vėluojančios ir geros inkstų funkcijos grupių, o tarp visų kitų žymenų šiose grupėse rasti reikšmingi žymenų kiekio skirtumai. Pagrindinių tiriamųjų klinikinių veiksnių palyginimas, atsižvelgiant į vėluojančios inksto funkcijos buvimą pateikti 3.3.1.2 lentelėje.

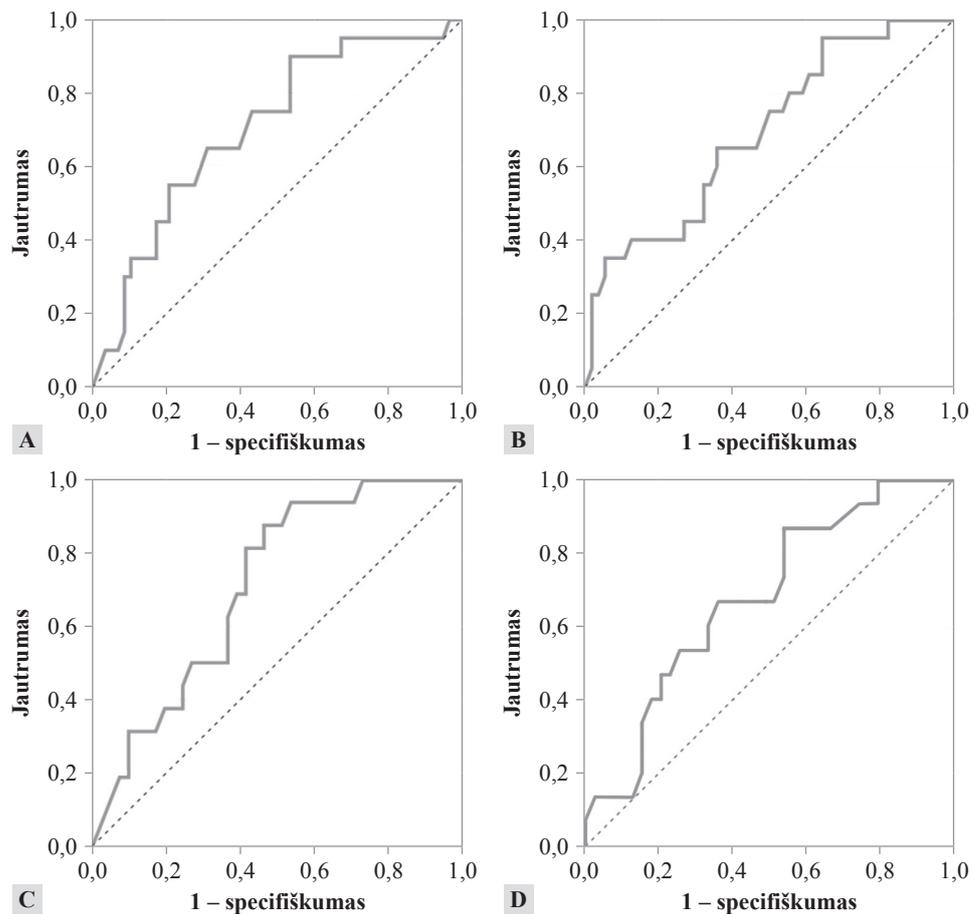
3.3.1.2 lentelė. Donorų klinikinių veiksnių ir biologinių žymenų palyginimas atsižvelgiant į vėluojančią transplantuoto inksto funkciją

Veiksnys	Gera inksto funkcija (n = 55)	Vėluojanti inksto funkcija (n = 21)	p reikšmė
Donoro amžius, m.	49,65 (14,4)	59,9 (7,0)	0,003
Ribiniai donoriai, proc.	41,8	76,2	0,007
KDPI, proc.	50,36 (26,6)	71,85 (19,8)	0,02
KDPI > 80 proc., proc.	13	45	0,018
Šalta išemija, val.	14,81 (3,34)	17,73 (4,68)	0,014
sNGAL, pg/ml	25496,1 (13583,0–42939,6)	44460,5 (15664,3–62027)	0,140
sIL-18, pg/ml	162,97 (108,18–243,3)	298,1 (160,6–380,5)	0,006
sKIM-1, ng/ml	224,8 (111,5–352,7)	283,0 (223,6–827,8)	0,010
sCXCL10, pg/ml	39,61 (29–98,9)	41,49 (29,0–134,5)	0,614
uNGAL, pg/ml	1219,1 (821,9–1219,1)	2921,7 (1208,4–5766,4)	0,047
uIL-18, pg/ml	9,7 (3,3–17,6)	14,3 (6,0–23,4)	0,25
uKIM-1, ng/ml	1,4 (0,7–3,97)	3,2 (2,4–6,5)	0,014
uCXCL10, pg/ml	31,1 (19,4–49,8)	27,1 (19,6–107,1)	0,774

Nustatytos biologinių žymenų prognozinės reikšmės vėluojančios inksto funkcijos atsiradimui ir jų ribinės vertės atliekant ROC kreivių analizę. Rezultatai pateikti 3.3.1.3 lentelėje ir 3.3.1.6 pav.

3.3.1.3 lentelė. Donorų biologinių žymenų ir jų ribinių verčių ROC kreivių rezultatai prognozuojant vėluojančią transplantuoto inksto funkciją

Biologinio žymens pavadinimas	Plotas po ROC kreive (95 proc. PI)	p reikšmė	Jautrumas ir specifiškumas, proc.	Apskaičiuotos žymens ribinės vertės, pg/ml	Žymens ribinės vertės, GS (95 proc. PI)
sIL-18	0,706 (0,577–0,835)	0,002	90 46,6	147,3	3,462 (1,665–36,906)
sKIM	0,694 (0,562–0,826)	0,004	95 35,71	161,3	10,0 (1,246–80,245)
uKIM-1	0,710 (0,574–0,846)	0,002	93,8 53,7	1,2	9,5 (1,158–77,908)
uNGAL	0,717 (0,5914–0,8217)	0,001	87,5 53,1	1161,3	7,913 (1,623–38,352)



3.3.1.6 pav. Donorų biologinių žymenų ROC kreivės, prognozuojant vėluojančią transplantuoto inksto funkciją: (A) sIL-18, (B) sKIM-1, (C) uKIM-1, (D) uNGAL

Atlikta vienaveiksmė ir daugiaveiksmė logistinė regresija vėluojančios inkstų funkcijos prognozavimui ir nustatyti potencialūs donoro rizikos veiksniai, prognozuojantys vėluojančios transplantuoto inksto funkcijos galimybę. Vienaveiksmė logistinė regresinė analizė parodė, kad donoro amžius, donoro atitikimas ribinio donoro kriterijus, KDPI, šaltosios išemijos laikas ir serumo bei šlapimo KIM-1 ir sIL-18 buvo reikšmingai susiję su vėluojančia inksto funkcija. Nenustatyta statistiškai reikšmingo ($p = 0,087$) ryšio tarp uNGAL ir šios komplikacijos. Daugiaveiksmė logistinės regresijos analizė parodė, kad geriausiai tinkantis modelis, kuris gali būti naudingas transplantuoto inksto funkcijos prognozavimui ankstyvuoju laikotarpiu po operacijos, yra sudarytas iš donoro įvertinimo (ar tai ribinių, ar standartinių kriterijų donoras), šaltosios išemijos trukmės ir dviejų biologinių žymenų – sIL-18 ir uKIM-1. Į

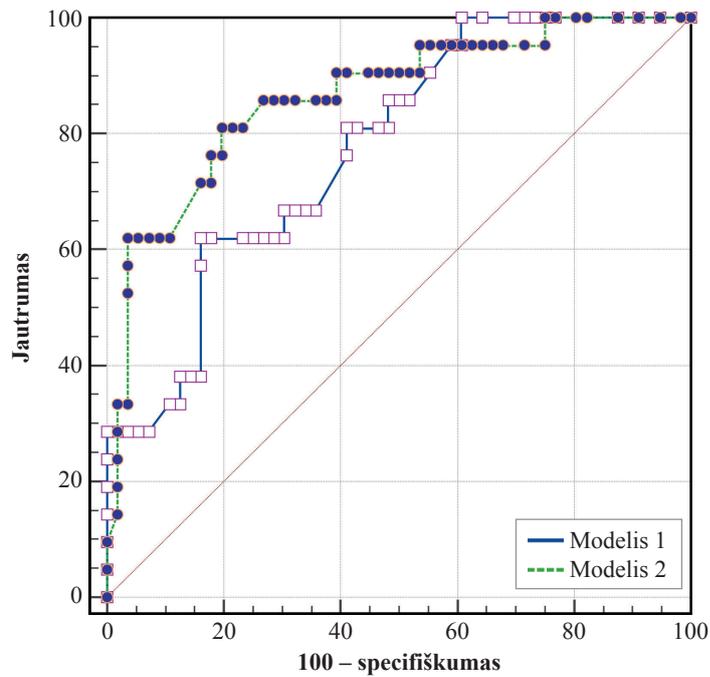
šio modelį sudarymą neįtrauktas KDPI dėl multikolinearumo su donoro vertinimu kriterijais. Modelio Nagelkerke $R_2 = 0,363$, bendras prognozavimo procentas 74,7 proc. Duomenys pateikti 3.3.1.4 lentelėje.

3.3.1.4 lentelė. *Vienaveiksmė ir daugiaveiksmė logistinės regresijos analizė, prognozuojant donorų veiksmų sąsajas su vėluojančia transplantuoto inksto funkcija*

	Vienaveiksmė				Daugiaveiksmė			
	β koeficientas	GS	95 proc. PI	p reikšmė	β koeficientas	GS	95 proc. PI	p reikšmė
Donoro amžius, m.	0,77	1,080	1,022–1,141	0,006				
Ribiniai donorai	1,583	4,87	1,567–15,13	0,006	2,204	9,016	2,04–40,23	0,004
Šaltos išemijos trukmė, val.	0,193	1,213	1,062–1,385	0,004	0,278	1,320	1,074–1,624	0,008
DKPI, proc.	0,036	1,037	1,012–1,062	0,004				
sIL-18 *	2,951	19,127	1,99–183,44	0,011	1,998	0,136	0,022–0,824	0,030
sKIM*	2,541	12,698	2,08–77,36	0,006				
sNGAL *	0,813	2,254	0,633–8,02	0,210				
uIL-18 *	1,007	2,737	0,657–11,407	0,167				
uKIM-1*	2,644	14,703	1,505–131,57	0,020	2,50	12,178	1,226–12,097	0,033
uNGAL *	1,219	3,382	0,948–12,062	0,060				
uCXCL10*	0,697	2,008	0,293–13,748	0,478				

* – atlikta logaritminė biologinių žymenų transformacija.

Siekiant įvertinti modelio prognozinį veiksmingumą, atlikta jo ROC kreivės analizė. Modelio plotas po kreive buvo 0,863 (95 proc. PI: 0,651–0,856; $p = 0,006$). Analogiško modelio, bet be biologinių žymenų, sudarytos tik tų pačių klinikinius duomenų, plotas po kreive buvo 0,765 (95 proc. PI: 0,766–0,930, $p < 0,0001$), ir jo prognozinė vėluojančios inksto funkcijos reikšmė buvo mažesnė lyginant su modeliu, į kurį buvo įtraukti uKIM-1 ir sIL-18 (skirtumas tarp plotų po kreivėmis 0,0872; (95 proc. PI: 0,00731–0,16) $p = 0,0324$; DeLong testas) (3.3.1.7 pav.).



3.3.1.7 pav. Vėluojančios inkstų funkcijos prognozinė modelių palyginimas

Modelis 1: donoro įvertinimas ar ribinis, ar standartinių kriterijų, šaltosios išemijos laikas; Modelis 2: donoro įvertinimas ar ribinis, ar standartinių kriterijų, šaltosios išemijos laikas, uKIM-1, sIL-18.

sKIM-1, uKIM-1, sIL-18 ir uIL-18 kiekiai reikšmingai koreliavo su transplantuoto inksto funkcijos gerėjimu, vertintu kaip kreatinino sumažėjimas per pusę palyginti su buvusiu prieš transplantaciją (sKIM-1 $r = 0,466$, $p < 0,001$, uKIM-1 $r = 0,400$, $p = 0,002$, sIL-18 $r = 0,237$, $p = 0,016$, uIL-18 $r = 0,272$, $p = 0,029$).

3.3.2. Recipientų biologinių žymenų ir klinikinių duomenų sąsajų su vėluojančia transplantuoto inksto funkcija tyrimas

Šioje mokslinio darbo dalyje išanalizuoti 171 recipientų, kuriams po transplantacijos per pirmąją parą buvo iširti biologiniai žymenys, duomenys. Tiriamuoju laikotarpiu ankstyvoji eiga po transplantacijos šioje grupėje buvo komplikauta vėluojančia inksto funkcija 33,9 proc. ($n = 58$) recipientų, iš jų 36,8 proc., vyrų ir 29,2 proc., moterų, reikšmingo šios komplikacijos skirtumo pasiskirstymo tarp lyčių nebuvo ($p = 0,057$). Šioje mokslinio darbo dalyje analizuotų tiriamųjų klinikinių donorų ir recipientų duomenų palyginamoji analizė, suskirstant į geros (kai po transplantacijos nebebuvo dializės poreikio) ir vėluojančios inkstų funkcijos grupes, pateikta 3.3.2.1 lentelėje.

3.3.2.1 lentelė. Recipientų klinikinių veiksnių palyginimas, atsižvelgiant į vėluojančią transplantuoto inksto funkciją

Rodiklis	Gera inksto funkcija (n = 113)	Vėluojanti inksto funkcija (n = 58)	p vertė
Šaltos išemijos trukmė, val.	14,89 (3,6) 14,4 (9,02–30)	18,53 (5,13) 18,0 (9,2–34,3)	< 0,001
Amžius, m.	49,39 (12,676) 501 (20–76)	48,83 (12,11) 52 (20–73)	0,966
Dializių trukmė, mėn.*	27,13 (25,5) 21 (1–171)	32,19 (25,4) 25,5 (3–134)	0,044
Laukimo transplantacijos trukmė, d.*	181,0 (6–1721)	235,5 (5–2061)	0,046
Recipiento KMI, kg/m ²	25,93 (4,66)	26,16 (4,63)	0,481
Cukrinis diabetas, proc.	9,7	10,3	0,90
Arterinė hipertenzija, proc.	82,3	75,9	0,318
Pakartotina transplantacija, proc.	4,5	10,3	0,034
Vidutinė arba didelė imunologinė rizika, proc.	85,8	96,6	0,031
Įvadinė imunosupresija antikūnais, proc.			0,748
• Nebuvo	9,4	5,6	
• Basiliximabas	90,1	92,6	
ATG skyrimas	0,6	1,9	

Pastaba: * – duomenys nėra pasiskirstę pagal normalųjį (Gauso) skirstinį, p vertė – reikšmingumo lygmuo. Kiekybiniai kintamieji pateikti kaip vidurkis (SN), ir medianos, skliausteliuose nurodytos minimalios ir maksimalios reikšmės. Kategoriniai kintamieji pateikti procentais. ATG – antitimocitinis globulinas KMI – kūno masės indeksas

Palyginti recipientų veiksnių skirtumai pagal ankstyvąją inkstų funkciją. Tiriant pasiskirstymą pagal recipientų amžių ($p = 0,966$), lytį ($p = 0,311$), KMI ($p = 0,484$), sergamumą cukriniu diabetu ($p = 0,90$), arterine hipertenzija ($p = 0,3182$), ŽLA nesutapimą ($p = 0,766$), reikšmingo skirtumo nenustatyta. Keturi arba penki ŽLA nesutapimai vėluojančios inksto funkcijos grupėje buvo 39,7 proc. ($n = 23$) pacientų. Limfocitotoksinių antikūnų titrai per paskutinius metus iki transplantacijos reikšmingai nesiskyrė ($p = 0,124$). Nors vėluojančios inksto funkcijos grupėse buvo reikšmingai daugiau vidutinės arba didelės imunologinės rizikos pacientų ($p = 0,031$), bet nesiskyrė pradinis (*sin.* įvadinis) imunosupresinis gydymas ($p = 0,748$). Tai galima paaiškinti, kad COVID-19 pandemijos laikotarpiu buvo rečiau skiriamas antitimocitinis globulinas. Nors viso pakaitinio inkstų gydymo (apimančio ir dializes, ir ankstesnes inkstų transplantacijas) trukmė vėluojančios inksto funkcijos grupėje buvo ilgesnė (medianos 27 mėn. (3–327) *plg.* 22 mėn. (0,5–365)), bet skirtumas nebuvo reikšmingas ($p = 0,64$). Vėluojančios inkstų funkcijos

grupėje pacientai buvo ilgiau gydomi dializėmis (medianos 25,5 mėn. (3–134 mėn.) *p/g.* 21 mėn. (1–171 mėn., $p = 0,044$) ir ilgiau laukė inksto transplantacijos ($p = 0,046$). Atlikę ROC analizę nustatėme, kad ribinė hemodializių trukmė yra $> 29,5$ mėn. (plotas po kreive – 59,5 proc., jautrumas – 42,8 proc., specifiškumas – 72,7 proc.).

Recipientų biologinių žymenų analizė. Biologinių žymenų koncentracijų nustatymui recipientų kraujo ir šlapimo mėginiai per pirmąją parą po transplantacijos buvo tiriami du kartus: po 6 val. ir po 12 val. po transplantuoto inksto kraujotakos atnaujinimo. Biologinių žymenų skirtumai geros ir vėluojančios inkstų funkcijos grupėse pateikti lentelėje. Gautas reikšmingas skirtumas tarp serumo NGAL ($p = 0,006$) ir KIM-1 ($p = 0,022$) bei šlapimo NGAL ($p = 0,03$) tiriant pirmuosius mėginius po transplantacijos tarp pacientų, kuriems eiga komplikavosi vėluojančia inksto funkcija ir kuriems dializių poreikio nebuvo. Kartotiniai tiriant biologinius žymenis, išliko reikšmingas sNGAL koncentracijų skirtumas ($p = 0,041$). Nustatytas reikšmingas skirtumas tarp grupėse analizuotų žymenų šlapimo mėginiuose: NGAL ($p = 0,013$), KIM-1 ($p = 0,024$), IL-18 ($p = 0,029$) ir CXCL9 ($p = 0,048$). Kitų tirtų biologinių žymenų reikšmingų skirtumų grupėse nenustatyta.

3.3.2.2 lentelė. Recipientų biologinių žymenų pirmos paros verčių palyginimas atsižvelgiant į vėluojančią transplantuoto inksto funkciją

Rodiklis	Gera inksto funkcija	Vėluojanti inksto funkcija	p vertė
6 val. po transplantacijos			
sNGAL, pg/ml	39480 (20577–55707)	54825 (40116–81723)	0,006
sKIM-1, pg/ml	252,8 (186,9–386,7)	295,5 (209,7–553,9)	0,022
sIL-18, pg/ml	211,03 (124,4–304,0)	179,7 (131,1–251,8)	0,263
sCXCL10, pg/ml	29 (20,6–41,9)	29 (21,9–89,1)	0,262
uNGAL, pg/ml	5121,1 (2892–10445,1)	10311 (4708,9–18410,5)	0,030
uKIM-1, pg/ml	1,21 (0,57–2,14)	1,24 (0,51–2,79)	0,953
uIL-18, pg/ml	13,19 (5,2–30,5)	26,69 (3,52–45,8)	0,516
uCXCL10, pg/ml	26,49 (15,66–52,4)	21,21 (14,058–40,43)	0,544

3.3.2.2 lentelės tęsinys

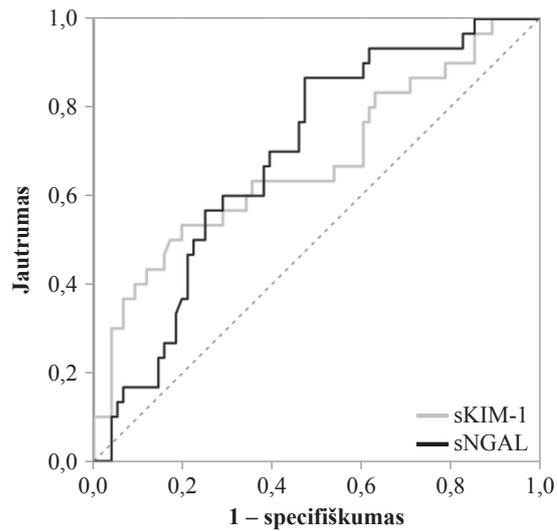
Rodiklis	Gera inksto funkcija	Vėluojanti inksto funkcija	p vertė
<i>12 val. po transplantacijos</i>			
sNGAL, pg/ml	36091 (20043–50494)	46379 (33007,5–65496,1)	0,041
sKIM-1, pg/ml	268,7 (201,5–427,0)	258,2 (201,1–345,69)	0,325
sIL-18, pg/ml	201,7 (125,61–296,71)	166,34 (123,89–235,98)	0,229
sCXCL10, pg/ml	29 (23,9–47,3)	29 (24,7–271,2)	0,178
uNGAL, pg/ml	4730,8 (3599,1–9410)	8665,9 (5233,1–17285)	0,013
uKIM-1, ng/ml	1,65 (1,05–2,42)	2,32 (1,22–2,74)	0,024
uIL-18, pg/ml	2,56 (0,99–8,4)	7,0 (2,1–9,3)	0,029
uCXCL9, pg/ml	2239,5 (1197,6–5704,4)	4573,7 (1772,4–8791,8)	0,048
uCXCL10, pg/ml	35,49 (19,64–64,07)	42,66 (22,13–121,89)	0,232

Pastaba: biologinių žymenų duomenys nėra pasiskirstę pagal normalųjį (Gauso) skirstinį. Reikšmės pateiktos kaip medianos, skliausteliuose nurodyti apatinis ir viršutinis kvartilai.

Biologinių žymenų, kurių koncentracijos reikšmingi skyresni analizuotose grupėse, atlikta ROC analizė prognozei vėluojančios inkstų funkcijos reikšmei įvertinti ir nustatytos ribinės reikšmės. Duomenys pateikti 3.3.2.3 lentelėje ir 3.3.2.1–3.3.2.5 pav.

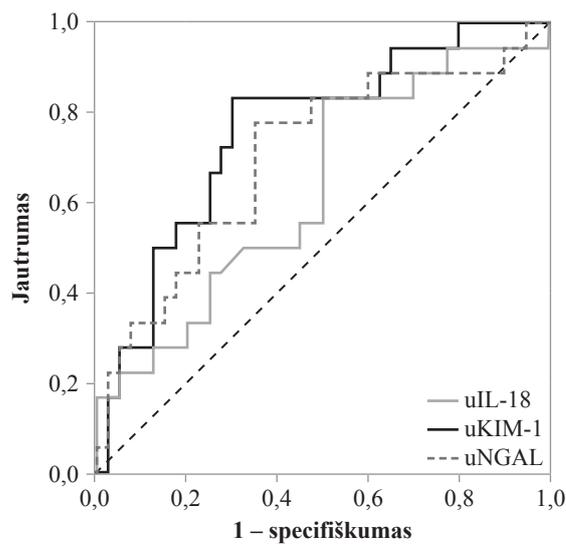
3.3.2.3 lentelė. Recipientų biologinių žymenų prognozinė reikšmė vėluojančiai inkstų funkcijai

Biologinio žymens pavadinimas/ Ribinė reikšmė	Plotas po ROC kreive (proc.)	Jautrumas/ Specifiškumas (proc.)	p reikšmė
sKIM-1, 6 val., 467,94 pg/ml	66,4	56,0 81,0	< 0,001
sNGAL, 6 val., 41783 pg/ml	69,8	81,6 54,9	< 0,001
uNGAL, 6 val., 6834,7 pg/ml	66,3	65,0 64,5	< 0,019
sNGAL, 12 val., 32341 pg/ml	74,8	66,7 79,6	0,009
uKIM-1, 12 val., 1,963 ng/ml	65,1	69,0 62,9	0,015
uNGAL, 12 val., 4831 pg/ml	68,4	82,6 55,2	0,005
uIL18, 12 val., 3,9905 pg/ml	65,2	64,9 63,9	0,023
uCXCL9 3565,3, 12 val.	62,0	60,6 64,5	0,039



3.3.2.1 pav. ROC kreivės pagal po šešių valandų po transplantacijos serume iširtus KIM-1 ir NGAL, prognozuojant vėluojančią transplantuoto inksto funkciją

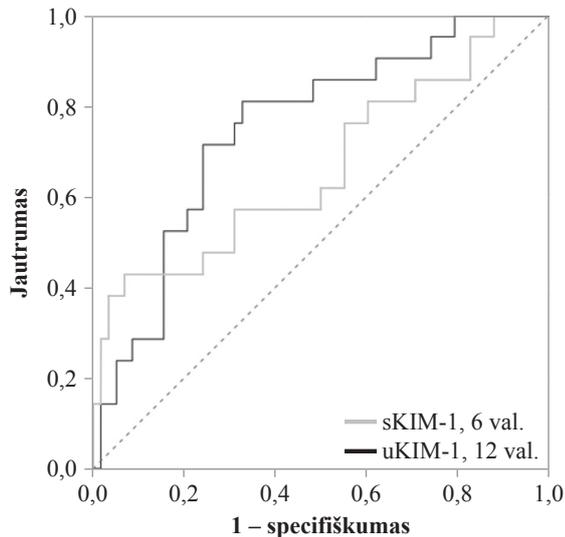
Palygintos tarpusavyje kraujo biologinių žymenų KIM-1 ir NGAL iširtų 6 val. po transplantacijos ROC kreivės DeLong testu, reikšmingo prognozinio skirtumo tarp jų nenumatyta, skirtumas tarp plotų po kreivėmis – 0,0241; $p = 0,7857$.



3.3.2.2 pav. ROC kreivės pagal 12 valandų po transplantacijos šlapime iširtus KIM-1, IL-18 ir NGAL, prognozuojant vėluojančią transplantuoto inksto funkciją

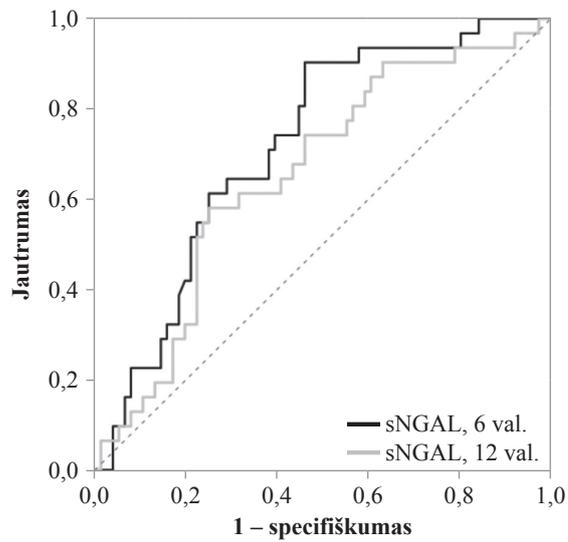
Palygintos 12 val. po transplantacijos ištirtų biologinių žymenų šlapime KIM-1, NGAL ir IL-18 ROC kreivės tarpusavyje DeLong testu, reikšmingo skirtumo tarp jų nusta­tyta. Plotų skirtumas tarp KIM-1 ir NGAL – 0,0346, $p = 0,7462$, tarp KIM-1 ir IL-18 plotų po kreivėmis 0,104; $p = 0,2953$, skirtu­mas tarp NGAL ir IL-18 ROC kreivių – 0,0691, $p = 0,5451$.

Vertinant pirmą parą po transplantacijos ištirtų serumo ir šlapime KIM-1 prognozinę reikšmę vėluojančiai inkstų funkcijai, palygintos tarpusavyje žymenų ROC kreivės, reikšmingo skirtumo nusta­tyta. Plotų skirtumas – 0,0815 $p = 0,3891$ (3.3.2.3 pav.).



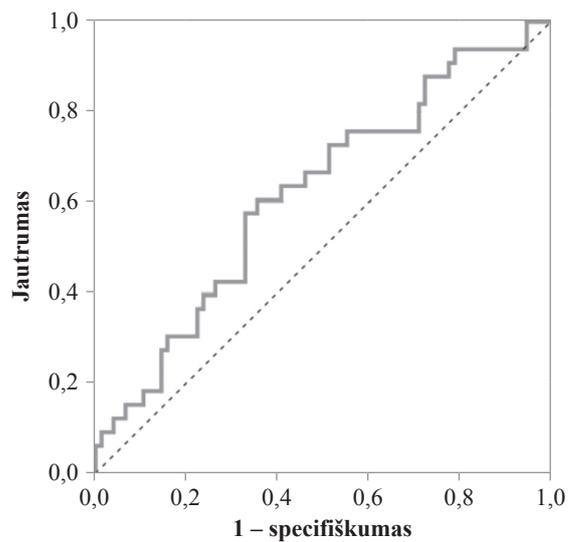
3.3.2.3 pav. KIM-1 serume ir šlapime ROC kreivės, prognozuojant vėluojančią transplantuoto inksto funkciją

Palyginus serumo NGAL, paimto skirtingomis valandomis per pirmąją parą po operacijos ROC kreives tarpusavyje, reikšmingo plotų po kreivėmis skirtumo Delong testu nusta­tyta – 0,853, $p = 0,0537$ (3.3.2.4 pav.).



3.3.2.4 pav. *Serumo NGAL ROC kreivės, prognozuojant vėluojančią transplantuoto inksto funkciją*

ROC analizėje nustatyta chemokino CXCL9 prognozinė reikšmė vėluojančios inkstų funkcijos išsivystymui: plotas po kreive – 62 proc., jautrumas – 60,6 proc., specifiskumas – 64,5 proc., $p = 0,039$ (3.3.2.5 pav.).



3.3.2.5 pav. *12 valandų po transplantacijos CXCL9 šlapime ROC kreivė, prognozuojant vėluojančią transplantuoto inksto funkciją*

Remiantis dvinare logistine regresine analize, nustatyti potencialūs recipiento su transplantacija susiję rizikos veiksniai, prognozuojantys vėluojančios transplantuoto inksto funkcijos tikimybę. Iš iki transplantacijos žinomų klinikinių pacientų duomenų, didžiausią prognozinę vertę turėjo šaltosios išemijos trukmė ir donoro amžius. Jeigu šaltosios išemijos trukmė ilgesnė negu 16,57 val., nustatytas galimybių santykis (GS), kad eiga komplikuosis vėluojančia inksto funkcija yra 4,135 didesnis (95 proc. PI: 2,226–7,683; $p < 0,001$). Jeigu transplantuotas vyresnio nei 47 m. amžiaus donoro inkstas, GS 2,769 didesnis (95 proc. PI: 1,38–5,557; $p = 0,004$), kad bus vėluojanti transplantuoto inksto funkcija. KDPI aukštesnis negu 52 proc. šiek tiek mažiau negu donoro amžius didino galimybių santykį vėluojančiai inkstų funkcijai – 2,489 (95 proc. PI: 1,327–4,6710; $p = 0,005$), bet daugiau negu ribinių kriterijų donoro atitikimas 1,971 didesnis (95 proc. PI: 1,085–3,582; $p = 0,026$). Nustatyta, kad biologinių žymenų grupėje daugiausiai galimybių santykį didino didesnės už nustatytas ribines KIM-1 vertės: po 6 val. serume 3,855 (95 proc. PI: 1,690–8,794; $p < 0,001$), šlapime 3,426 (95 proc. PI: 1,690–8,794; $p = 0,010$). 6 val. po transplantacijos serumo NGAL labiau didino vėluojančios inkstų funkcijos GS negu šlapimo NGAL – 3,474 (95 proc. PI: 1,492–8,093; $p = 0,004$), *p/g.* 2,533 (95 proc. PI: 1,492–8,093; $p = 0,046$) ir sNGAL po 12 val. – 2,826 (95 proc. PI: 1,205–6,63; $p = 0,017$). Po 12 val. po transplantacijos šlapime ištirtos didesnės negu ribinės IL-18, CXCL9 reikšmės didino GS vėluojančiai inksto funkcijai atitinkamai 3,216 (95 proc. PI: 1,158–6,811; $p = 0,020$) ir 2,315 (95 proc. PI: 1,003–5,188; $p = 0,042$). Duomenys pateikti 3.3.2.4 lentelėje

3.3.2.4 lentelė. Donorų klinikinių veiksnių ir recipientų biologinių žymenų vienaveiksmė dvinarė logistinė regresinė analizė, prognozuojanti vėluojančių transplantuoto inksto funkciją

Veiksny	GS (95 proc. PI)	p vertė
Donoro amžius, > 47 m.	2,769 (1,38–5,557)	0,004
Donoro KMI > 26,43 kg/m ²	2,240 (1,220–4,112)	0,009
Donoro įvertinimas kaip ribinis	1,971 (1,085–3,582)	0,026
KDPI > 52 proc.	2,489 (1,327–4,670)	0,005
Šaltosios išemijos trukmė > 16,58 val.	4,135 (2,226–7,683)	< 0,001
Gydymo dializėmis trukmė > 29,5 mėn.	1,985 (1,063–3,705)	0,031
Pakartotina transplantacija	0,339 (0,121–0,955)	0,041
sKIM-1 > 467,94 pg/ml, 6 val.	3,855 (1,690–8,794)	0,001
sNGAL > 41783 pg/ml, 6 val.	3,474 (1,492–8,093)	0,004
uNGAL > 6834,7 pg/ml, 6 val.	2,533 (1,016–6,314)	0,046
sNGAL > 4831,5 pg/ml, 12 val.	2,826 (1,205–6,631)	0,017

3.3.2.4 lentelės tęsinys

Veiksny	GS (95 proc. PI)	p vertė
uKIM-1 > 1,963 ng/ml, 12 val.	3,426 (1,339–8,767)	0,010
uNGAL > 32341 pg/ml, 12 val.	2,826 (1,205–6,630)	0,017
uIL-18 > 3,99 pg/ml, 12 val.	3,216 (1,158–6,811)	0,020
uCXCL9 > 3565,5 pg/ml, 12 val.	2,315 (1,003–5,188]	0,042

Sudaryti modeliai, prognozuojantys vėluojančią transplantuoto inksto funkciją pagal iki transplantacijos žinomus donoro ir recipiento veiksnius, į juos pridėdant per pirmąją parą ankstyvos inkstų funkcijos grupėse reikšmingai besiskyrusias biologinius žymenų vertes. Siekiant išvengti modelio regresorių multikolineariškumo, atlikta veiksmių, vienaveiksmėje logistinėje regresijoje prognozuojančių vėluojančią inksto funkciją koreliacinė analizė. Donoro amžius yra vienas iš ribinio donoro vertinimo kriterijų. KDPI formulės sudėtinės dalys yra donoro amžius, ūgis, svoris, taip pat ribinio donoro vertinimui naudojama mirties priežastis, todėl šie veiksniai stipriai koreliavo vieni su kitais. NGAL po 6 val. koreliavo su vėlesnio tyrimo reikšmėmis, todėl buvo sudaryti atskiri prognoziniai modeliai su skirtingu laiku tirtais biologiniais žymenimis.

Sudaryti daugiaveiksmės logistinės regresijos analizės modeliai prognozuojantys vėluojančią transplantuoto inksto funkciją, įtraukiant vienaveiksmėje logistinėje regresinėje analizėje reikšmingus veiksnius. Dėl regresorių multikolineariškumo ieškota modelių atskirai į juos įtraukiant svarbius kliniškinius kriterijus: arba donoro amžių, arba donoro vertinimą kaip ribinį ir arba KDPI.

Sudarytas galutinis daugiaveiksmės dvinarės regresinės analizės modelis reikšmingai prognozuojantis vėluojančią transplantuoto inksto funkciją įtraukiant donoro amžių ir 6 val. po transplantacijos ištirtus serumo ir šlapimo žymenis (Nagelkerke $R_2 = 0,439$, bendras prognozavimo procentas **76,1 proc.**, *modelis – I*). Įvertinus sąsajas tarp dializių trukmės, donoro KMI, serumo žymenų slenkstinių verčių, pakartotinės inksto transplantacijos buvimo reikšmingais veiksniais išliko: **donoro amžius > 47 m.**, **šaltosios išemijos trukmė > 16,57 val.**, **sKIM-1 > 467,94 pg/ml**, **uNGAL > 6834,7 pg/ml**. Galutinis modelis pateiktas 3.3.2.5 lentelėje.

3.3.2.5 lentelė. Daugiaveiksmės dvinarės logistinės regresinės analizės modelis, prognozuojantis vėluojančią transplantuoto inksto funkciją pagal donorų klinikinius veiksnius ir recipientų 6 val. po operacijos ištirtus serumo ir šlapimo biologinius žymenis (modelis – 1)

Veiksny	Galimybių santykis (95 proc. PI)	p vertė
Donoro amžius < 47 m. > 47 m.	1 7,353 (1,465–36,922)	0,015
Šaltosios išemijos trukmė < 16,57 val. > 16,57 val.	1 4,485 (1,122–17,938)	0,034
uNGAL, 6 val. < 6834,7 pg/ml > 6834,7 pg/ml	1 6,632 (1,926–38,678)	0,005
sKIM-1, 6 val. < 467,94 pg/ml > 467,94 pg/ml	1 6,226 (1,481–26,168)	0,013
Konstanta	-4,316	< 0,001

Sudarytas galutinis daugiaveiksmės regresinės analizės modelis, reikšmingai prognozuojantis vėluojančią transplantuoto inksto funkciją atskirai tik su serumo žymenimis (Nagelkerke $R_2 = 0,468$, bendras prognozavimo procentas **76,8 proc.**, modelis – 2). Įvertinus sąsajas tarp dializių trukmės, donoro KMI, serumo žymenų ribinių verčių, pakartotinės inksto transplantacijos buvimo reikšmingais veiksniais išliko: **donoro amžius > 47 m., šaltosios išemijos trukmė > 16,57 val., sKIM-1 > 467,94 pg/ml, sNGAL > 6834,7 pg/ml**, modelis pateiktas 3.3.2.6 lentelėje.

3.3.2.6 lentelė. Daugiaveiksmės dvinarės logistinės regresinės analizės modelis, prognozuojantis vėluojančią transplantuoto inksto funkciją pagal donorų klinikinius veiksnius ir recipientų serumo biologinius žymenis 6 val. po transplantacijos (modelis – 2)

Veiksny	Galimybių santykis (95 proc. PI)	p vertė
Donoro amžius < 47 m. > 47 m.	1 5,708 (1,525–21,366)	0,010
Šaltosios išemijos trukmė < 16,57 val. > 16,57 val.	1 4,982 (1,655–14,995)	0,004
sNGAL, 6 val. < 41783 pg/ml > 41783 pg/ml	1 4,887 (1,359–17,573)	0,015

3.3.2.6 lentelės tęsinys

Veiksny	Galimybių santykis (95 proc. PI)	p vertė
sKIM-1, 6 val. < 467,94 pg/ml > 467,94 pg/ml	1 3,968 (1,287–12,235)	0,016
Konstanta	–4,316	p < 0,001

Modelyje donoro amžių ir KMI pakeitus KDPI, sKIM ir uNGAL išliko reikšmingi, atitinkamai GS 4,115 (95 proc. PI: 1,482–11,421; p = 0,007) ir GS 3,035 (95 proc. PI: 1,053–8,742; p = 0,040), modelio (Nagelkerke R₂ = 0,341, bendras prognozavimo procentas – **75,0 proc.** modelis – 3). Modelyje donoro amžių pakeitus donoro įvertinimu kaip ribiniu, sKIM ir uNGAL ir šaltoji išemija išliko reikšmingi, atitinkamai GS 4,964 (95 proc. PI: 1,492–16,519; p = 0,003) ir GS 4,831 (95 proc. PI: 1,687–13,883,519; p = 0,009), ir GS 4,611 (95 proc. PI: 1,663–12,787; p = 0,034); modelio (Nagelkerke R₂ = 0,363, bendras prognozavimo procentas **74,7 proc.**, modelis – 4). Sudarytas modelis iš 6 val. po transplantacijos tirtu šlapimo NGAL ir tų pačių klinikinių duomenų. Galutiniame modelyje reikšmingai vėluojančios inkstų funkcijos galimybių santykį didinantys išliko donoro amžius > 47 m., šaltosios išemijos trukmė > 16,57 val. ir nustatyta didesnė už ribinę šlapimo NGAL > 6834,7 pg/ml vertė. Modelio Nagelkerke R₂ = 0,317, bendras prognozavimo procentas **79,4 proc.**, modelis – 5. Duomenys pateikti 3.3.2.7 lentelėje.

3.3.2.7 lentelė. Daugiaveiksmės dvinarės logistinės regresinės analizės modelis, prognozuojantis vėluojančią transplantuoto inksto funkciją pagal donorų klinikinius veiksnius ir recipientų šlapimo NGAL 6 val. po transplantacijos (modelis – 5)

Veiksny	Galimybių santykis (95 proc. PI)	p vertė
Donoro amžius < 47 m. > 47 m.	1 6,61 (1,693–25,804)	0,007
Šaltosios išemijos trukmė < 16,57 val. > 16,57 val.	1 3,740 (1,279–10,935)	0,016
uNGAL, 6 val. < 6834,7 ng/ml > 6834,7 ng/ml	1 3,872 (1,245–12,043)	0,019
Gydymo dializėmis trukmė < 29,5 mėn. > 29,5 mėn.	1 2,753 (0,864–8,772)	0,087
Konstanta	–3,747	< 0,001

Apibendrinant, tiriant žymenis 6 val. po transplantacijos, nustatytos reikšmingos sKIM-1, sNGAL ir uNGAL sąsajos su vėluojančia inksto funkcija, kurios išliko reikšmingos atsižvelgiant į modeliuose keičiamus pasirinktus klinikinius veiksnius – donoro amžių, arba KDPI, arba donoro įvertinimą kaip ribinį. Didžiausią prognozinę vertę turėjo modelis su klinikiniais veiksniais ir uNGAL 6 val. po transplantacijos.

Sudarytas reikšmingas modelis su serumo **NGAL po 12 val.**, įtraukiant reikšmingus klinikinius duomenimis (gydymo dializėmis trukmę, šaltosios išemijos laiką, donoro amžių, KMI, transplantacijų skaičių). Modelio Nagelkerke $R_2 = 0,301$, bendras prognozavimo procentas **76,5 proc.**, *modelis – 6*. Duomenys pateikti 3.3.2.8 lentelėje.

3.3.2.8 lentelė. *Daugiaveiksmės dvinarės logistinės regresinės analizės modelis, prognozuojantis vėluojančią transplantuoto inksto funkciją pagal donoro klinikinius veiksnius ir recipientų serumo NGAL 12 val. po transplantacijos (modelis – 6)*

Veiksnys	Galimybių santykis (95 proc. PI)	p vertė
Donoro amžius < 47 m. > 47 m.	1 2,88 (1,028–7,028,804)	0,044
Šaltosios išemijos trukmė < 16,57 val. > 16,57 val.	1 5,094 (2,18–11,90)	< 0,001
sNGAL, 12 val. < 32341 pg/ml > 32341 pg/ml	1 2,688 (1,028–7,028)	0,016
Gydymo dializėmis trukmė < 29,5 mėn. > 29,5 mėn.	1 2,888 (1,128–7,369)	0,027
Konstanta	-3,258	< 0,001

Donoro amžių modelyje pakeitus **KDPI** daugiau negu 52 proc., išliko reikšmingi tie patys veiksniai: **sNGAL** GS 3,494 (95 proc. PI: 1,287–9487; $p = 0,014$) ir išemijos trukmė GS 5,004 (95 proc. PI: 2,172–11,715; $p < 0,001$), dializių trukmės GS 2,828 (95 proc. PI: 1,129–7,083; $p = 0,026$); modelio Nagelkerke $R_2 = 0,292$, bendras prognozavimo procentas **70,7 proc.**, *modelis – 7*).

Kitame modelyje vertinant **ribinio donoro kriterijaus įtaką**, galutiname modelyje išliko **sNGAL** GS 2,883 (95 proc. PI: 2,883–10,7314; $p = 0,036$) ir išemijos trukmė GS 2,397 (95 proc. PI: 2,397–12,597; $p < 0,001$), modelio Nagelkerke $R_2 = 0,263$, bendras prognozavimo procentas **68,6 proc.**, (*modelis – 8*). Sudarytas daugiaveiksmės dvinarės logistinės regresinės anali-

zės modelis su šlapimo žymenų slenkstinėmis vertėmis 12 val. po transplantacijos ir ankstesniuose modeliuose analizuotus klinikiniais duomenimis. Galutiniame modelyje liko reikšmingi donoro KMI ir recipiento **uKIM-1**, modelio Nagelkerke $R_2 = 0,287$, bendras prognozavimo procentas **74,6 proc.**, modelis – 9, duomenys pateikti 3.3.2.9 lentelėje.

3.3.2.9 lentelė. *Daugiaveiksmės dvinarės logistinės regresinės analizės modelis, prognozuojantis vėluojančią transplantuoto inksto funkciją pagal donorų klinikinius veiksnius ir recipientų šlapimo biologinius žymenis (modelis – 9)*

Veiksny	Galimybių santykis (95 proc. PI)	p vertė
Pakartotina transplantacija		
Ne	1	
Taip	0,057 (0,005–0,597)	0,017
Donoro KMI		
< 29,16 kg/m ²	1	
> 29,16 kg/m ²	1,209 (1,279–19,857)	0,002
uKIM, 12 val.		
< 1,963 ng/ml	1	
> 1,963 ng/ml	1,889 (1,204–19,857)	0,002
uIL-18 pg/ml		
< 3,9905	1	
> 3,9905	3,023 (0,851–10,735)	0,087
Konstanta	–2,199	< 0,001

Apibendrinant, analizuojant biologinius žymenis 12 val. po transplantacijos, nustatytos reikšmingos uKIM-1 ir sNGAL sąsajos su vėluojančia inksto funkcija, kurios išliko reikšmingos atsižvelgiant į modeliuose pasirinktus klinikinius veiksnius – donoro amžių, arba KDPI, arba donoro įvertinimą kaip ribinį. Didžiausią prognozinę vertę turėjo modelis su klinikiniais veiksniais (donoro amžiumi, šaltosios išemijos laiku, gydymo dializėmis iki transplantacijos trukme) ir uNGAL 12 val. po transplantacijos.

Antrą parą po transplantacijos iširtuose serumo ir šlapimo mėginiuose, išliko reikšmingi žymenų kiekio skirtumai tarp vėluojančios ir geros funkcijos grupių: sKIM-1 ($p = 0,017$), sNGAL ($p = 0,038$), uKIM-1 ($p = 0,035$), uNGAL ($p = 0,0248$) bei uIL-18 ($p = 0,007$). Visi šie žymenys, išskyrus uIL-18, koreliavo su serumo kreatininu, jo pokyčiu per dvi dienas vertinant su buvusiu iki transplantacijos recipiento sKr. Didesni KIM-1 ir NGAL kiekiai buvo susiję su aukštesniu serumo kreatininu ir mažesniu kreatinino sumažėjimu per dvi paras. Duomenys pateikti 3.3.2.10 lentelėje.

3.3.2.10 lentelė. Recipiento biologinių žymenų, tirtų antrą parą po transplantacijos koreliacijos su serumo kreatininu ir jo pokyčiu

Biologinis žymuo	Serumo kreatininas, $\mu\text{mol/l}$	Kreatinino pokytis per dvi dienas
sNGAL, pg/ml	0,279 $r = 0,002$	-0,221 $r = 0,032$
sKIM-1, pg/ml	0,325 $r = 0,002$	-0,221 $r = 0,032$
uNGAL, pg/ml	0,458 $r < 0,001$	-0,122 $r = 0,262$
uKIM-1, ng/ml	0,260 $r = 0,11$	-0,344 $r < 0,11$

r – Spearman koreliacijos koeficientas.

KIM serume ir šlapime, ir uNGAL tiriant kartotinai pirmos paros bėgyje, koncentracijos mažėjo, o tiriant antrą parą, kai buvo pradėtas gydymas KNI, rasti vėl reikšmingai padidėję šių žymenų kiekiai ($p < 0,001$).

3.5. Biologinių žymenų sąsajų su inksto funkcija vėlyvuojų periodu ir ūminiu atmetimu tyrimas

3.5.1. Donorų veiksmų sąsajų su apskaičiuotu glomerulų filtracijos greičiu vėlyvuojų laikotarpiu po inksto transplantacijos tyrimas

Po vienerių metų stebėjimą tęsė 73 recipientai, kurių donorams prieš eksplantaciją buvo ištirti biologiniai žymenys. Reikšmingų korelacijų tarp donoro kreatinino ir recipiento transplantuoto inksto funkcijos trejų metų po transplantacijos laikotarpiu nenustatyta. Analizuojant kitus biologinius žymenis, vienintelis uKIM reikšmingai neigiamai koreliavo su aGFG per visą stebėjimo laikotarpį: 1 mėn. ($r = -0,415$, $p = 0,03$), 3 mėn. ($r = -0,359$, $p = 0,01$), 6 mėn., ($r = -0,361$, $p = 0,009$), 1 m. ($r = -0,329$, $p = 0,026$), 2 m. ($r = -0,358$, $p = 0,02$) ir 3 m. ($r = -0,457$, $p = 0,004$) po transplantacijos. NGAL nekoreliavo su aGFG ankstyvuojų laikotarpiu po transplantacijos, tačiau nustatytos koreliacijos tarp sNGAL ir aGFG po 6 mėn. ($r = 0,251$, $p = 0,063$), 1 m. ($r = 0,263$, $p = 0,037$), 2 m. ($r = 0,369$, $p = 0,004$) ir 3 m. ($r = 0,329$, $p = 0,017$), uNGAL koreliavo su inkstų funkcija tik po vienerių metų ($r = 0,308$, $p = 0,045$).

Atliktoje tiesinės regresijos analizėje, didesni KDPI ir KDRI buvo reikšmingai susiję su blogesne inksto funkcija 1 mėn.–3 metų laikotarpiu (KDPI standartizuotas β koeficientas $-0,447$ – $(-0,180)$; $p < 0,001$, KDRI standartizuotas β koeficientas $-0,426$ – $(-0,177)$; $p < 0,001$).

KDPI ir donoro amžius stipriai koreliavo, todėl pasirinkta modeliuose toliau analizuoti šiuo metu įprastai vertinamą veiksnį – donoro amžių. Atlikus vienaveiksmę tiesinę regresinę analizę, nustatytas reikšmingas atvirkštinis ryšys tarp **uKIM-1** ir inkstų funkcijos po **šešių mėnesių** (β koeficientas = $-0,361$, (95 proc. intervalas nuo $-48,11$ iki $-37,129$), $p = 0,009$), bet ši sąsaja nebebuvo reikšminga daugiaveiksmėje analizėje. Vienaveiksmėje tiesinėje regresinėje analizėje nustatyta, kad donoro amžius, KDPI, šaltosios išemijos laikas, DGF, **uKIM-1**, **serumo ir šlapimo NGAL** buvo reikšmingai susiję su **1 metų** aGFG. Daugiaveiksmė tiesinės regresijos analizė parodė, kad donoro amžius, šaltosios išemijos laikas ir **uNGAL** išliko reikšmingi vienerių metų transplantuoto inksto funkcijos prognozės rodikliai. Modelių determinacijos koeficientas $R^2 > 0,25$. Duomenys pateikti 3.5.1.1 lentelėje.

3.5.1.1 lentelė. Vienaveiksmės ir daugiaveiksmės tiesinės regresinės analizės modelis, prognozuojantis transplantuoto inksto funkciją po 1 m. pagal donory klinikius veiksnius ir biologinius žymenis

	Vienveiksmė			Daugiaveiksmė		
	β koeficientas	95 proc. PI	p reikšmė	β koeficientas	95 proc. PI	p reikšmė
Donoro amžius, m.	-0,437	-0,926(-0,29)	< 0,001	-0,50	-1,06(-0,288)	0,01
Donoro kreatininas	0,062	-0,111-0,184	0,624			
Šaltosios išemijos laikas, val.	-0,317	-2,74(-0,375)	0,011	-0,298	-3,29(-0,92)	0,039
KDPI, proc.	-0,481	-0,48(-0,162)	< 0,001			
Vėluojanti inksto funkcija	-0,304	-24,44(-2,776)	0,015			
sKIM-1*	-0,176	-25,5-4739	0,175			
sNGAL*	0,263	0,803-24,85	0,026			
uNGAL*	0,302	0,325-22,73	0,044	0,32	1,36-24,084	0,029
uKIM-1*	-0,329	-38,88(-2,66)	0,026			

* – atlikta logaritminė transformacija.

Atlikta vienaveiksmė tiesinė regresinė analizė nustatė, kad **sNGAL** ir **uKIM-1** buvo reikšmingai susiję su **2 metų** aGFG (sNGAL β koeficientas = $0,349$, $p = 0,004$; uKIM-1 β koeficientas = $-0,358$, $p = 0,020$), tačiau jų reikšmingumas nepasitvirtino daugiaveiksmėje analizėje. Buvo nustatytos reikšmingos **sNGAL** (β koeficientas = $0,346$, (95 proc. PI: $3,937-31,572$), $p = 0,013$) ir **uKIM-1** (β koeficientas = $-0,457$, 95 proc. PI: $-51,806-(-10,685)$, $p = 0,004$) sąsajos su transplantuoto inksto funkcija po **3 metų** vienaveiksmėje tiesinėje regresijos analizėje. Daugiamatėje tiesinėje regresijos analizėje didesnis donoro amžius ir ilgesnė šaltosios išemijos trukmė

buvo susiję su mažesniu aGFG po **3 metų**, o didesnis sNGAL kiekis (β koeficientas = 0,289, 95 proc. PI: 0,334–30,84), $p = 0,045$) išliko reikšmingas geresnės inkstų funkcijos prognozinis veiksnys.

3.5.2. Recipientų biologinių žymenų sąsajų su transplantuotų inksto funkcija ir histologiniais pokyčiais protokolinėse biopsijose tyrimas

Po 3 mėn. tyrime tęsė dalyvavimą 161 recipientas, po vienerių metų – 149 recipientai, kuriems buvo tirti biologiniai žymenys. Nustatyta, kad aukštesnis sKIM-1 koreliavo su blogesne inkstų funkcija: 3 mėn. sKIM-1 koreliavo su 3 mėn. aGFG ($r = -0,246$, $p = 0,007$), su 6 mėn. aGFG ($r = -0,246$, $p = 0,018$), su 2 m. aGFG ($r = -0,324$, $p = 0,004$) ir su 3 m. aGFG ($r = -0,367$, $p < 0,001$), o 1 m. sKIM-1 koreliavo su 1 m. aGFG ($r = -0,376$, $p = 0,018$). 1 m. didesnis uNGAL koreliavo su mažesniu aGFG po 1 m. ($r = -0,444$, $p = 0,03$), ir 2 m. ($r = -0,427$, $p = 0,042$), bet, atlikus logistinę regresinę analizę, nenustatyta reikšmingų ryšių tarp žymenų ir inkstų funkcijos, skirstant į grupes aGFG mažiau 60 ml/min./1,73 m² ir daugiau 60 ml/min./1,73 m².

Tyrime analizuota 131 paciento, kuriam buvo atlikta nulinė biopsija ir bent viena protokolinė biopsija, duomenys. Nenustatyta reikšmingų biologinių žymenų ir pokyčių nulinėse inkstų biopsijose sąsajų. Serumo NGAL, ištirtas protokolinės biopsijos atlikimo metu, koreliavo su uždegiminiais pokyčiais (i) biopsijose po trijų mėnesių ($r = 0,317$, $p = 0,006$) ir su uždegimu kartu su tubulitu (i + t) ($r = 0,314$, $p = 0,006$). uNGAL koreliavo su IF/TA balu ($r = 0,303$, $p = 0,046$) ir lėtinių pokyčių balu ($r = 0,347$, $p = 0,021$), tačiau šios asociacijos nebuvo reikšmingos atlikus vienerių metų biopsiją. Iš visų tirtų žymenų, tik sNGAL po trijų mėnesių buvo susijęs su IF/TA progresavimu atliekant vienerių metų protokolinę biopsiją (GS 0,149, 95 proc. PI: 0,027–0,815, $p = 0,028$). Nenustatyta reikšmingų sąsajų tarp šlapimo NGAL ir KIM-1 bei kitų tirtų biologinių žymenų su IF/TA progresavimu. Detaliau apie pokyčius transplantuoto inksto biopsijose aprašyta 3.6.4 skyriuje.

Pagrindiniai donoro ir recipiento potencialūs klinikiniai fibrozės progresavimą lemiantys veiksniai ir IF/TA sąsajos su vėlyvąja inksto funkcija nurodyta 3.5.2.1 lentelėje.

3.5.2.1 lentelė. Donoro ir recipiento klinikiniai veiksniai atsižvelgiant pagal fibrozės ir kanaliukų atrofijos progresavimą ir IF/TA sąsajos su vėlyvąja inksto funkcija

Rodiklis	IF/TA neprogresavo (n = 59)	IFTA progresavo (n = 72)	p reikšmė
Recipiento amžius, m.	50,51 (12,02)	44,31 (13,13)	0,006
Donoro amžius, m.	48,7 (16,6)	53,6 (15/5)	0,118
Ribinis donoras, proc.	40,7	56,9	0,085
Donoro arterinė hipertenzija, proc.	37,3	63,9	0,002
Šaltosios išemijos trukmė, val.	16,27 (4,84)	16,22 (4,3)	0,651
Vėluojanti inksto funkcija, proc.	16,9	27,8	0,142
Ūminis atmetimas, proc.	12,1	27,8	0,028
Proteinurija 1 m., g/l	0,10 (0,24)	0,124 (0,37)	0,704
aGFG 3 mėn., ml/min./1,73 m ²	57,14 (16,28)	47,82 (16,45)	0,003
aGFG 6 mėn., ml/min./1,73 m ²	54,14 (19,75)	44,99 (19,79)	0,007
aGFG 1 m., ml/min./1,73 m ²	57,48 (16,57)	47,82 (16,45)	0,002
aGFG 2 m., ml/min./1,73 m ²	57,64 (16,38)	49,50 (19,36)	0,033
aGFG 3 m., ml/min./1,73 m ²	60,14 (17,43)	48,22 (18,76)	0,012

3.5.3. Biologinių žymenų sąsajų su ūminio atmetimo dažniu analizė

Histologiniu tyrimu patvirtinti ūminio atmetimo epizodai per pirmuosius metus po transplantacijos diagnozuoti dvidešimt penkiems pacientams (12,4 proc. atvejų) iš jų 12 (6,5 proc.) – per pirmąjį mėnesį po transplantacijos. Visi pacientai buvo gydyti takrolimuzu. Detalesnė ūminio atmetimų analizė aprašyta 3.6.4 skyriuje.

Vertinant donoro biologinių žymenų ryšį su ūminio atmetimo dažniu, su nei vienu šiame tyrime analizuotų donoro biologinių žymeniu reikšmingų sąsajų ($p > 0,05$) nenustatyta. Atlikus recipiento biologinių žymenų sąsajų su ūminiu transplantuoto inksto atmetimu per pirmus metus analizę, nustatytos reikšmingos koreliacijos tarp atmetimo dažnio ir recipiento pirmos paros sNGAL (po 6 val. $r = 0,258$, $p = 0,007$, po 12 val. $r = 0,302$, $p < 0,001$), uIL-18 ($r = 0,196$, $p = 0,048$), antrą parą po transplantacijos uCXCL9 ($r = 0,297$, $p = 0,047$). Daugiausia ūminio atmetimu koreliacijų nustatyta su uCXCL10: ištirto po 12 val. ($r = 0,270$, $p = 0,006$), antrą ($r = 0,244$, $p = 0,005$) ir 12 parą po transplantacijos ($r = 0,358$, $p < 0,001$). Po 3 mėn. ir po metų, tirtų kartu su protokolinėmis biopsijomis, chemokinių reikšmingų sąsajų nenustatyta.

3.6. Takrolimuzo ekspozicijos ir metabolizmo parametrų sąsajų su inksto išėjimais tyrimas

Į tyrimą įtraukti 174 pacientai, kurie tęsė gydymą prailginto veikimo TAC praėjus 3 mėn. ir ilgiau po inksto transplantacijos. Pusei (50,0 proc.) šios grupės pacientų buvo transplantuoti inkstai iš ribinius kriterijus atitinkančių donorų. Stebėjimo laikotarpiu šioje grupėje 30 (17,4 proc.) recipientų buvo diagnozuota histologiniu tyrimu patvirtinti ūmaus atmetimo epizodai, iš jų 24 (13,8 proc.) įvyko per pirmuosius metus po transplantacijos, o 11 (6,3 proc.) iš jų – per pirmąjį mėnesį po transplantacijos. Ląstelinis atmetimas diagnozuotas vieną kartą 3 mėn. ir penkis kartus po 1 m. atliktose protokoliniuose biopsijose. Antikūnų sukeltas atmetimas penkiais atvejais buvo patvirtintas 3 mėn. biopsijose ir šešis kartus – biopsijose po vienerių metų. Du kartus rezultatai buvo įvertinti kaip mišrus atmetimas. Kiti histologiškai patvirtinti atmetimo atvejai buvo nustatyti atliekant biopsijas pagal indikacijas. Citomegalo viruso infekcija gydyta 24 atvejais (13,8 proc.), o polioma viruso infekcija – 7 pacientams (4 proc.). Sergant šiomis infekcijomis, buvo mažinamos imunosupresinių vaistų, tame tarpe ir takrolimuzo, dozės.

Nustatyta, kad tiriamųjų, kurie atsižvelgiant į koncentracijos ir dozės santykio (C/D) rezultatus buvo įvertinti kaip greito metabolizmo grupė, metabolizmas laikui bėgant lėtėjo: trečią mėnesį po transplantacijos 43,6 proc. tiriamųjų buvo vertinami kaip greito metabolizmo, po šešių mėnesių – 42,6 proc. po metų – 32,9 proc., po 2 m. – 22,7 proc., po 3 m. – 18,8 proc.

Pagal protokolą nuo trečiojo mėnesio, nesant atmetimo požymių, TAC dozės buvo sumažintos ir reikšmingai skyrėsi nuo vienerių metų reikšmių (8,0 (2–25) ng/ml *p*lg., 6 (1–20) ng/ml; $p < 0,001$), atitinkamai TAC C_0 buvo mažesnės vėlesniu laikotarpiu (9,34 (2,93) *p*lg. 7,5 (2,4); $p = 0,014$), **TAC C_0 CV svyravo nuo 6,08 iki 59,77 proc.** (26,78 (11,25)). Aukščiausias TAC variabilumo koeficiento tertilis buvo $\geq 30,625$ proc. (vidurkis 39,5 (7,42); mediana 37,03; min. 30,63 proc. ir maks. 59,77 proc.).

Nepriklausomai nuo metabolizmo tipo nustatymo, reikšmingų skirtumų tarp TAC metabolizmo tipo ir kūno masės indekso, amžiaus ir lyties nenustatyta. 3.6.1 lentelėje pateikti TAC C_0 ir koncentracijos dozės palyginimas analizuotose inkstų baigčių grupėse.

3.6.1 lentelė. Takrolimuzo koncentracijų stebėjimo metodų palyginimas atsižvelgiant pagal transplantuotų inkstų funkciją ir ūminį atmetimą

	C/D 3 mėn.	TAC C ₀ 3 mėn.	C/D 6 mėn.	TAC C ₀ 6 mėn.	C/D 12 mėn.
Atmetimas per 1 metus	0,001	0,072	0,025	0,028	0,029
Atmetimas per 3 metus	0,004	0,082	0,051	0,023	0,040
aGFG < 60 ml/min./1,73 m ²					
3 mėn.	0,039	0,39			
6 mėn.	0,098	0,168	0,078	0,24	
1 m.	0,194	0,478	0,007	0,025	0,079
2 m.	0,084	0,381	0,020	0,161	0,097
3 m.	0,294	0,288	0,254	0,068	0,198

C/D – koncentracijos/dozės santykis, TAC C₀ – mažiausia veiksminga vaisto koncentracija. Mann-Whitney testas.

3.6.1. Takrolimuzo koncentracijos stebėjimo metodų sąsajos su transplantuoto inksto funkcija

Siekiant įvertinti takrolimuzo koncentracijos parametrų matavimų ryšį su transplantuoto inksto funkcija praėjus vieneriems, dvejiems ir trejiems metams po transplantacijos, buvo atlikta logistinė regresija. Pacientai buvo suskirstyti į dvi grupes pagal jų aGFG reikšmes: aGFG ≥ 60 ml/min./1,73 m² ir aGFG < 60 ml/min./1,73 m². Vienaveiksmė logistinė regresinė analizė parodė, kad TAC C₀ (GS: 0,84, 95 proc. PI: 0,725–0,972, p = 0,019) ir **greitojo metabolizmo tipas šeštą mėnesį** (GS: 2,141, 95 proc. PI: 1,044–4,389, p = 0,038), kartu su kitais klinikiniais veiksniais, t. y. donoro amžiumi, donoro hipertenzija, recipiento inkstų pakaitinės terapijos iki transplantacijos trukme, šaltosios išemijos trukme, AKFI arba ARB grupės vaistų vartojimu ir IF/TA progresavimo stebėjimo biopsijų metu, buvo reikšmingai susiję su mažesniu **vienu metu** aGFG, tačiau daugiaveiksmėje analizėje tik donoro ir recipiento klinikiniai duomenys buvo reikšmingai susiję su transplantuoto inksto funkcija, o TAC stebėsenos parametrų reikšmingų sąsajų su inksto funkcija negauta.

Atlikus vienaveiksmę logistinę analizę nustatyta, kad TAC C₀ ir greito metabolizmo tipas 6 mėn. po transplantacijos, kartu su klinikiniais veiksniais (vyresnis donoro amžius, sirgimas arterine hipertenzija, ribinio donoro kriterijų atitikimas, buvęs ūminis atmetimas pirmaisiais metais po transplantacijos, nustatyti aukštesni IF/TA ir lėtinių pokyčių balai vienerių metų protokolinėje biopsijoje), buvo reikšmingai susiję su **dveju metu** aGFG < 60 ml/min./1,73 m². Daugiaveiksmėje logistinėje regresijoje greitas TAC metabolizmo tipas po 6 mėn., kartu su vyresniu donoro amžiumi ir lėtinių pokyčių balu biopsijose išliko reikšmingu blogesnės transplantuoto inksto

funkcijos po dviejų metų prognozinu veiksmu. Rezultatai pateikiami 3.6.1.1 lentelėje.

3.6.1.1 lentelė. *Vienaveiksmė ir daugiaveiksmė logistinė regresinė transplantuoto inksto funkcijos prognozinė analizė ($aGFG < 60 \text{ ml/min./1,73 m}^2$) po dvejų metų pagal donoro ir recipiento veiksmius, takrolimuzo stebėjimo parametrus ir histologinius pokyčius*

	Vienaveiksmė			Daugiaveiksmė		
	GS	95 proc. PI	p reikšmė	GS	95 proc. PI	p reikšmė
Recipiento amžius, m.	1,001	0,974–1,029	0,933			
Donoro amžius, m.	1,033	1,009–1,056	0,006	1,043	1,001–1,086	0,045
Ribinis donoras	3,175	1,484–6,790	0,003			
Donoro arterinė hipertenzija	2,498	1,199–5,208	0,0015			
Šaltos išemijos laikas, val.	1,117	1,013–1,232	0,027			
Gydymo pakaitine inkstų terapija trukmė, mėn.	0,986	0,973–1,00	0,050			
TAC C ₀ 6 mėn.	0,832	0,707–0,979	0,027			
Greito metabolizmo tipas 6 mėn.	2,437	1,107–5,365	0,027	4,654	1,197–18,097	0,026
Atmetimas per pirmus metus	4,648	1,014–21,306	0,048			
IF/TA balas 1 m. biopsijoje	2,185	1,212–3,939	0,009			
Lėtinių pokyčių balas 1 m. biopsijoje	1,788	1,179–2,711	0,006	1,575	1,002–2,473	0,049

Analizuojant transplantuoto inksto funkciją po **trejų metų**, iš visų tirtų takrolimuzo stebėsenos metodų, tik **TAC C₀ CV** buvo reikšmingas veiksnys (GS: 1,068, 95 proc. PI: 1,011–1,129, $p = 0,019$), kartu su donoro veiksniais ir lėtiniais histologiniais pažeidimais. Nors statistiškai nereikšmingai, TAC C₀ CV aukščiausias tertilis buvo susijęs su mažesniu $aGFG < 60 \text{ ml/min./1,73 m}^2$ praėjus trimis metams po transplantacijos ($p = 0,051$).

3.6.2. Takrolimuzo koncentracijos stebėsenos parametrų sąsajų su ūminiu atmetimu tyrimas

Dauguma atmetimo epizodų buvo diagnozuoti per pirmus metus po inksto transplantacijos, todėl analizuotas takrolimuzo ekspozicijos bei metabolizmo ir atmetimo ryšys šiuo laikotarpiu. Remiantis daugiaveiksmės logistinės regresijos analize sudarytu modeliu, į kurį įtraukti veiksniai, kurie buvo reikšmingi vienaveiksmėje analizėje, nustatyta, kad 3 mėn. TAC C/D santykis ir 6 mėn. TAC C₀, buvusi vėluojanti inksto funkcija ir sirgimas cukriniu diabetu buvo susiję su atmetimu per pirmuosius metus po transplantacijos. Rezultatai pateikiami 3.6.2.1 lentelėje.

3.6.2.1 lentelė. Takrolimuzo koncentracijos stebėsenos ir recipiento kliniki-
nių duomenų sąsajų su atmetimu per pirmus metus po inksto transplantacijos
regresinė logistinė analizė

	Vienaveiksmė			Daugiaveiksmė		
	GS	95 proc. PI	p reikšmė	GS	95 proc. PI	p reikšmė
Vėluojanti inksto funkcija	4,19	1,719–10,21	0,002	3,935	1,329–1,646	0,013
Recipiento amžius, m.	0,974	0,942–1,007	0,122			
Cukrinis diabetas	3,513	1,19–10,396	0,023	3,882	1,150–3,112	0,029
Donoro amžius, m.	1,025	0,993–1,058	0,125			
Donoro kreatininas, $\mu\text{mol/l}$	1,007	0,999–1,014	0,083			
Šaltosios išemijos trukmė, val.	1,049	0,955–1,142	0,34			
TAC C ₀ ng/ml, 6 mėn.	0,78	0,622–0,977	0,031	0,752	0,57–0,99	0,043
Greito TAC metabolizmo tipas 3 mėn.	3,017	1,214–7,497	0,017			
Greito TAC metabolizmo tipas 6 mėn.	2,736	1,077–6,951	0,034			
Greito TAC metabolizmo tipas, 1 m.	2,30	0,888–5,958	0,081			
C/D 3 mėn.	0,301	0,12–0,752	0,01	0,301	0,110–0,821	0,019
C/D 6 mėn.	0,44	0,188–1,049	0,064			
C/D 1 m.	0,444	0,205–0,962	0,04			

Nenustatyta reikšmingo ryšio tarp TAC C₀ CV ($p = 0,765$) arba TAC C₀ CV trečiojo tertilio ($p = 0,514$) ir atmetimo pirmaisiais metais. Nenustatyta reikšmingų sąsajų tarp ir protokolinėmis biopsijomis patvirtinto atmetimo dažnio ir tuo pačiu metu ištirtų biologinių žymenų.

3.6.3. Takrolimuzo koncentracijos stebėsenos parametrų ir biologinių žymenų sąsajų analizė

uNGAL neigiamai koreliavo su TAC C₀ po trijų mėn. ($r = -0,283$, $p = 0,025$) ir po vienerių metų ($r = -0,585$, $p = 0,05$) ir su C/D santykiu po trijų mėnesių ($r = -0,464$, $p = 0,034$) bei po vienerių metų ($r = -0,525$, $p = 0,015$). Šeštą mėn. nustatytas greito metabolizmo tipas, koreliavo su uNGAL po vienerių metų ($r = 0,567$, $p = 0,007$), C/D santykis 6 mėn. koreliavo su uKIM-1 ($r = -0,412$, $p = 0,041$).

3.6.4. Pokyčių inkstų biopsijose analizė

Į takrolimuzo ekspozicijos ir metabolizmo parametrų sąsajų su lėtiniais histologiniais pokyčiais protokolinėse inkstų biopsijose tyrime analizuota 131 paciento, kuriam buvo atlikta nulinė biopsija ir bent viena protokolinė biopsija, duomenys. Nulinėse biopsijos 17 atvejų (13 proc.) buvo nustatyta IF/TA ($ci \geq 1$ ir (arba) $ct \geq 1$), kuri 8,4 proc. vertinta kaip mažai išreikšta ir 4,6 proc. – kaip vidutinio sunkumo, IF/TA balų skaičius laikui bėgant didėjo, lyginant trijų mėnesių ir vienerių metų biopsijas ($1,14 \pm 1,22$ (0–6) *plg.* $0,3 \pm 5,12$ (0–2); $p = 0,02$). Trijų mėnesių biopsijose 44 atvejais (37,9 proc.), buvo vertinta kaip nežymi (19 proc.), vidutinio sunkumo (16,4 proc. ir žymi (2,6 proc.) IF/TA. Vienų metų stebėjimo biopsijų metu 48 atvejais (60,8 proc.) IF/TA vertinta kaip nežymi (24,1 proc.), vidutinio sunkumo (27,8 proc.) ir žymi (8,9 proc.). Uždegiminiai pažeidimai reikšmingai nesiskyrė tarp biopsijų ($p = 0,375$), nors tubulito dažnis buvo didesnis 1 m., biopsijose (8,6 *plg.* 23,1; $p = 0,118$). Glomerulosklerozės procentinė dalis (4,87 (7,43) *plg.* 4,40 (7,95), $p = 0,625$) ir arteriolinė hialinozė ($p = 0,625$) nesiskyrė tarp 3 mėn. ir 1 m. biopsijų; tačiau lėtinių pokyčių balas (1,46 (1,57), (svyravo 0–6) *plg.* 2,18 (1,96) (svyravo 0–9), $p < 0,001$) reikšmingai padidėjo. Bendras IF/TA progresavimas stebėtas 55 proc. (72 atvejais): nuo nulinės biopsijos iki trijų mėnesių – 36,2 proc., o nuo trijų mėnesių iki vienerių metų – 46 proc. biopsijų. IF/TA progresavimas buvo susijęs su vyresniu recipiento amžiumi, donoro arterine hipertenzija, buvusiais ūmaus atmetimo epizodais, intersticinio uždegimo (i) ($p = 0,02$) ir uždegimo su tubulitu („i + t“) ($p = 0,013$) buvimu vienerių metų biopsijose. Nebuvo nustatyta jokių reikšmingų skirtumų tarp biopsijų pagal arteriolių hialinozės balą, kuris yra potencialus takrolimuzo nefrotoksiškumo žymuo. 3.6.4.1 lentelėje pateiktos TAC ekspozicijos ir metabolizmo parametrų stebėjimo metodų asociacijos, atsižvelgiant pagal IF/TA progresavimą protokolinėse biopsijose.

3.6.4.1 lentelė. *Takrolimuzo stebėjimo parametrų palyginimas pagal intersticinės fibrozės ir kanalėlių atrofijos progresavimą protokolinėse inkstų biopsijose*

Požymis	IF/TA neprogresavo (n = 59)	IF/TA progresavo (n = 72)	p reikšmė
TAC dozės/svorio santykis 3 mėn., mg/kg	0,121 (0,044)	0,129 (0,048)	0,453
TAC dozės/svorio santykis 12 mėn., mg/kg	0,079 (0,046)	0,085 (0,052)	0,07
TAC C ₀ 3 mėn., ng/m	9,14 (2,89)	9,49 (2,96)	0,49
TAC C ₀ 6 mėn., ng/ml	8,03 (2,4)	7,59 (2,5)	0,33
TAC C ₀ 12 mėn., ng/ml	7,53 (2,32)	7,56 (2,48)	0,945
C/D 3 mėn., ng/ml/mg	1,18 (0,32–5,73)	1,09 (0,28–5)	0,963
C/D 6 mėn., ng/ml/mg	1,28 (0,45–5,7)	1,33 (0,3–7,5)	0,235
C/D 12 mėn., ng/ml/mg	1,3 (0,52–4,7)	1,24 (0,19–5,95)	0,454
Greito metabolizmo grupė, proc., 6 mėn.	46,3	39,7	0,457
Greito metabolizmo grupė, proc., 1 m.	40,9	30,2	0,266
TAC C ₀ CV, proc.	26,27 (11,49)	27,88 (10,44)	0,423
Didžiausia TAC C ₀ CV tertilis	40,07 (8,5)	38,8 (6,6)	0,678

Nenustatyta statistiškai reikšmingo ryšio tarp Tac C₀, C/D santykio, TAC C₀ CV ir IF/TA progresavimo, taip pat nenustatyta reikšmingo ryšio analizuojant IF/TA progresavimą nuo nulinių biopsijų iki 3 mėn. biopsijų ir nuo 3 mėnesių iki 1 metų biopsijų. 6 mėn. TAC C₀ ir C/D santykio vertės neigiamai koreliavo su IF/TA balu vienerių metų biopsijose ($r = -0,320$, $p = 0,004$ ir $r = -0,269$, $p = 0,001$), tačiau nekoreliavo su IF/TA progresavimu. Greitas TAC metabolizmas nebuvo reikšmingai susijęs su IF/TA progresavimu. Nenustatyta reikšmingo ryšio tarp TAC C₀ CV aukščiausio tertilio ir IF/TA progresavimo, tačiau jis buvo susijęs su didesniu lėtinių pokyčių balu vienerių metų biopsijose (GS 1,429, 95 proc. PI: 1,092–1,869, $p = 0,009$).

4. REZULTATŲ APTARIMAS

Šiame moksliniame darbe analizavome donorų bei recipientų biologinių žymenų KIM-1, NGAL, IL-18, CXCL9, CXCL10 ir takrolimuzo ekspozicijos ir metabolizmo stebėjimo parametrų sąsajas su transplantuoto inksto baigtimis: dažniausia ankstyvojo laikotarpio komplikacija – vėluojančia inksto funkcija, ūminiu atmetimu ir aGFG vėlyvuojų periodu po inksto transplantacijos bei histologiniais pokyčiais inksto biopsijose.

Inksto transplantacija yra prioritetinis pakaitinės inkstų terapijos būdas, tačiau visame pasaulyje išlieka donorinių organų trūkumo problema. Šiame moksliniame tyrime dalyvavę pacientai, po įtraukimo į laukiančių inksto transplantacijos sąrašus, organo laukė nuo 5 d. iki 2061 d., mediana – 204 d. Atsižvelgiant į tai, kad per pirmus metus transplantacija atlikta 68,9 proc. recipientų, o ilgiau negu tris metus laukė 6,4 proc. (13 pacientų) – šie rezultatai yra geresni negu daugelyje valstybių. Vis dažniau naudojami blogesnės kokybės, ribinius kriterijus atitinkančių donorų inkstai. Ši tendencija yra stebima ir Lietuvoje. Auglienės Rūtos mokslo daktaro disertacijos duomenimis, 2000–2019 m. Kauno klinikų Nefrologijos klinikoje 30,3 proc. recipientų buvo transplantuoti ribinių donorų inkstai [26]. Mūsų mokslinio darbo laikotarpiu 2017–2022 m., palyginti su ankstesniu dešimtmečiu, padidėjo vidutinis donorų amžius, padažnėjo sergančiųjų arterine hipertenzija, atitinkamai, iki 50 proc., padidėjo ribinius kriterijus atitinkančių donorų skaičius, iki 33,2 proc. padažnėjo vėluojančios inksto funkcijos atvejų. Daugiau negu trečdalis transplantacijų atveju (34,9 proc.), to paties donoro recipientams skyrėsi inksto funkcijos atsinaujinimo laikas, pusei pacientų reikėjo dializų. Tinkamai biologinių žymenų tyrimai galėtų padėti prognozuoti šios komplikacijos išsivystymą.

Biologinių žymenų ir klinikinių veiksnių sąsajų su inksto funkcija tyrimas. Donorų ir recipientų klinikinių veiksnių tyrimas parodė, kad didžiausią sąsają su transplantuoto inksto funkcija ankstyvuojų laikotarpiu turėjo donoro amžius, ribinių kriterijų donorų atitikimas, šaltosios išemijos trukmė, taip pat šiame tyrime papildomai vertintas inkstų donoro profilio indeksas (KDPI). Po transplantacijų iš didesniu KDPI įvertintų donorų dažniau, stebėta vėluojanti inksto funkcija, tai atitiko ir kitų užsienio autorių rezultatus [25, 168].

Donoro klinikinių veiksnių tyrimas, kaip ir daugelio kitų centrų duomenys, patvirtino, kad donoro serumo kreatinino koncentracijos vertinimas nebuvo tikslus rodiklis ankstyvajai transplantuoto inksto funkcijai prognozuoti. Ištyrėme donoro serume ir šlapime inkstų pažeidimo biologinius žymenis NGAL, KIM-1, IL-18 ir CXCL10. Nustatėme, kad donoro sIL-18, sKIM-1,

uNGAL ir uKIM-1 buvo vėluojančios inksto funkcijos prognoziniai rodikliai, kurių diagnostinis jautrumas, vertinant pagal ROC analizę, buvo patenkiamas ir buvo panašus į kitų autorių tyrimų rezultatus. Remdamiesi mūsų tyrimo rezultatais, nustatėme biologinių žymenų ribines vertes ir sudarėme tinkamą mažiausios apimties modelį, kuris galėtų būti naudingas klinikinėje praktikoje prognozuojant transplantuoto inksto funkciją ankstyvuojant laikotarpiu po transplantacijos. sIL-18 ir uKIM-1, iširti prieš transplantaciją, tiksliau negu kreatininas ar donoro diurezė prognozavo vėluojančią inksto funkciją. Jų prognozinė vertė didėjo esant ribiniam donorui ir ilgesniam šaltosios išemijos laikui. Derinant donoro įvertinimo (ribinių ar standartinių kriterijų donorai) ir šaltosios išemijos trukmės parametrus ir prie jų pridėjus du biologinius žymenis – sIL-18 ir uKIM-1, diagnostinis veiksmingumas pasidarė reikšmingai tikslesnis. Koo ir bendr. tyrime taip pat sukūrė ankstyvojo transplantuoto inksto disfunkcijos prognozavimo modelį, pagrįstą donoro biologiniais žymenimis. Jų sudarytas modelis iš donoro uNGAL, uL-FABP ir serumo kreatinino, geriau prognozavo vėluojančią inksto funkciją negu vien tik serumo kreatininas [97].

Yra nedaug tyrimų, kuriuose buvo tiriamas serumo KIM-1 sąsajos su inkstų ligomis [169–171]. Šiame moksliniame darbe nustatėme donoro serumo KIM-1 koreliaciją su serumo kreatininu bei žymens asociaciją su vėluojančia inksto funkcija vienaveiksmėje logistinėje analizėje. Neseniai atliktame nedidelės apimties tyrime buvo analizuojama donorų ir recipientų serumo ir šlapimo KIM-1 prognozinė vėluojančios inkstų funkcijos reikšmė, tačiau autoriai nenustatė reikšmingų sąsajų [124]. Mūsų atliktame tyrime uKIM buvo reikšmingas vėluojančios inksto funkcijos prognozinis žymuo. Tokius rezultatus gavo ir kai kurie kiti autoriai. Field su bendr. atliko tyrė donoro biologinių žymenų sąsajas su transplantuoto inkstų funkcija ankstyvuojant periodu [123]. Autoriai nustatė, kad didesnis donoro KIM-1 kiekis šlapime buvo susijęs su blogesniu aGFG. Kiti autoriai gavo skirtingus rezultatus. Rees ir bendr. dideliame perspektyviajame tyrime nustatė, kad nors tirtų donoro šlapime KIM-1, NGAL buvo didesnis recipientų, kuriems vėliau stebėta vėluojanti inksto funkcija, tačiau uKIM-1 sąsaja su šia komplikacija buvo reikšminga tik vertinant vidurinio tertilio koncentracijas [111]. Koo ir bendr. atliktame tyrime donoro uKIM kiekis nebuvo reikšmingai susijęs su vėluojančia inksto funkcija (šiam tyrime nevertinta, ar buvo hemodializijų poreikis) [97].

Halmen ir bendr. publikuotame pirmajame tyrime apie donoro NGAL sąsajas su transplantuoto inksto baigtimis analizuota donoro serumo ir šlapimo NGAL prognozinė vertė vėluojančiai inkstų funkcijai. uNGAL kiekis tiesiogiai koreliavo su donoro serumo kreatininu ir buvo susijęs su ilgiau negu keturiolika dienų užsitęsusia vėluojančia inksto funkcija bei ryškesniais

donoro inkstų biopsijų histologiniais pokyčiais, tačiau nenustatyta reikšmingos sąsajos su vėluojančios inkstų funkcijos prognoze. Svarbu pažymėti, kad į šį tyrimą nebuvo įtraukti donoriai, kuriems pagal serumo kreatinino koncentraciją nustatyta ūminė inkstų pažeida [112]. Mūsų atliktame tyrime donoro uNGAL nekoreliavo su donoro kreatininu, bet buvo reikšmingas vėluojančios inksto funkcijos prognozinis žymuo. Koo ir bendr. atlikto tyrimo ROC analizėje nustatyta donoro uNGAL prognozinė reikšmė (plotas po kreive 78 proc.) buvo panaši į mūsų tyrimo rezultatus (plotas po kreive 71 proc.) [97]. Rees ir bendr. tyrime didesnė uNGAL koncentracija buvo susijusi su didesne vėluojančios inksto funkcijos rizika [111].

Prognozinė donoro serumo NGAL reikšmė transplantacijos rezultatams mažai ištirta. Buemi ir bendr. nenustatė reikšmingų asociacijų tarp donoro plazmos NGAL ir uNGAL verčių ir vėluojančios inkstų funkcijos [113]. Mūsų tyrime donoro sNGAL koreliavo su kreatininu, bet taip pat nebuvo susijęs su vėluojančia inksto funkcija. Šiame moksliniame darbe nustatyta, kad donoro sKIM-1, uKIM-1, sIL-18 ir uIL-18 kiekiai reikšmingai koreliavo su transplantuoto inksto funkcijos gerėjimu, vertintu kaip kreatinino sumažėjimas per pusę palyginti su buvusiu prieš transplantaciją. Kitų straipsnių autoriai šio rodiklio neįvertino.

Neseniai atliktame daugiacentriame 1100 mirusių donorų tyrime ir 2869 recipientų, kuriems buvo atliktos įvairių organų transplantacijos (įtraukta 1470 inkstų recipientų), nustatyta, kad didelis donoro CXCL10 kiekis serume buvo reikšmingai susijęs su mažesne tikimybe, kad transplantuotas inkstas pradės funkcionuoti iš karto, ir prognozavo recipiento trumpesnį išgyvenimą po inksto, kepenų ir širdies transplantacijos. Didesnė donoro CXCL10 koncentracija nebuvo reikšmingai susijusi su inksto išgyvenimu, bet stebėta dažnesnė lėtinio atmetimo tendencija [141]. Mūsų tyrime nustatytas CXCL10 kiekis serume buvo didesnis ribinių donorų grupėje ($p < 0,001$), tačiau nebuvo susijęs su vėluojančia funkcija ar inkstų funkcija per trejus metus po transplantacijos.

Sprendžiant dėl organo tinkamumo transplantacijai, aktualiausia yra ankstyvųjų komplikacijų prognozė, nes tolimesnias baigtis lemia daug veiksnių, tokių kaip imunosupresinių vaistų tinkamas vartojimas, infekcijos, gretutinių recipiento ligų adekvatus gydymas ir kt., bet, kaip papildomas kriterijus, donoro biologiniai žymenys taip pat turi vertę. Šio tyrimo metu buvo nustatytos reikšmingos sąsajos tarp donoro biologinių žymenų ir transplantacijos rezultatų vėlyvuju laikotarpiu. Donoro uKIM-1 neigiamai koreliavo su recipiento aGFG per visą stebėjimo laikotarpį nuo 1 mėn. iki trejų metų. Tai rodo, kad didesnė donorinio inksto pažeida susijusi su blogesne transplantuoto inksto funkcija. Donoro NGAL teigiamai koreliavo su recipientų aGFG, t. y. esant didesnei šių biologinių žymenų koncentracijai,

stebėta geresnė recipientų inksto funkcija, tačiau tik uNGAL prognozinė vertė buvo reikšminga daugiaveiksmėje analizėje po vienerių metų. sNGAL reikšmingai teigiamai koreliavo su inkstų funkcija praėjus 6, 12 ir 24 bei 36 mėn. po transplantacijos. Nustatyta, kad treji metai po transplantacijos inkstų funkcija buvo geresnė tų recipientų, kurių donoro NGAL serume buvo didesnė. Šie rezultatai skyrėsi nuo kitų autorių. Hallmen ir bendr. atliktame tyrime donoro sNGAL buvo susijęs su inkstų funkcija vėlyvuju periodu po transplantacijos, bet vienerių metų transplantuoto inksto išgyvenimas buvo blogesnis tų pacientų, kuriems atliktos transplantacijos iš donorų, turėjusių didesnę sNGAL kiekį [112].

Koo ir kt. tyrime uNGAL koreliavo su inkstų funkcija ne tik po 1 m. kaip šiame tyrime, bet ir praėjus 3, 6 mėn. po transplantacijos. Autoriai nustatė, kad aukštesnė uNGAL, uKIM-1 koncentracija buvo susijusi su mažesniu aGFG po 1 m., bet daugiaveiksmėje analizėje šie rezultatai nebuvo statistiškai reikšmingi [97]. Modelina ir bendr. tyrime buvo nerasta reikšmingų sąsajų tarp donoro šlapimo NGAL, KIM-1, IL-18 didesnių koncentracijų negu ribinės vertės ir 6 mėnesių aGFG [80]. Kitame tyrime recipientams, kuriems transplantuotas inkstas iš donorų, turėjusių didesnę uNGAL koncentraciją, net jei ankstyvuju laikotarpiu nebuvo vėluojančios inkstų funkcijos, po 6 mėnesių buvo saikiai blogesnė inksto funkcija [111]. Tų pačių autorių naujesniame tyrime konstatuota, kad, inksto nepakankamumo (aGFG < 15 ml/min./1,73 m²) išsivystymo rizika per trejus metus po operacijos nepriklauso nuo donoro šlapimo biologinių žymenų koncentracijų [172]. Skirtingus šio tyrimo rezultatus vertinant inkstų funkciją vėlyvuju periodu po transplantacijos, galima paaiškinti tuo, kad, remiantis kitų autorių duomenimis, NGAL yra ūminės fazės baltymas, susijęs su uždegimu. Smegenų mirtis sukelia gausų citokinų išsiskyrimą ir uždegiminį atsaką, kuriuo galima paaiškinti dideles donorų sNGAL koncentracijas, esant santykinai sveikiems donorams [59]. Vienas iš NGAL šaltinių serume yra neutrofilų ir monocitų aktyvacijos procesas ūminės uždegiminės reakcijos metu. Todėl NGAL padidėjimas serume gali atsirasti ne tik dėl inkstų glomerulų filtracijos sumažėjimo ar kanalėlių pažeidimo, bet ir dėl suaktyvėjusios šio biologinio žymens sekrecijos uždegiminėse ląstelėse. Anksčiau atliktų tyrimų duomenimis, NGAL, gali turėti įtakos chemotaksiui, adhezijai ir uždegiminių ląstelių migravimui ir taip turėti apsauginį poveikį esant ūminei inkstų pažeidai ir skatinti apsauginius procesus, kurie skatina ilgalaikę regeneraciją [173, 174]. Šio tyrimo laikotarpiu atliktose nulinėse inkstų biopsijose dažniausiai buvo nustatyti neryškūs histologiniai pokyčiai, nei vienoje biopsijoje kanalėlių pažeida patologų nevertinta kaip reikšminga, o 20 proc. ribą viršijanti glomerulosklerozė nustatyta nedidelėje donorinių inkstų dalyje – 12,2 proc. Todėl, remdamiesi šio tyrimo rezultatais, keliame hipotezę, kad nesant donoro

lėtinės inkstų ligos ir inkstų kanalėlių pažeidimo požymių nulinėje biopsijoje, didesnis NGAL kiekis taip pat gali rodyti galimą inkstų rezervą ir būti susijęs su geresne transplantuoto inksto funkcija vėlyvuju periodu po transplantacijos. Šiame tyrime nenustatėme donoro biologinių žymenų sąsajų su ūmaus atmetimo dažnumu po transplantacijos. Atsižvelgdami į tai, kad donoro biologinių žymenų imtis buvo nedidelė, manome kad reikalingi tolesni tyrimai donorų žymenų sąsajoms su transplantuoto inksto vėlyvosiomis baigtimis įvertinti.

Atlikę recipiento biologinių žymenų analizę, vėluojančios inkstų funkcijos prognozei reikšmei įvertinti, nustatėme, kad serumo ir šlapimo NGAL, KIM-1 ir šlapimo CXCL9, IL-18 ištirti per pirmąją parą yra reikšmingi žymenys šiai komplikacijai prognozuoti. Rezultatai atitiko van Duijl ir bendr. atlikto tyrimo išvadas dėl šių biologinių žymenų sąsajų su išemijos–reperfuzijos sukeltu pažeidimu. Šiame tyrime iš per pirmąją parą tirtų aštuonių recipiento biologinių žymenų, didžiausią reikšmę turėjo uNGAL. Autoriai taip pat nustatė chemokino CXCL9 sąsają su išemijos–reperfuzijos sukeltu pažeidimo sunkumu. Iš visų biologinių žymenų tik NGAL buvo atvirkščiai proporcingai susijęs su aGFG [99]. Mūsų atliktame moksliniame darbe ROC analizėje serumo ir šlapimo NGAL, KIM-1 ir šlapimo CXCL9, ploto po kreivių tikslumas buvo patenkinamas (66,4–74,8 proc.), bet buvo panašus į kai kurių kitų vėluojančios inkstų funkcijos klinikinių veiksnių rezultatus. Sudaryti įvairūs modeliai pagal biologinius žymenis ir kitus, ankstesniuose tyrimuose įvertintus kaip svarbius donoro ir recipiento veiksnius. Jie rodo, kad serumo ir šlapimo NGAL, KIM-1 yra tinkami biologiniai žymenys, galintys padėti prognozuoti vėluojančią inkstų funkciją. Prognozinis žymenų tikslumas tarpusavyje reikšmingai nesiskyrė. Mūsų gauti rezultatai buvo panašūs į kitų autorių skelbiamus tyrimų rezultatus [100, 102]. Atliktuose moksliniuose tyrimuose mėginiai NGAL analizei buvo imami skirtingomis valandomis. Buemi ir bendr. tyrime per 6, 24 ir 48 val. po transplantacijos ištirtas recipientų serumo NGAL asocijavosi su vėluojančia inksto funkcija, o po 24 ir 48 val. – su greitesniu kreatinino sumažėjimu po operacijos [113]. Neseniai Taberero Guadalupe ir bendr. atliktame recipientų tyrime recipientų šlapime didesnė NGAL ir mažesnė KIM-1 koncentracija per 1–7 d. po operacijos buvo susijusi su vėluojančia inksto funkcija ir ilgesniu inkstų funkcijos stabilizavimosi laikotarpiu (90–120 d.). NGAL geriau negu KIM-1 buvo susijęs su vėluojančia inksto funkcija [101]. Haase-Fielitz ir bendr. atliktoje metaanalizėje nagrinėti 1079 recipientų iš 14 studijų duomenys. Nustatyta, kad NGAL tiek šlapime, tiek serume iširtas per 6–12 valandų po transplantacijos, buvo reikšmingas prognozinis vėluojančios inksto funkcijos žymuo [115]. Neseniai Li ir bendr. atliktoje metaanalizėje padarytos išvados, kad, recipientų ir kraujo, ir šlapimo NGAL, ištirti per

pirmąją parą, yra tinkami vėluojančios inkstų funkcijos prognoziniai rodikliai. Autorių nuomone, NGAL kraujyje didesniu jautrumu ir specifiškumu prognozuoja vėluojančią inksto funkciją negu NGAL šlapime [102]. Mūsų atliktame tyrime serumo ir šlapimo NGAL prognozine vertė reikšmingai nesiskyrė. Yadav ir bendr. atliko nedidelės apimties recipientų po gyvos transplantacijos tyrimą. Tyrėjai nustatė didesnę negu mūsų tyrime prognozinę reikšmingumą. 18 val. po transplantacijos KIM-1 koncentracija buvo reikšmingai didesnė vėluojančios inkstų funkcijos grupėje (AUC–ROC 0,998, specifiškumas buvo 100 proc., o jautrumas – 89,9 proc.) [128]. van Duijl TT ir kt. atliktame tyrime KIM-1, kaip išemijos–reperfuzijos pažaidą atspindintis žymuo, tirtas pirmą parą po gyvų ir mirusių donorų transplantacijų, buvo didesnis palyginti su bendrosios populiacijos duomenimis [99]. Zhu ir bendr. neseniai publikuotame tyrime, uKIM-1, uNGAL koncentracijos, ištyrus iš karto po perfuzijos (0 valandą), 24 val. po transplantacijos, funkcinės vėluojančios inkstų funkcijos grupėje (serumo kreatinino koncentracija sumažėjo mažiau kaip 70 proc. per savaitę) buvo didesnės negu geros funkcijos grupėje. Tačiau uNGAL koncentracijų pokyčiai per tiriamą laiką nebuvo reikšmingi. Recipientai, kurių uKIM-1 koncentracija 1 d. po transplantacijos buvo didesnė, turėjo padidėjusią vėluojančios inkstų funkcijos išsivystymo ir užsitęsios disfunkcijos riziką. Vertindami kitų autorių atliktų recipientų biologinių žymenų per pirmąją parą tyrimų duomenis ir šio mokslinio darbo rezultatus, kurie nerodė reikšmingų skirtumų ne tik tarp NGAL, bet ir KIM tirtų skirtingomis valandomis, pritartume Ya Mei Li ir bendraautorių nuomonei, kad iš praktinės pusės, racionalu tyrimus atlikti per pirmąsias 24 valandas, derinant su gydymo įstaigos galimybėmis [102].

Cantaluppi Vincenzo ir bendr. pirmieji aprašė NGAL kaip prognozinę ir diagnostinę žymenį, kurį galima pritaikyti sprendžiant gydymo kalcineurino inhibitoriais klausimą. Tyrime nustatyta, kad pNGAL kiekis plazmoje per pirmąją parą po inksto transplantacijos iš ribinių donorų, dar nepradėjus gydymo KNI, yra gana tikslus vėluojančios inkstų funkcijos žymuo, be to, prognozuoja greitesnę inkstų funkcijos pagerėjimą. NGAL koncentracija sumažėja greičiau negu sKr, o tai rodo, kad atsistato ir glomerulų filtracija, ir kanalėlių reabsorbcija. Autorių nuomone, sNGAL gali būti naudingas sprendžiant, kada po transplantacijos pradėti skirti gydymą KNI [175]. Mūsų tyrime uNGAL ir serumo bei šlapimo KIM-1 koncentracijų pokytis, pradėjus vartoti takrolimužą, taip pat parodė galimas žymenų sąsajas su šio vaisto poveikiu inkstams.

Tabernerio G. ir kt. atliktame tyrime analizuota recipientų šlapime KIM-1, NGAL dinamika 1-ąją, 3, 5 ir 7 parą po transplantacijos, tiriamieji stebėti 3 mėn. Autoriai nustatė, kad trečią parą uKIM-1 vertės buvo didesnės pacientams po transplantacijų iš mirusių donorų, jaunesnių negu 55 m., negu iš

vyresnio amžiaus ir tų, kurių vidutinė šaltosios išemijos trukmė buvo 120–900 min. Priešingai negu NGAL, pacientų, kurių KIM-1 vertės buvo didesnės per pirmąją savaitę po transplantacijos, inkstų funkcija stabilizavosi greičiau, per 30–60 dienų po transplantacijos [101]. Recipientų, kurių KIM-1 koncentracija pirmomis dienomis buvo mažesnė, stebėtu laikotarpiu (mediana 30,3 mėn.) buvo geresnė inksto funkcija [129].

Atlikta daug tyrimų, vertinant biologinių žymenų tyrimų reikšmingumą pirmosiomis paromis po inksto transplantacijos, tačiau žymenų vertė tolimuoju laikotarpiu mažiau ištirta. Keshavar ir bendr. nustatė, kad KIM-1 koncentracija, recipientų serume ir šlapime ištirta 2, 90 ir 180 d. po transplantacijos, buvo reikšmingai didesnė esant aGFG mažiau kaip 60 ml/min./1,73 m² po 3 ir 6 mėn. ROC kreivių analizėje kraujo ir šlapimo KIM-1 buvo nepakankamai reikšmingi, vertinant inkstų funkciją po trijų ir šešių mėnesių. Tačiau, autorių nuomone, jie gali būti naudingi biologiniai žymenys aGFG prognozei po vienerių metų [130]. Ne transplantacijos srities tyrimuose, didesnė plazmos NGAL koncentracija yra susijusi su padidėjusia lėtinės inkstų ligos išsivystymo rizika [103] ir jos progresavimu šia patologija jau sergantiems asmenims [104]. Kitame tyrime NGAL padidėjęs kiekis šlapime susijęs su lėtinės inkstų ligos stadijos sunkumu [99]. Mūsų atliktame tyrime, analizuodami NGAL, IL-18, KIM-1 ir chemokinus, nenustatėme reikšmingų sąsajų su aGFG po 3 mėn. ir po 1 m. Bansal ir bendr. atliktame didelės apimties tyrime, praėjus daugiau negu šešiams mėnesiams po transplantacijos, padidėjusi uNGAL, IL-18, KIM-1 koncentracija buvo susijusi su didesne inksto netekimo ir pacientų mirties rizika [105]. Neseniai publikuotame Swolinsky ir bendr. tyrime buvo tirtas NGAL plazmoje ir šlapime stabiliems recipientams, kuriems inksto transplantacija buvo atlikta prieš daugiau nei du mėnesius. Vertinta jų prognozinė reikšmė inksto nepakankamumo išsivystymui penkerių metų laikotarpiu. pNGAL buvo reikšmingas nepriklausomas inksto praradimo rizikos veiksnys, bet jo prognozinė vertė buvo mažesnė, negu aGFG (AUC 0,795 proc. ir 0,866 proc.) [106]. Priešingai negu anksčiau Bansal ir kt. atliktame tyrime, nebuvo nustatyta uNGAL sąsajos su inksto praradimu. Kielar ir kt. tyrime recipientams, praėjus mažiausiai metams po transplantacijos, du kartus didesnė uNGAL koncentracija nustatyta pacientams, kurių aGFG bent dešimt procentų buvo mažesnė palyginti su geriau funkcionuojančių inkstų grupės pacientais. Nors diagnostinis uNGAL tikslumas, prognozuojant eGFG sumažėjimą nebuvo didelis (plotas po ROC kreive 65 proc.), bet jis reikšmingai nesiskyrė nuo albumino šlapime prognozinės vertės [107].

Gyvūnų modeliuose makrofagų gaminamas NGAL atlieka reikšmingą funkciją inkstų fibrozės išsivystymo procese. Tiriant ne transplantuotus pacientus, NGAL kiekis plazmoje reikšmingai koreliavo su intersticinių

ląstelių infiltracijos ir fibrozės išraiška [117]. Naujausiais tyrimais nustatyta, kad padidėjęs NGAL kiekis plazmoje (pNGAL), išmatuotas praėjus daugiau nei vieniems metams po inksto transplantacijos, buvo susijęs su padidėjusia transplantuoto inksto nepakankamumo rizika, o didesnis uNGAL kiekis po trijų, šešių, devynių mėnesių ir po vienerių metų, buvo susijęs su didesne fibrozės išraiška biopsijose [176]. Anksčiau atliktuose tyrimuose, vėlyvuju laikotarpiu po transplantacijos uKIM-1 buvo susijęs su IF/TA buvimu [177] ir neigiamai koreliavo su transplantuoto inksto funkcija [178]. Šiame moksliniame darbe nustatytas didesnis serumo NGAL kiekis trys mėnesiai po transplantacijos, buvo susijęs su ryškesniais uždegiminiais pokyčiais ir su IF/TA progresavimu trijų mėn. protokolinėse biopsijose, tačiau šios asociacijos nenustatyta su vienerių metų protokolinių biopsijų pokyčiais. Taip pat tik po 3 mėn. šlapimo NGAL koreliavo su didesniais IF/TA protokolinėse biopsijose ir lėtinių pokyčių balais. Svarbu pažymėti, kad šio tyrimo vienu metų periodu sumažėjusi biologinių žymenų imtis galėjo turėti įtakos rezultatams ir tolimesni didesnės apimties tyrimai galbūt parodytų didesnę šių žymenų naudą. Šitame tyrime nenustatėme reikšmingo biologinių žymenų, tirtų po trijų mėnesių ir vienu metų, ryšio su transplantuoto inksto funkcija vertinant aGFG mažiau kaip 60 ml/min./1,73 m² ir geresne inkstų funkcija, bet radome reikšmingą koreliaciją sNGAL ir uKIM-1 su aGFG po 3 mėn. ir 1 m. Atlikta tyrimų, kuriuose vertinta mūsų tirtų biologinių žymenų sąsajos su transplantuoto inksto funkcija praėjus ilgesniam periodui po inksto transplantacijos. Anksčiau atlikto tyrimo duomenimis, KIM-1 šlapime buvo tiriama vidutiniškai praėjus 6 m. po transplantacijos ir nustatyta, kad jis yra nepriklausomas ilgalaikio transplantuoto inksto praradimo prognozės rodiklis [179]. Kitame neseniai publikuotame Kremer ir bendr. tyrime buvo analizuotas ryšys tarp stabilių inkstų recipientų pNGAL išmatuoto vidutiniškai praėjus 5,4 metų po transplantacijos ir inksto transplantacijos rezultatų. Plazmos NGAL buvo stipriai ir nepriklausomai susijęs su inksto nepakankamumu, ypač pacientams, kurių inkstų funkcija anksčiau buvo blogesnė ir buvo randama baltymo šlapime. Padidėjusi pNGAL koncentracija buvo glaudžiai susijusi su padidėjusia transplantuoto inksto nepakankamumu ir mirties, atmetus atvejus su funkcionuojančiu inkstu, rizika [180]. Kitame tyrime palygintos recipientų KIM-1 vertės, kurių inkstų funkcija gera, ir kuriems nustatyta sutrikusi transplantuoto inksto funkcija arba patvirtintas atmetimas. Pastarųjų grupės pacientų KIM-1 šlapime ir serume buvo žymiai didesni. ROC analizė parodė, kad šie biologinių žymenų tyrimai padėtų diferencijuoti atmetimą nuo geros inkstų funkcijos. Autorių nuomone, KIM-1 šlapime ir kraujyje gali būti naudojami kaip perspektyvūs neinvaziniai transplantuoto inksto disfunkcijos diagnostikos įrankiai [181]. Remdamiesi šių autorių rezultatais, manome, kad

yra tikslinga tęsti biologinių žymenų tyrimus vėlyvuoju laikotarpiu po inksto transplantacijos.

Daugiausia tyrimų, analizuojant CXCL9 ir CXCL10 transplantacijos srityje, atlikta ir tęsiama vertinant jų sąsajas su ūminiu ir lėtiniu atmetimu. Kai kurių autorių nuomone, tai perspektyvūs biologiniai žymenys, kurių įdiegimas į praktiką galėtų padėti sumažinti atliekamų protokolinių biopsijų skaičių, o diagnostines biopsijas atlikti tikslingesnei pacientų grupei. Diagnostinę tyrimo vertę didina kartotinai tiriamos žymens koncentracijos. Šlapime padidėjęs CXCL10 kiekis buvo nustatytas pacientams esant ūminiam atmetimui [182, 183] ir vaikams esant blogėjančiai transplantuoto inksto funkcijai [183, 184]. Raza ir bendr. atlikta analizė parodė, kad mažesnė CXCL10 (< 100 pg/ml) koncentracija susijusi su ilgesniu transplantuoto inksto išgyvenimu be atmetimo. Atmetimo grupėje CXCL10 mediana buvo 70 pg/ml, o ne atmetimo grupėje – 15 pg/ml., ROC analizėje plotas po kreive – 74 proc., jautrumas – 72 proc., specifiskumas – 71 proc., nustatyta ribinė vertė – 27,5 pg/ml [185]. Mačionienės Ernestos atlikto tyrimo duomenimis, analizuojant 117 protokolinių ir diagnostinių transplantuoto inksto biopsijų, nustatyta reikšmingi skirtumai tarp CXCL9/kreatinino ir CXCL10/kreatinino kiekių, lyginant normalios histologijos ir atmetimo grupes ($p < 0,01$). Šie žymenys koreliavo su proteinurija inkstų biopsijos metu. CXCL9 santykio su kreatininu ir CXCL10 santykio su kreatininu plotai po ROC kreivėmis nustatant antikūnų sukeltą atmetimą buvo 79 proc. ($p < 0,01$)[186]. Neseniai publikuotame Belgijos mokslininkų tyrime, išanalizavus 662 recipientų 1559 inkstų biopsijų rezultatus (atliktų pagal protokolą po 3 mėn., 1 m. ir 2 m. ir pagal indikacijas), šlapimo CXCL9, CXCL10 ir klinikinius parametrus, buvo sudarytas penkių kintamųjų modelis (aGFG, DSA, BK infekcijos buvimas ir CXCL9, CXCL10). Chemokinai, integruoti su įprastais klinikiniais žymenimis, turėjo didelę diagnostinę vertę nustatant ūminį atmetimą, pagal modelio ROC analizę (plotas po kreive buvo 81,3 proc., jautrumas 75,2 proc., specifiskumas 71,4 proc. ribinė vertė buvo 7,5 proc.). Didesnės CXCL9, CXCL10 koncentracijos, mažesnis aGFG, DSA ir poliomasviruso buvimas didino ūminio atmetimo riziką. Autorių nuomone, integruotas modelis padėtų išvengti 59 protokolinių biopsijų 100 pacientų, kai prognozuojama mažesnė negu dešimt procentų atmetimo rizika. Be to, šlapimo chemokinių koncentracijos didėjo esant ryškesniems uždegiminiams pokyčiams biopsijose bei buvo nepriklausomai susijusios su inksto išgyvenimu. Aukščiausias kvartilis buvo susijęs su didžiausia inksto netekimo rizika [146]. Mūsų atliktame tyrime nustatytos reikšmingos koreliacijos tarp recipientų padidėjusių uCXCL9 koncentracijų, tirtų stacionariu laikotarpiu antrą ir dvyliktą paromis po transplantacijos, ir uCXCL10, tirtų pirmą, antrą ir dvyliktą paromis, su ūminio atmetimo dažnumu per pirmuosius metus. Po 3 mėn. ir 12 mėn. tirtų

biologinių žymenų sąsajų neradome. Tyrimų rezultatams galėjo turėti įtakos mažesnė tiriamųjų imtis, palyginti su kai kurių kitų autorių atliktais tyrimais, ir tai, kad tiriamuoju laikotarpiu didelė dalis atmetimų įvyko per pirmąjį mėnesį po transplantacijos. Šiame darbe nebuvo numatyta atlikti chemokinių papildomų tyrimų atliekant diagnostines biopsijas. Remdamiesi kitų mokslininkų tyrimų rezultatais, ir savo tyrimo duomenimis, nes nustatėme ryšį tarp CXCL9 ir CXCL10 koncentracijų ir atmetimo, manome kad tyrimus reikia tęsti.

Kita chemokinių tyrimų kryptis – tyrimai, kuriuose vertinama ne tik prognozė, bet ir sąsajos su transplantuoto inksto netekimu ir vėlyvąja inksto funkcija. Handschin ir kt. tyrė 141 pacientą, kuriam inksto biopsija buvo atlikta pagal indikacijas praėjus daugiau kaip 12 mėn. po inksto transplantacijos, stebėjimo mediana 4,1 m. Buvo vertintos baigtys: inksto netekimas arba funkcijos pablogėjimas nuo buvusios biopsijos metu daugiau kaip 30 proc. Didesnės CXCL10 koncentracijos buvo ūminio atmetimo (tiek ląstelinio, tiek antikūnų sukulto, tiek mišraus) grupėse. Taip pat padidėjimas, bet beveik per pusę mažesnis, nustatytas ir besimptomio (subklinikinio) atmetimo grupėje. Tyrimo metu pirminės baigtys nustatytos pusei pacientų, jų šlapimo CXCL10 koncentracijos buvo reikšmingai didesnės negu stabilios inkstų funkcijos pacientų. Mažesnė negu 7,0 ng/mmol CXCL10 koncentracija, buvo susijusi su geresne 5 m. inksto išgyvenamumo tikimybe, palyginti su išgyvenimu pacientų, kurių CXCL10 buvo > 7,0 ng/mmol, net ir nesant biopsijose atmetimo požymių [75]. Rezultatai buvo panašūs į šių mokslininkų anksčiau atliktą tyrimą, kai CXCL10 sąsajos su inksto išgyvenimu ir aGFG sumažėjimu buvo vertinta 6 mėn. po transplantacijos [147]. Zahran ir bendr. tyrė 19 uždegiminių chemokinių ir jų ligandų plazmoje, tarp jų ir CXCL10 stabiliems pacientams po inksto transplantacijos asociacijas su aGFG. Nors CXCL10 koncentracija buvo reikšmingai didesnė negu kontrolinės grupės tiriamųjų, bet nenustatyta reikšmingų šio chemokino sąsajų su transplantuotų pacientų aGFG [148]. Mūsų atliktame tyrime nenustatyta chemokinių CXCL9, CXCL10 sąsajų su aGFG vienu metų laikotarpiu, manome, kad reikalingi didesnės apimties tyrimai.

Takrolimuzo ekspozicijos ir metabolizmo parametrų sąsajų su inkstų baigtimis tyrimas. Šiame prospektyviame tyrime analizavome ryšį tarp trijų takrolimuzo ekspozicijos ir metabolizmo parametrų stebėsenos metodų – TAC C₀, TAC CV, C/D santykio – ir biologinių žymenų (KIM-1, NGAL, IL-18, CXCL9, CXCL10), ištirtų 3 mėn. ir 1 m. po transplantacijos, IF/TA progresavimu protokolinių biopsijų metu, ūminio atmetimo ir vėlesnės inkstų funkcijos trejų metų laikotarpiu. Šiame tyrime takrolimuzo metabolizmo vertinimui buvo pasirinkta C/D ir jo ribinė vertė < 1,05 ng/ml/mg, pagal šio stebėjimo metodą pasiūliusio mokslininko rekomendacijas [38, 187, 188]

Nustatėme, kad vertinant vaisto metabolizmą pagal koncentracijos ir dozės santykį, jis trijų mėnesių–trejų metų laiko intervale lėtėjo (t. y. C/D didėjo), greito metabolizmo tipo pacientų sumažėjo nuo 43,6 proc. iki 18,8 proc. Tai patvirtino kai kurių kitų autorių publikuotus rezultatus. Neseniai atliktame Vokietijos mokslininkų tyrime, nustatytas metabolizmo sulėtėjimas pirmų metų po transplantacijos laikotarpiu, vidutinis C/D pakito nuo 1,28 iki 1,92 ng/mg/ml. Ypač ryškus pokytis stebėtas per pirmus tris mėnesius, todėl, autorių nuomone, C/D vertinimas nepakankamai tinkamas ankstyvų komplikacijų, tokių kaip ūminis atmetimas, BK nefritas prognozavimui [189]. Ewa Kwiatkowska ir bendr. publikuome tyrime, metabolizmo sulėtėjimas po transplantacijos stebėtas dešimtis metų laikotarpiu, vidutinė C/D vertė buvo 1,63. Autoriai nenustatė reikšmingo ryšio tarp C/D ir aGFG [152]. Didžiausia atmetimo rizika buvo pirmaisiais metais po inksto transplantacijos. Skaičiuojant nuo visų tiriamuoju laikotarpiu buvusių atmetimų, 80 proc. jų įvyko per pirmuosius metus po transplantacijos. Mažesnis C/D santykis po trijų mėnesių ir mažesnė TAC C₀ po šešių mėnesių buvo susiję su didesne atmetimu tikimybe. Nustatėme, kad TAC metabolizmo įvertinimas, ypač pirmaisiais metais po transplantacijos, gali būti naudingas prognozuojanti transplantuoto inksto funkciją po vienu ir dvejų metų.

Šiame tyrime nenustatėme reikšmingo ryšio tarp TAC C₀ koncentracijos, C/D santykio, TAC C₀ CV, aukščiausio TAC C₀ CV tertilio ir IF/TA progresavimo protokolinėse biopsijose. Tačiau didžiausias TAC CV tertilis buvo susijęs su didesniu lėtinių pokyčių balu vienerių metų biopsijose. Šis pažeidimas yra nustatytas kaip nepriklausomas transplantuoto inksto nepakankamumo rizikos veiksnys kituose tyrimuose [167]. Daugelyje kitų autorių tyrimų buvo analizuojamos sąsajos tarp TAC C₀ CV ir pacientų bei transplantuotų inkstų išgyvenimo, tačiau mažiau tyrimų atlikta analizuojant lėtinius histologinius pažeidimus [163]. Be to, skirtingi autoriai vertino protokolinėse biopsijose IF/TA progresavimo dinamiką pasirinkdami skirtingus TAC C₀ CV tertilių lygius (22,1–44,2 proc.), tai taip pat galėjo turėti įtakos rezultatams [43, 156, 190]. Tyrimuose, kuriuose analizuotas takrolimuzo ryšys su IF/TA progresavimu, gauti nevienareikšmiai rezultatai. Thomas Vanhove ir bendr. publikuotame tyrime porinės stebėjimo biopsijos buvo atliktos praėjus 3 mėnesiams ir 2 metams po transplantacijos. Šiame tyrime pacientams, kurių TAC C₀ CV buvo didžiausias, praėjus dvejiems metams po transplantacijos buvo didesnė vidutinio sunkumo ir sunkios fibrozės ir kanalėlių atrofijos rizika, palyginti su mažiausio vaisto variabilumo grupe [162]. Mūsų atliktame tyrime nenustatėme reikšmingų sąsajų tarp TAC variabilumo ir IFTA progresavimo proceso, tačiau gautas ryšys su didesniu lėtinių pokyčių balu. Šiame tyrime tik 8,9 proc. biopsijų IF/TA grupėje buvo įvertintos kaip sunkūs pažeidimai, o daugumos biopsijų pažeidimai buvo nedideli arba vidutinio

sunkumo. Kita vertus, vienu metų protokolo biopsijų gali nepakakti IFTA progresavimui įvertinti. Gali būti, kad su takrolimuzo metabolizmu susiję pokyčiai gali būti pastebėti ateityje atliekant protokoline biopsijas po 2 ir 3 metų.

Neseniai Hyokee Kim ir bendr. atliktas tyrimas parodė, kad mažo TAC variabilumo grupės pacientų penkerių metų transplantato išgyvenamumo rodikliai buvo geresni nei didelio variabilumo grupės pacientų, o didelis TAC CV buvo susijęs su KNI nefrotoksiškumu [190]. Šio tyrimo duomenys parodė, kad didesnis TAC CV buvo susijęs su blogesne transplantuoto inksto funkcija ne ankstyvuojau laikotarpiu, o praėjus trejiems metams po transplantacijos. Kito didelio tyrimo metu nustatyta, kad didelis TAC variabilumas reikšmingai padidina transplantuoto inksto nepakankamumo ir antikūnų sukkelto atmetimo riziką didelės imunologinės rizikos pacientams. Tačiau mažos imunologinės rizikos grupėje, atsižvelgiant pagal paciento TAC variabilumą, transplantuoto inksto išgyvenamumas ir atmetimo dažnumas reikšmingai nesiskyrė [41]. Remiantis šio tyrimo rezultatais, galima paaiškinti mūsų gautus TAC variabilumo analizės rezultatus, nes tik 12,2 proc. recipientų buvo didelės imunologinės rizikos.

uNGAL neigiamai koreliavo su TAC C₀ ir C/D santykiu per tris mėnesius ir vienus metus, IF/TA ir lėtinių pokyčių balo dydžiu trijų mėnesių biopsijose. Galima šių rezultatų priežastis – kai kurių autorių duomenimis, NGAL ir KIM-1, gali būti susiję su CNI sukelta inkstų vazokonstrikcija [164]. Šia prielaida galime paaiškinti mūsų moksliniame tyrime gautus rezultatus, kai per pirmąją parą, kartotinai tiriant NGAL, KIM-1, jų koncentracijos mažėjo, o antrąją parą, pradėjus vartoti takrolimuzą, nustatytas žymenų koncentracijų padidėjimas.

Šio tyrimo duomenys nerodė reikšmingų ryšių tarp tirtų TAC ekspozicijos ir metabolizmo stebėjimo parametrų su intersticiumo fibroze ir kanalėlių atrofijos progresavimu pirmaisiais metais po inksto transplantacijos. Tačiau didesnis TAC CV tertilis buvo susijęs su ryškesniais lėtinės pažeidimo pokyčiais vienu metų biopsijose. Greitesnis TAC metabolizmas buvo susijęs su sumažėjusia inkstų transplantuoto inksto funkcija ir padidėjusia atmetimo rizika. C/D santykio apskaičiavimas praėjus trimis ir šešiais mėnesiais po transplantacijos gali padėti nustatyti pacientus, turinčius didesnę ūminio atmetimo ir blogėjančios transplantuoto inksto funkcijos rizikas. Tai yra paprasta ir papildomų finansinių išlaidų nereikalaujanti priemonė, galinti būti naudinga gydytojams jų kasdienėje klinikinėje praktikoje. Takrolimuzo variabilumo įvertinimas 6–12 mėn. laikotarpiu gali padėti nustatyti pacientus, kuriems yra didesnė lėtinio transplantuoto inksto pažeidimo progresavimo rizika ir atkreipti dėmesį į tinkamą vaistų vartojimą.

Imunosupresinio gydymo individualizavimas padėtų sumažinti su vaisto vartojimu susijusių komplikacijų dažnumą ir prailginti transplantuoti inksto išgyvenimumą. Atsižvelgiant į siaurą terapinį langą, papildomų takrolimuzo terapinio vaisto stebėjimo metodų paieška ir analizė išlieka aktualia tolimesnių tyrimų kryptimi. Tęsiant tolesnius tikslių ir jautrių biologinių žymenų tyrimus, būtų galima sumažinti invazinių tyrimų, tokių kaip inksto biopsija poreikį, identifikuoti pacientus kuriems yra didesnė atmetimo, fibrozinių pokyčių progresavimo, vaistų nefrotoksinio poveikio ir inksto nepakankamumo progresavimo rizika.

Tyrimo ribotumai. Mūsų tyrimas turi keletą apribojimų. Maža donorų biologinių žymenų imtis galėjo turėti įtakos statistiniam tikslumui, todėl sunku daryti įtikinamas šiame darbe tirtų donoro žymenų pritaikymo klinikinėje praktikoje prognozes. Reikalingi tolesni didesnės apimties tyrimai. Dalis mūsų tyrimo vyko COVID-19 pandemijos laikotarpiu. Pacientai dėl vartojamo imunosupresinio gydymo turėjo didelę riziką sirgti sunkia šios infekcijos forma bei blogoms baigtims. Pacientams po inksto transplantacijos, labiau negu daugumai kitomis ligomis sergančių pacientų, buvo apribotas mobilumas, todėl sumažėjo vizitų pas gydytojus bei atliekamų tyrimų skaičius. Tikėtina, kad daugiau pacientų tam tikrais periodais netinkamai vartojo imunosupresinius vaistus. Daugiau, negu ankstesniais metais, pacientų atsisakydavo protokolinių biopsijų atlikimo, tai sumažino histologinių pokyčių tiriamųjų grupę.

IŠVADOS

1. Ankstyvuoju periodu po transplantacijos vėluojančią inksto funkciją geriau negu įprastiniai klinikiniai laboratoriniai rodikliai prognozavo donoro serumo interleukinas 18 (IL-18) ir šlapimo inkstų pažeidimo molekulė 1 (KIM-1) bei recipiento per pirmąją parą po transplantacijos iširti serumo su neutrofilų gelatinaze susijęs lipokalinas (NGAL), KIM-1, ir šlapimo KIM-1, IL-18, NGAL. Donoro biologinių žymenų prognozinė vertė didėjo esant ribiniam donorui ir ilgesniam šaltesios išemijos laikui.
2. Vėlyvuoju periodu, 3 m. po transplantacijos, inkstų funkcija buvo geresnė tų recipientų, kurių donoro serume buvo didesnis NGAL. Donoro šlapimo KIM-1 neigiamai koreliavo su recipiento apskaičiuotu glomerulų filtracijos greičiu trejų metų laikotarpiu. Recipientų 3 mėn. ir 1 m. po transplantacijos tirtų biologinių žymenų sąsajos su blogesne transplantuoto inksto funkcija (aGFG < 60 ml/min./1,73 m²) vėlyvuoju laikotarpiu nebuvo reikšmingos.
3. Ūminio atmetimo, patvirtinto histologiniu tyrimu, rizika per pirmuosius metus po transplantacijos didėjo recipiento šlapime esant padidėjusiam C-X-C motyvo chemokinas 9 (CXCL9) ir C-X-C motyvo chemokinas 10 (CXCL10) kiekiui, tiriant ankstyvuoju laikotarpiu po transplantacijos. Šlapimo NGAL neigiamai koreliavo su intersticine fibroze ir kanalėlių atrofija ir lėtinių pokyčių balu protokolinėse biopsijose po 3 mėn.
4. Mažesnė takrolimuzo koncentracijos/dozės santykio vertė (C/D santykis < 1,05 ng/ml/mg) šeštą mėnesį po transplantacijos rodė greitesnę metabolizmą ir buvo susijusi su blogesne inkstų funkcija 2 m. po transplantacijos, o viršutinis takrolimuzo variabilumo koeficiento tertilis buvo susijęs su didesniu lėtinių pokyčių balu biopsijose praėjus 1 metams po transplantacijos.

PRAKTINĖS REKOMENDACIJOS

1. Biologinių žymenų pritaikymas klinikinėje praktikoje, ypač esant ribinių kriterijų donorui, leistų geriau prognozuoti vėluojančią transplantuoto inksto funkciją. Greičiau identifikavus pacientus, kuriems yra didesnė šios komplikacijos rizika, būtų galima taikyti individualizuotą gydymą ir sumažinti komplikacijų dažnumą.
2. Siekiant sumažinti invazinių tyrimų, tarp jų ir inkstų biopsijų dažnumą, rekomenduojama tęsti potencialių biologinių žymenų, atspindinčių ūminį ar lėtinį inkstų pažeidimą (fibrozės progresavimą, kalcineurino inhibitorių toksiškumą, atmetimą) tyrimus.
3. Inksto donoro profilio indekso naudojimas Lietuvoje nėra validuotas. Mūsų tyrimo duomenimis, šis rodiklis suteiktų papildomos naudos prognozuojant inkstų funkciją po transplantacijos. Siekdami geriau įvertinti donorinio inksto kokybę, rekomenduojame tęsti tyrimus analizuojant inkstų donoro profilio indekso pritaikomumą mūsų šalies populiacijai.
4. Norint sumažinti imunosupresinių vaistų neigiamą poveikį, labai svarbu individualizuoti gydymą. Remdamiesi mūsų tyrimo rezultatais, siūlome vertinti ne tik dabar naudojamą mažiausios veiksmingos takrolimuzo koncentracijos stebėjimą, bet ir kitus papildomus stebėjimo metodus. Takrolimuzo koncentracijos ir dozės santykio apskaičiavimas praėjus 3 mėn. ir 6 mėn. po inksto transplantacijos, metabolizmo ypatumo vertinimas gali leisti identifikuoti pacientus, kuriems yra didesnė atmetimo ir blogesnės inkstų funkcijos rizika. Pacientus, kuriems nustatytas greitas vaisto metabolizmas, rekomenduojame dažniau stebėti ir atsargiai vertinti kitų imunosupresinių vaistų dozių mažinimo klausimą.
5. Takrolimuzo variabilumo koeficiento apskaičiavimas 6–12 mėn. laikotarpiu po inksto transplantacijos gali padėti nustatyti pacientus, kuriems yra didesnė lėtinių pokyčių inksto biopsijose progresavimo rizika ir atkreipti dėmesį į tinkamą imunosupresinių vaistų vartojimo režimą.

SUMMARY

ABBREVIATIONS

AKI	–	acute kidney injury
BMI	–	body mass index
CI	–	confidence interval
CKD	–	chronic kidney disease
CKD-EPI	–	Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration
Cold ischemia time	–	the time from the start of circulatory arrest and hypothermic preservation of the donor kidney to the resumption of circulation at the time of transplantation
CXCL9	–	C-X-C motif chemokine 9
CXCL10	–	C-X-C motif chemokine 10
DFG	–	delayed graft function – need for dialysis during the first week after transplantation
DSA	–	donor-specific antibodies
ERA	–	European Renal Association
eGFR	–	estimated glomerular filtration rate
IGF	–	immediate graft function
IL-18	–	interleukin 18
HLA	–	human leukocyte antigen (HLA)
HRSA	–	Health Resources and Services Administration (HRSA)
KDPI	–	Kidney Donor Profile Index
KDRI	–	Kidney Donor Risk Index
MMF	–	mycophenolate mofetil
NGAL	–	neutrophil gelatinase-associated lipocalin
PRA	–	panel reactive antibodies
ROC	–	Receiver Operating Curves (ROC) graph showing the correlation between sensitivity and specificity
s	–	serum
SD	–	standard deviation
u	–	urine
vs.	–	<i>versus</i>

INTRODUCTION

Despite advances in medical sciences, the number of people with chronic kidney disease (CKD) has been rising in recent decades due to the increasing life expectancy and the higher prevalence of cardiovascular disease and diabetes. Unfortunately, the change in the number of kidney transplants remains moderate, with the number of transplants varying from 31 to 37 per million between 2015 and 2021, according to the ERA [2]. In the USA, only 27.5% of recipients on the kidney transplant waiting list receive a transplant within the first year and 46.3% within five years [4, 5]. According to Euro-

transplant, almost half of the patients within its eight member states (45.1%) receive a kidney within the first year, and a fifth (19.8%) wait longer than five years [7]. Increasing the number of suitable donors is one of the main challenges in transplantology.

Efforts are being made to address the global shortage of donor organs by increasing the number of available organs through transplanting organs from donors after circulatory death, from elderly donors, and from those with acute kidney injury (AKI), or other co-morbidities [8]. Since 2002, transplants have been performed using kidneys from expanded criteria donors (ECDs): donors aged 60 or 50–59 years with at least two of the three defined pathologies [9]. Transplants from donors over 60 years of age have doubled in Europe in recent decades (to 42.2%) [10]. A recently published study of seven European countries found that the median Kidney Donor Risk Index (KDRI), which reflects the relative risk of kidney failure compared to transplants from deceased donors in the previous year, increased by 1.3% annually over the past decade. This increase, which reflects increasingly poor renal quality, was mainly driven by an increase in donors' age, arterial hypertension, and donations from bodies that underwent circulatory death [11]. With longer life expectancy and the growing prevalence of diabetes mellitus, arterial hypertension, and obesity, donor kidneys will likely continue to be of lower quality. A corresponding increase in the number of older recipients with more co-morbidities may also have an impact on transplant outcomes.

On the other hand, many kidneys from deceased donors of older age or with comorbidities are discarded to prevent a bad outcome. In the US, the rate of kidneys offered for transplantation but not donated increased to 26.7% in 2022 compared to 17.79% in 2011 [12]. In *Eurotransplant* countries, the rate of ineffective potential deceased donor kidneys in 2023 was 24.7% [7]. The analysis of transplantation outcomes using organs from patients with acute kidney injury and marginal donors remains a relevant topic.

Delayed graft function (DGF) is the most common early complication after kidney transplantation. Despite the increasing number of investigations and treatment options, the incidence of DGF remains relatively stable, ranging from 2.6% after living donor transplantation [25] to 29% after transplantation from brain death donors [26, 27] and 39% to 45% or 65% after transplantation from circulatory death donors [28–30]. According to many authors, this complication is associated with early and later worse graft outcomes [31–36]; therefore, prognostic and preventive studies of delayed renal function remain an essential area of transplantology.

Long-term outcomes can be affected by both under- and over-immunosuppression, both of which can lead to poor outcomes such as graft failure, acute or chronic rejection, infectious complications, drug toxicity, and malignancy. After renal transplantation, maintenance combination immunosuppressive therapy with mycophenolate mofetil (MMF), a calcineurin inhibitor (tacrolimus (TAC) or cyclosporine) and glucocorticoids is the most common treatment. Although TAC is highly effective for preventing rejection, its prescription is complicated by a narrow therapeutic window and the variability in pharmacokinetics between individual patients and even within the same patient over time. Given the complex balancing act between the risk of rejection and the toxicity of the medication, monitoring the dosing and effects of tacrolimus has received considerable attention. Most transplant centers routinely use therapeutic drug monitoring, testing the tacrolimus through the concentration of a drug before the next dose (C_0). However, this method does not correlate well with clinical outcomes [37]. Therefore, other TAC exposure and metabolism monitoring methods have been analyzed, including the tacrolimus concentration/dose ratio (C/D) [38–40], the tacrolimus coefficient of variability (TAC C_0 CV) [41, 42], the therapeutic interval time [43], and the area under the concentration-time curve. There is no consensus on the most accurate and appropriate method of monitoring additional therapeutic parameters of tacrolimus in clinical practice.

Over the past decades, noninvasive diagnostic and prognostic markers for donors and recipients have been sought to provide early and accurate objectification of donor organ quality, predict complications, personalize immunosuppressive therapy, and predict early and late outcomes. Despite the growing number of innovative studies, most biomarker assays are complex, require expensive equipment, and are limited by long analysis times and high costs.

In this study, biomarkers of kidney injury, which have been studied not only in transplantation but also in various clinical settings, were chosen to further assess the quality of donor organs and the prognosis of complications after kidney transplantation, such as neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), kidney injury molecule 1 (KIM-1), interleukin 18 (IL-18), C-X-C motif chemokine ligand-9 (CXCL9), and C-X-C motif chemokine ligand-10 (CXCL10). Compared to genomic tests, biomarker assays are relatively easy to perform, and some markers can be tested relatively quickly, which increases the likelihood of their introduction into routine practice.

Analyzing the association of tacrolimus concentrations monitoring methods with kidney graft outcomes allows for personalized immunosuppression recommendations to improve graft survival.

AIM AND OBJECTIVES

Aim: the thesis aims to determine the association between donor and recipient kidney injury biomarkers (neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), kidney injury molecule 1 (KIM-1), interleukin 18 (IL-18), C-X-C motif chemokine ligand-9 (CXCL9), C-X-C motif chemokine ligand-10 (CXCL10) and tacrolimus concentration monitoring methods on transplantation outcomes.

Objectives:

1. To evaluate the association of donor and recipient kidney injury biomarkers NGAL, KIM-1, IL-18, CXCL9, and CXCL10 with delayed graft function.
2. To evaluate the association of donor and recipient biomarkers NGAL, KIM-1, IL-18, CXCL9, and CXCL10 with graft function over three years.
3. To determine the association of recipient biomarkers NGAL, KIM-1, IL-18, CXCL9, and CXCL10 with histological changes in the transplanted kidney.
4. To assess the association of tacrolimus exposure and metabolism parameters (tacrolimus trough concentration, concentration/dose ratio, and coefficient of variation) with kidney function and histological graft changes.

STUDY DESIGN AND METHODS

Recruitment of subjects and data collection

This clinical prospective study was conducted 2019–2023 at Hospital of Lithuanian University of Health Sciences Kauno klinikos (Kauno klinikos), The Department of Nephrology, in continuation of the project S–MIP–17–18 “Individualisation of immunosuppressive therapy using pharmacokinetic modeling and prognostic indicators in patients after organ transplantation”, funded by the Council of Sciences of Lithuania since 2017, as well as in continuation of the study ongoing since 2015 at the Nephrology Clinic, “Research program for the elucidation of complications of kidney diseases and chronic renal failure, their prevention and optimization of treatment”, which falls under Programme Protocol No.1, Version 5, 2019-07-02, with permissions P3–BE–2–9/2014 and P1–BE–2–52/2014 from Kaunas Regional Biomedical Research Ethics Committee.

The recruitment of subjects took place between May 2017 and 31 December 2022. All patients who met the eligibility criteria were invited to participate in the study.

Inclusion criteria:

- a deceased donor kidney transplant,
- age of the recipient ≥ 18 years,
- written consent is obtained by signing an informed consent form.

Exclusion criteria:

- retransplantation with continued immunosuppressive therapy before transplantation,
- patient's refusal to participate in the study,
- removal of the transplanted kidney within the first two days due to complications.

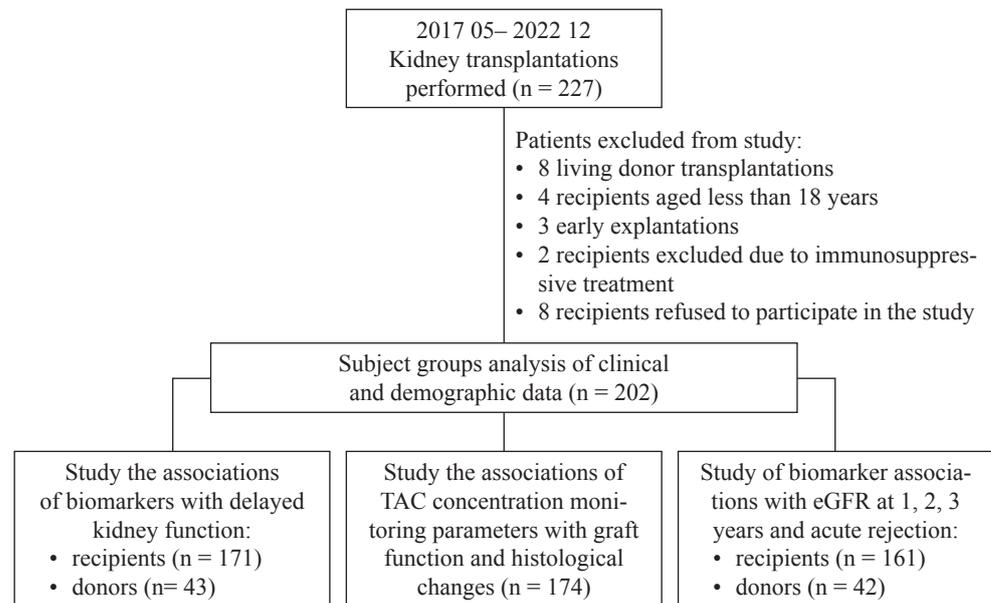


Fig. 1. Study design

This study included data from 202 adult recipients and 119 deceased donors whose kidneys were transplanted. The follow-up period for the recipients was three years from enrolment until 31 December 2022. Data from donors whose kidneys were used for the recipients in the study were analyzed.

To assess the adequacy of the sample size of the donor biomarker analysis group, the performance of this group was compared with that of a group of donors who were not tested for biomarkers. There was no significant difference between any of the variables tested (donor age ($p = 0.687$), gender

($p = 0.636$), cause of death ($p = 0.581$), donor assessment of threshold criteria ($p = 0,665$), KDPI (0.693), KDRI ($p = 0.733$), creatinine ($p = 0.117$), diuresis ($p = 0.307$), BMI ($p = 0.053$), proteinuria ($p = 0.889$), and therefore the sample size was considered adequate.

After the transplantation, laboratory and instrumental tests were performed using the procedure established by the Ministry of Health, and the protocol for kidney transplantation was approved by Kauno klinikos of this institution. In addition, only blood and urine tests for the detection of biomarkers not subjected to standard testing were carried out during the period covered by the scientific work, according to the methodology described below, in the laboratory of the University Hospital of Latvia, Pauls Stradins Clinical University Hospital. According to the kidney transplantation protocol approved by Kauno klinikos, graft zero-time biopsies were performed during the transplantation operation (performed by a urologist during the kidney transplantation operation when the blood supply to the transplanted organ was restored). Protocol biopsies are recommended for all patients three months and one year after kidney transplantation. Pathologists at the State Pathology Center examined and evaluated all histological preparations of renal tissue according to the updated Banff (1997) classification for the histological evaluation of the transplanted kidney [157]. Blood creatinine was measured using the quantitative photometric Jaffe method at the Laboratory Medicine Clinic of Hospital of Lithuanian University of Health Sciences Kauno klinikos and expressed as micromoles per liter ($\mu\text{mol/L}$). Transplanted kidney function was assessed based on the estimated glomerular filtration rate (eGFR) of the transplanted kidney using the *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration's* (CKD-EPI) formula without cystatin.

Tacrolimus concentrations were measured via ACMIA (Antibody Conjugated Magnetic Immunoassay) using the Dimension EXL 200 (Siemens) Integrated Chemistry System.

The demographic and clinical data of the kidney donors submitted to the Transplantation Centre of the National Transplantation Bureau under the Ministry of Health were collected: age, gender, height, weight, cause of death, incidence of arterial hypertension, viral hepatitis C, diuresis in the last day before the kidney retrieval operation, and results of laboratory investigations (urine dipstick test, serum creatinine level). The donors were divided into standard criteria and ECD donor groups according to the international criteria established by UNOS (United Network for Organ Sharing). Expanded criteria donors were defined as donors over 60 years of age or 50–59 years of age with at least two of the following changes: 1) brain death due to vascular pathology; 2) a history of arterial hypertension; 3) a serum creatinine level $> 133 \mu\text{mol/l}$ (1.5 mg/dl). According to the methodology adopted and proposed

by UNOS to assess donor quality, the Kidney Donor Risk Index (KDRI) and the Kidney Donor Profile Index (KDPI) were calculated using the HRSA (*Health Resources and Services Administration*) online calculator (<https://optn.transplant.hrsa.gov/resources/allocation-calculators/kdpi-calculator>).

Biomarker collection and measurement

Blood and urine samples for biomarkers were collected twice in the first 24 hours after kidney transplantation: after 6 hours and after 12 hours). In the ICU, two coded 4 ml vacuum blood tubes with clotting factor and a sterile urine collection cup were supplied by the PhD student. Subsequently, blood and urine samples were collected for biomarker testing in coded tubes in the Nephrology inpatient unit, together, with other standard tests, on a total of four occasions: on the second day after transplantation, when the calcineurin inhibitor was started, 12 days later (when most patients had stabilized their clinical condition and doses of medication), and when patients were readmitted for a protocol renal biopsy at three months and 12 months after kidney transplantation.

For biomarker analysis, the collected urine samples were centrifuged for 10 minutes at a speed of $2500 \times g$. Blood samples were left at room temperature for 30–60 min to clot and then centrifuged. The test material was dispensed into 1,5 mL Eppendorf tubes and frozen at -80°C . The biomarker tests were carried out by the same specialist in the laboratory of the Paul Stradin Clinical University Hospital, Latvia, and no information on the clinical data of the subjects was provided to the specialist. The biomarker tests were performed using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). These biomarkers were analyzed: kidney injury molecule-1 (KIM-1), neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), interleukin 18 (IL-18), and the chemokines C-X-C motif chemokine 9 (CXCL9) and C-X-C motif chemokine 10 (CXCL10). KIM-1 was tested using the commercially available TIM-1/KIM-1/HAVCR Quantikine ELISA Kit (R&D Systems Europe, Ltd; 19 Barton Lane, Abingdon Science Park Abingdon, OX14 3NB United Kingdom), while other biomarkers were tested using the following tools of the manufacturer, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, (Eschenstrasse 5; D-82024 Taufkirchen): NGAL was measured using the Human Lipocalin-2/NGAL ELISA Kit; CXCL9 was measured using the Human MIG/CXCL9 ELISA Kit; CXCL10 was measured using the Human IP-10/CXCL10 ELISA Kit; and IL-18 was measured using the Human IL18/Interleukin-18 ELISA Kit. The uKIM-1 commercial kit had a biomarker detection range of 0.2–10 ng/mL and a sensitivity of 0.046 ng/mL; the sKIM-1 commercial kit had a biomarker detection range of 10.9–700 pg/mL and a sensitivity of

3.63 pg/mL; the NGAL commercial kit had a step detection range of 4.1–1000 pg/mL, a sensitivity of 4 pg/mL, and a coefficient of variation of < 12%; the IL-18 commercial kit biomarker had a sensitivity of 0.5 pg/mL and a coefficient of variation of < 12%; the CXCL10 commercial kit had a step size of 8.23–6000 pg/mL, a sensitivity of 8 pg/mL, and a coefficient of variation of < 12%; the CXCL9 commercial kit had a step size of 8.23–6000 pg/mL, a sensitivity of 20 pg/mL, and a coefficient of variation of < 12%.

The donor biomarkers study included 43 kidney donors who underwent biomarker testing between May 2017 and October 2020 and 76 recipients who received kidney transplants from these donors. The donors had blood and urine samples collected on the day of transplantation, prior to kidney transplantation, for biomarker testing. These samples were prepared according to the methodology described above. ECD and standard criteria donors were identified, and KDPI and KDRI were calculated. The recipients who received a kidney transplant from this group of donors were divided into delayed renal function and good renal function (no need for dialysis after transplantation) groups. These groups underwent a comparative analysis of serum and urinary KIM-1, NGAL, IL-18, CXCL10, and clinical donor and recipient factors. If significant differences were found, cut-off values were set, and a prognostic analysis of delayed renal function was performed. Two prognostic models were constructed, including clinical data only and clinical data with biomarkers, as well as a comparative analysis of the models.

The study on delayed kidney function included 171 kidney transplants where biomarkers of the recipients were examined. We evaluated which clinical and demographic factors were known in the donors and recipients before transplantation and which recipient biomarker serum and urine KIM-1, NGAL, IL-18, CXCL9, and CXCL10, measured within the first day of transplantation, could predict the possibility of delayed graft function. Predictive models of delayed renal function were constructed by assessing serum and urine biomarkers separately and analyzing them together in the model. Differences in biomarkers collected after two days were compared between the groups with delayed and good renal function.

To assess the associations of donor biomarkers with late kidney function, we analyzed 72 kidney transplant recipients from 41 donors whose biomarkers had been tested before transplantation for participation in further study. We assessed donor biomarker associations with the recipients' eGFR at six months, one year, two years, and three years after transplantation.

Associations of recipients' biomarkers with late kidney function, were analyzed for 161 recipients who continued participating for more than three months after transplantation. The eGFR was assessed 3- and 12-months post-transplantation, when protocol renal biopsies were performed. The asso-

ciation of KDPI with kidney function at 1, 2, and 3 years was assessed. The association of biomarkers with histologically confirmed acute graft rejection rate was assessed. Patient and kidney survival were not analyzed in this study because, during the COVID-19 pandemic, some of the recipients were affected by this infection and needed to be corrected with immunosuppressive therapy. The reduced immunosuppression (starting with reduction or withdrawal of MMF, followed by TAC) and the severe course of the infectious disease resulted in significantly different survival outcomes at different time points.

Immunosuppressive treatment is administered using the procedure established by the Ministry of Health (Order No. V-759, 5 August 2011) and the kidney transplantation protocol approved by Kauno klinikos. For initial immunosuppression, methylprednisolone and mycophenolate mofetil were administered intravenously and orally, respectively, in cases of low and moderate immunological risk. In case of moderate or high immunological risk, monoclonal antibodies were administered before transplantation and on the fourth day after the operation. Cyclosporine is routinely administered post-transplant if a patient is at low immunological risk. If a patient is at moderate immunological risk, cyclosporine or TAC is administered. As the first choice of CNI TAC, it is prescribed for high immunological risk recipients. All patients receiving TAC at the Hospital of Lithuanian University of Health Sciences Kauno klinikos were provided an extended-release form of the medication, with an initial dose of tacrolimus (Advagraf, Dailiport) of 0.2 mg/kg/d (0.17 mg/kg/d for Envarsus). Tacrolimus trough levels (C_0) were used for therapeutic drug monitoring. The local Nephrology Department protocol recommends the following frequency of outpatient testing of the recipient's CNI levels: every two weeks for one month after hospital discharge; one or two times a month, depending on the patient's condition, from two to six months after kidney transplantation; once a month from six to twelve months after transplantation; and at least once every three months for one year after kidney transplantation. The target concentration is 6–15 ng/mL in the first three months and 5–10 ng/mL between three months and one year after kidney transplantation. During the study period, the testing frequency varied in the context of the COVID-19 pandemic in Lithuania and the resulting mobility restrictions, changes in the organization of work, and reduced outpatient visits due to the threat of infection.

During the study period, 190 patients were prescribed tacrolimus treatment. **The associations of TAC concentration monitoring parameters with graft function and histological changes analysis** included 174 subjects who were followed up by a nephrologist for more than three months after transplantation, received tacrolimus for immunosuppressive therapy, and had biomarker levels tested. We analyzed the associations of three methods of

monitoring TAC exposure and metabolism parameters: TAC trough level (*syn.* concentration of the minimum effective concentration of the drug) (TAC C₀), concentration/dose ratio (C/D), and the variability of tacrolimus through level in the blood (TAC C₀ CV) with acute rejection, eGFR at one, two, and three years after renal transplantation. Data on TAC C₀ at the 3-, 6-, 12-, 24-, and 36-month time points tested according to the transplant protocol were included in the analysis. The TAC concentration/dose ratio was calculated by dividing the drug concentration by the dose administered, with the result expressed as µg/L/mg.

To calculate the variability (CV) in TAC C₀, additional information was collected on all TAC concentrations tested during the 6–12-month study period. The TAC C₀ CV was calculated from at least three concentration values per patient according to the following formula: CV (%) = (SD/mean) × 100 (where SD is the standard deviation), with the results expressed as a percentage. Tertiles of concentrations were calculated for the analysis, assuming from the results of other authors' studies that the highest peak tertile may be associated with worse outcomes.

To analyze the association of potential clinical factors (donor and recipient age, donor creatinine, immunological risk, presence of cold ischemia, DGF), biomarkers, and TAC monitoring methods with kidney rejection in the first year after transplantation, we divided the subjects into two groups according to the presence of this complication. The association of TAC monitoring methods with transplanted kidney function at one, two, and three years was analyzed using donor and recipient clinical factors in the model. Based on eGFR values, the subjects were divided into eGFR > 60 mL/min/1.73 m² (an indicator of good graft function) and < 60 mL/min/1.73 m² groups.

The study on the association of tacrolimus exposure and metabolism parameters with chronic histological changes in protocol renal biopsies included 131 patients with zero biopsies and at least one protocol biopsy after three months or one year. According to the Banff classification of the National Centre for Pathology [16], the progression of interstitial fibrosis and tubular atrophy (IF/TA) and chronicity score on repeat biopsies were analyzed. Interstitial inflammation (i) was assessed with an i-score ≥ 1, and biopsies without mononuclear infiltration of the renal stroma (i-score = 0) were classified as without signs of inflammation. The chronic lesion score was calculated as the sum of glomerular basement membrane contour doubling (cg), interstitial fibrosis (ci), tubular atrophy (ct), vascular fibrous intima thickening (cv), mesangial matrix expansion (mm), and arterial hyalinosis (ah) [17]. The IF/TA score (ci + ct) was calculated for each biopsy, and progression was defined as the sum of the ci + ct scores ≥ 1 (scale 0 to 6) compared with the ci + ct of the previous biopsy. In this study, patients were

divided into an IF/TA progression group (ci+ct in the protocol biopsy was higher than in the zero-time biopsy) and an IF/TA non-progression group (there was no difference in the ci+ct scores between biopsies). In the case of an uninformative donor kidney biopsy, the recipient was assigned the result of another kidney biopsy from the same donor. The association of the investigated TAC therapeutic monitoring methods and biomarkers with chronic changes in biopsies was analyzed.

Statistical analysis of data

Statistical analysis was performed using SPSS, version 29.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA) and MedCalc (Statistical Software Ltd., version 22.016, Ostend, Belgium). Quantitative, continuous variables were tested and analyzed according to their Gaussian distribution. The distribution was analyzed via histogram and the Kolmogorov–Smirnov test and, in the donor marker sample, via the Shapiro–Wilk test. Continuous variables satisfying normality conditions were described as mean and standard deviation (mean (SD)), while non-parametric variables were described as median and 25–75 interquartile range or minimum and maximum values. Qualitative attributes were described in absolute numbers (n) with percentages (%). The Student's *t*-test was used to compare normally distributed independent variables. The Mann–Whitney test was used to analyze non-parametric continuous variables. The Wilcoxon test was used to compare paired variables with normal distribution. The Friedman and Wilcoxon tests were used to assess the dependent samples' quantitative and qualitative characteristics. Differences in categorical variables between the groups were assessed using the chi-square (χ^2) test. Spearman's correlation coefficient was calculated to assess the correlation between quantitative variables that did not follow a normal distribution. The relationship was considered weak for $r < 0.3$, moderate for $0.3 \leq r \leq 0.7$, and strong for $r > 0.7$. The assessment of prognostic values was performed using ROC curves. Based on these, cut-off values were derived using the Youden index to obtain the relationship between the sensitivity and specificity of the value. The area under the ROC curve (AUC) was used to indicate the precision of the analysis, with a value close to 1.0 indicating a high diagnostic accuracy. The Delong test was used to compare the predictive value of the ROC curves. A log transformation of the biomarker values was performed in the donor factor analysis to obtain their Gaussian distribution, and a linear regression analysis was performed.

Univariate binomial logistic regression analysis was performed, and factors with prognostic value for renal function were selected. Factors with $p < 0.05$ in the univariate analysis were used to construct multivariable

logistic regression models. These models were constructed using the variable elimination method and considering the multicollinearity of prognostic variables. In the multivariate logistic regression analysis, variables with $p < 0.05$ were considered significant prognostic factors. Their odds ratios (ORs) with 95% confidence intervals (95% CI) were calculated. A p -value < 0.05 was chosen as statistically significant.

RESULTS OF THE RESEARCH

Main characteristics of the studied sample

Demographic and clinical data on deceased kidney donors

The kidneys from 119 deceased donors were transplanted into 202 recipients. Most of the donors' kidneys were prepared at Hospital of Lithuanian University of Health Sciences Kauno klinikos, and 19 donors were prepared at other hospitals and transplanted to 31 recipients. Transplantations were performed from 114 (56.4%) male and 88 (43.6%) female kidney donors. The average age of the donors was 50.82 (15.9) years, with female donors being older than male donors (55.68 years *vs.* 47.1 years). Seven donors were younger than 18 years old, of whom 10 kidneys were transplanted. Among them, the youngest donor was two years old, with both kidneys transplanted en bloc, the oldest donor was 16 years old, with two kidneys transplanted. The mean age of the adult donors was 52.89 (13.4) years, with a median age of 53.5 years. Eight (4%) kidneys were transplanted from six donors after circulatory death, with a median age of 46.5 (40–59) years, and the creatinine levels were in the normal range in three cases. Among both sexes, cerebrovascular pathology was the predominant cause of brain death (73.2%), with a significantly higher prevalence in women (88.6% *vs.* 61.4%). Women were less likely than men to have suffered a traumatic brain injury leading to death (5.7% *vs.* 22.8%). Half (50%) of the donors met the ECD criteria, 65.6% of whom were aged 60 years or older. Elevated creatinine to 133 μmol or more was present in 19 (18.8%) donors in this group. There was no significant difference in creatinine between the ECD and standard criteria donors ($p = 0.513$). Almost one-fifth (21.7%) had a KDPI of 80% or more. More female donors were assessed as ECD (55.4% *vs.* 44.6%). They had significantly higher median KDPI (66% *vs.* 49%) and KDRI (1.2 *vs.* 1.0). Body mass index (BMI) was only calculated for adults due to different measurement methodologies for children. The mean BMI for donors over 18 was 26.69 (4.26) kg. A total of 57.4% of the donors had a BMI above normal, of whom 18.3% fulfilled the criteria for obesity (BMI $> 30 \text{ kg/m}^2$). ECD had a higher BMI than standard criteria donors (27.68 (20.5–43.8) *vs.* 24.66 (15.2–34.3)),

$p < 0.001$). The last known serum creatinine was significantly lower in female donors than in male donors (76.66 (32.16) vs. 105.16 (55.77)). The donors' gender-specific norms (for men, 59–104 $\mu\text{mol/L}$; for women, 45–84 $\mu\text{mol/L}$) exceeded 30.7% of men and 35.2% of women. The ECD value (creatinine $\geq 133 \mu\text{mol/L}$) was met by 13.9% ($n = 28$) of donors. Diuresis on the last day, urine protein, and cold ischemia time were not significantly different between genders.

Demographic and clinical characteristics of deceased donor kidney transplant recipients

Data analysis was carried out on 202 recipients. During the study period, 30 recipients left for further treatment at another transplant center, 21 died, and 11 developed end-stage renal failure requiring dialysis. A total of 15 (7.4%) recipients were followed up for one month or less. A total of 101 recipients were followed for three years. Men underwent kidney transplantation more often ($n = 123$, 60.9%) than women ($n = 79$, 39.1%). The patients' mean age at transplantation was 49.04 (12.63) years; the youngest was 20 years old, and the oldest was 76 years old. More than half (50.4%) of the recipients were over 50 years of age, of whom one-fifth (20.3%) were 60 years and older. There was no significant age difference between genders ($p = 0.624$). Chronic glomerulonephritis was the most common pathology leading to stage 5 chronic kidney disease (38.1%). Polycystic kidney disease and chronic pyelonephritis were more common in women than in men (20.8% vs. 12.9%) and (13.8% vs. 2.5%). Diabetic kidney disease was diagnosed in 10.4% of patients, and hypertensive nephropathy was the least common cause (7.4%). Diabetes mellitus accounted for 10.9% of recipients. Most recipients (79.7%) were diagnosed with arterial hypertension and were taking between one (15.8%) and five to six hypotensive medications (11.4%). More than half of the recipients ($n = 108$; 53.5%) had a BMI above normal, of whom 19.8% ($n = 70$) met the criteria for obesity (BMI $> 30 \text{ kg/m}^2$). Most patients were on hemodialysis before transplantation (86.1%) and, less frequently, on peritoneal dialysis (10.4%). In seven recipients, transplantation was the first renal replacement therapy. The mean number of months on dialysis prior to transplantation was 29.04 (25.6) months (median 22 months), with a significant difference in the duration of treatment between patients, which ranged from 1 month to 171 months. A quarter (25.1%) of the patients had been on dialysis for less than one year. A total of 20 patients (9.9%) were on dialysis for five years or more. From the time of inclusion on the waiting list for a kidney transplant, the patients waited between 5 days and 2061 days, with a median of 204 days. In the first year, 68.9% of the recipients received a transplant, and 13 patients (6.4%) waited longer than three years. Most patients (92.1%) underwent a first kidney transplant, and 7.9% underwent a repeat

transplant. A second transplant was performed in 5.4% of cases, a third transplant in 2%, and a fourth operation in one (0.5%) recipient. Most recipients were assessed as being at moderate immunological risk (76%), with equal proportions (12% each) assessed as being at normal and high risk. There was no significant difference in immunological risk between genders ($p = 0.336$). During the study period, the early post-transplant course was complicated by delayed renal function in 33.2% ($n = 67$) of recipients, 38.2% of men, and 25.3% of women, with no significant difference in the distribution of this complication between genders ($p = 0.057$). These patients underwent between 1 and 25 hemodialysis, with a median of 3 hemodialysis. All recipients received three groups of drugs for immunosuppressive therapy: methylprednisolone, mycophenolate mofetil, and a calcineurin inhibitor (cyclosporine or extended-release tacrolimus). Most patients were treated with TAC (91.6%). During the study period, 15 patients (7.4%) changed from one calcineurin inhibitor to another due to complications or side effects. Cytomegalovirus infection was treated in 24 cases (13.8%), polyoma BK virus infection was treated in 7 cases (4%), and immunosuppressive drugs, including tacrolimus, were reduced during the infections.

The analysis of the association of kidney donor biomarkers and clinical factors with delayed graft function included 43 kidney donors with biomarker testing and 76 recipients with kidney transplantation from these donors. A total of 75 patients underwent zero-time biopsies. None of the biopsies showed significant renal tubular lesions such as tubulitis or acute tubular necrosis. The mean age of the recipients was 46.92 (13.39) years. A total of 70.9% of patients were assessed as being at moderate immunological risk. Only three patients had PRA > 50% in the last year. In recipients, the HLA mismatch in 0–2 antigens was 35% and 64.5% in 3–5 antigens. Monoclonal antibodies were administered for initial immunosuppression in 81.6% of cases. All patients received standard treatment with mycophenolate mofetil, a calcineurin inhibitor (tacrolimus in 78.8% or cyclosporine in 21.1%). In this group, the clinical course was complicated by delayed renal function in 27.6% of the patients, whereas this complication was not observed after *pre-emptive* transplantation. The patients were divided into groups according to the presence of delayed kidney function. There was no significant difference in the cause of death ($p = 0.078$), donor gender ($p = 0.839$), mismatch in terms of HLA ($p = 0.635$), or immunological risk assessment ($p = 0.112$). Creatinine was higher in the delayed renal function group before explantation but not significantly ($p = 0.511$).

sNGAL, uIL-18, serum, and urinary CXCL10 did not differ between the delayed and good renal function groups. At the same time, significant differences were found in the levels of all the other markers in the delayed and good renal function groups. Data shown in Table 1.

Table 1. Kidney donor and biomarker characteristics, stratified by delayed graft function

Characteristics	IGF (n = 55)	DGF (n = 21)	p value
Donor age, years*	49.65 (14.4)	59.9 (7.0)	0.003
Donor gender male/female (%)	54.5/45.5	57.1/42.9	0.839
Cerebrovascular death cause (%)	70.9	76.2	0.778
History of hypertension (%)	50.9	66.7	0.303
Expanded criteria donors (%)	41.8	76.2	0.007
KDPI, %*	50.36 (26.6)	71.85 (19.8)	0.02
KDPI > 80 (%)	13	45	0.018
sNGAL, pg/mL	25496.1 (13583.0–42939.6)	44460.5 (15664.3–62027)	0.140
sIL-18, pg/mL	162.97 (108.18–243.3)	298.1 (160.6–380.5)	0.006
sKIM-1, ng/mL	224.8 (111.5–352.7)	283.0 (223.6–827.8)	0.010
sCXCL10, pg/mL	39.61 (29–98.9)	41.49 (29.0–134.5)	0.614
uNGAL, pg/mL	1219.1 (821.9–1219.1)	2921.7 (1208.4–5766.4)	0.047
uIL-18, pg/mL	9.7 (3.3–17.6)	14.3 (6.0–23.4)	0.25
uKIM-1, ng/mL	1.4 (0.7–3.97)	3.2 (2.4–6.5)	0.014
uCXCL10, pg/mL	31.1 (19.4–49.8)	27.1 (19.6–107.1)	0.774

CXCL10 – C-X-C-motif chemokine 10 (serum, urine), DGF– delayed graft function, IGF – immediate graft function, IL-18 – interleukin-18 (serum, urine), NGAL – neutrophil gelatinase associated lipocalin, KDPI – kidney donor profile index, KIM-1 – kidney injury molecule-1 (serum, urine). Values are presented as medians (interquartile ranges), means* (SD) or n (%).

Predictive performances of biomarkers for delayed graft function

The diagnostic performances of biomarkers for predicting DGF were assessed using ROC curve analysis. sIL-18, sKIM-1, uNGAL, and uKIM-1 were identified as significant predictors of DGF, whereas serum NGAL ($p = 0.150$), urine IL-18 ($p = 0.222$), sCXCL10 ($p = 0.648$), and uCXCL10 ($p = 0.794$) were not. The diagnostic performance of the biomarkers' area under the receiver operating characteristic curve (AUC) with optimal cut-off values for risk of DGF is shown in Table 2.

Table 2. Diagnostic performance of biomarkers for delayed graft function

Biomarker	AUC (95% CI)	p-value	Sensitivity/ Specificity (%)	Biomarker cut-off values, pg/mL	OR (95% CI)	p-value*
sIL-18	0.706 (0.577–0.835)	0.002	90 (46.6)	147.3	3.462 (1.665–36.906)	0.003
sKIM	0.694 (0.562–0.826)	0.004	95 (35.71)	161.3	10.0 (1.246–80.245)	0.009
uKIM-1	0.710 (0.574–0.846)	0.002	93.8 (53.7)	1.2	9.5 (1.158–77.908)	0.014
uNGAL	0.717 (0.5914–0.8217)	0.001	87.5 (53.1)	1161.3	7.913 (1.623–38.352)	0.008

AUC: receiver operating characteristic curve. CI: confidence interval; *Pearson chi-square test. OR: odds ratio.

Univariate and multivariate logistic regression analyses were performed to identify potential donor risk factors that predict the possibility of delayed graft function. The univariate logistic regression analysis showed that donor age, ECD, KDPI, cold ischemia time, and serum and urine KIM-1 and sIL-18 were significantly associated with DGF, and there was not statistically significant ($p = 0.087$) association between uNGAL and this complication. The multivariate logistic regression analysis demonstrated that the reduced best-fit model may be useful in deciding on the suitability of a donor's kidney (included donor evaluation) and one of the biomarkers (sIL-18, or uIL-18, or uKIM-1). Donor age is included in the composition of the ECD definition and is, therefore, not included in the model. The prognostic model for DGF was improved by adding recipients' important clinical data (confirmed in the univariate analysis) (Table 3). The biomarkers strongly correlated with each other; thus, it was possible to include only one biomarker in a model.

Table 3. Univariate and multivariate logistic regression analyses for the predictors of delayed graft function

	Univariate				Multivariate			
	β -coefficient	OR	95% CI	p-value	β -coefficient	OR	95% CI	p-value
Donor age, years	0.77	1.080	1.022–1.141	0.006				
Expanded criteria donors	1.583	4.87	1.567–15.13	0.006	2.204	9.016	2.04–40.23	0.004
Cold ischemia time, hours	0.193	1.213	1.062–1.385	0.004	0.278	1.320	1.074–1.624	0.008
Donor creatinine ($\mu\text{mol/L}$)	0.007	1.007	0.993–1.022	0.322				
KDPI, %	0.036	1.037	1.012–1.062	0.004				
Log-transformed sIL-18	2.819	16.765	1.732–162.283	0.015	1.998	0.136	0.022–0.824	0.030
Log-transformed sKIM	2.423	11.279	1.802–70.603	0.010				
Log-transformed uKIM-1	2.812	16.645	1.703–162.707	0.016	2.50	12.178	1.226–120.975	0.033
Log-transformed uNGAL	1.127	3.085	0.849–11.209	0.087				

KDPI – kidney donor profile index, sIL-18 – serum interleukin-18, sKIM-1 – serum kidney injury molecule-1, uKIM-1 – urine kidney injury molecule-1, uNGAL-urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin. B regression coefficient, CI – Confidence Interval; OR – odds ratio. Biomarkers values log-transformed.

The AUROC of clinical data (donor evaluation, duration of recipient’s dialysis, cold ischemia time) added to the above biomarkers showed better diagnostic performance than using the clinical data alone (0.825, 95% CI: 0.702–0.948, $p = 0.037$ vs. 0.765 (95% CI: 0.766–0.930, $p < 0.001$)). The model comparison using the Delong test is shown in Fig. 2. Difference between areas = 0.0872; $p = 0.0324$ in DeLong test (95% CI: 0.00731–0.167).

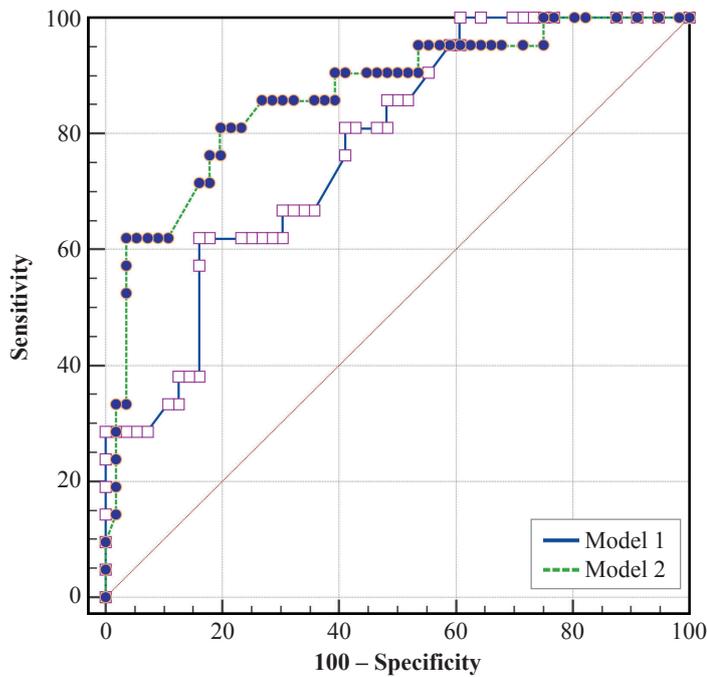


Fig. 2. Comparison of diagnostic accuracy of the receiver-operating characteristic curves of the reduced best-fit models with and without biomarkers

Model 1 – donor evaluation (ECD or SCD) and cold ischemia time. Model 2 – donor evaluation (ECD or SCD), cold ischemia time, and biomarkers uKIM-1 and sIL-18.

In comparison, including KDPIs instead of ECD made the prediction model slightly less accurate (AUC 0.746, 95% CI: 0.597–0.896, $p = 0.05$).

Study the association of recipient biomarkers and clinical data with delayed graft function. In this part of the study, we analyzed the data of 171 recipients who underwent biomarker testing on the first day after transplantation. During the study period, delayed renal function complicated the early post-transplant course in 33.9% ($n = 58$) of recipients.

The number of HLA mismatches in assessing the outcomes according to early renal function did not differ significantly between groups ($p = 0.766$), and four or five HLA mismatches were present in 39.7% ($n = 23$) of patients with DGF. PRA titers in the last year before transplantation were not significantly different ($p = 0.124$).

In the delayed graft function group, patients had longer dialysis treatment (median 25.5 months (3–134 months) vs. 21 months (1–171 months, $p = 0.04$)) and longer waiting times for kidney transplantation ($p = 0.046$). Using the ROC analysis, we found that the cutoff duration of hemodialysis was

> 29.5 months (area under the curve, 59.5%; sensitivity, 42.8%; specificity, 72.7%).

The differences in biomarkers between the immediate and DGF groups are shown in Table 4. In the biomarkers samples taken six hours after transplantation, there was a significant difference between DGF and the IGF groups of serum NGAL ($p = 0.006$), KIM-1 ($p = 0.022$), and urine NGAL ($p = 0.03$). Repeated biomarker testing showed a significant difference in serum NGAL levels ($p = 0.041$) between the subjects who progressed with delayed renal function and those who no longer required dialysis. Significant differences were found between the groups for uNGAL ($p = 0.013$), uKIM-1 ($p = 0.024$), uIL-18 ($p = 0.029$), and uCXCL9 ($p = 0.048$). No significant differences were found between the groups for the other biomarkers tested.

Table 4. Associations of recipients' biomarker values within the first day to delayed graft function

Biomarker	IGF	DGF	p-value
6 hours post-transplant			
sNGAL, pg/mL	39480 (20577–55707)	54825 (40116–81723)	0.006
sKIM-1, pg/mL	252.8 (186.9–386.7)	295.5 (209.7–553.9)	0.022
sIL-18, pg/mL	211.03 (124.4–304.0)	179.7 (131.1–251.8)	0.263
sCXCL10, pg/mL	29 (20.6–41.9)	29 (21.9–89.1)	0.262
uNGAL, pg/mL	5121.1 (2892–10445.1)	10311 (4708.9–18410.5)	0.030
uKIM-1, pg/mL	1.21 (0.57–2.14)	1.24 (0.51–2.79)	0.953
uIL-18, pg/mL	13.19 (5.2–30.5)	26.69 (3.52–45.8)	0.516
uCXCL10, pg/mL	26.49 (15.66–52.4)	21.21 (14.058–40.43)	0.544
12 hours post-transplant			
sNGAL, pg/mL	36091 (20043–50494)	46379 (33007.5–65496.1)	0.041
sKIM-1, pg/mL	268.7 (201.5–427.0)	258.2 (201.1–345.69)	0.325
sIL-18, pg/mL	201.7 (125.61–296.71)	166.34 (123.89–235.98)	0.229
sCXCL10, pg/mL	29 (23.9–47.3)	29 (24.7–271.2)	0.178
uNGAL, pg/mL	4730.8 (3599.1–9410)	8665.9 (5233.1–17285)	0.013
uKIM-1, ng/mL	1.65 (1.05–2.42)	2.32 (1.22–2.74)	0.024
uIL-18, pg/mL	2.56 (0.99–8.4)	7.0 (2.1–9.3)	0.029
uCXCL9, pg/ml	2239.5 (1197.6–5704.4)	4573.7 (1772.4–8791.8)	0.048
uCXCL10, ng/ml	35.49 (19.64–64.07)	42.66 (22.13–121.89)	0.232

Values are presented as median (interquartile ranges).

An ROC analysis was performed for biomarkers with significantly different concentrations in the groups analyzed to assess the prognostic value of delayed renal function and determine cut-off values. The data are shown in Table 5.

Table 5. Diagnostic performance of biomarkers for delayed graft function

Biomarker cut-off values	AUC (95% CI)	Sensitivity/Specificity (%)	p-value
sKIM-1, 6 hours 467.94 pg/mL	66.4	56.0 81.0	< 0.001
sNGAL, 6 hours 41783 pg/mL	69.8	81.6 54.9	< 0.001
uNGAL, 6 hours 6834.7 pg/mL	66.3	65.0 64.5	< 0.019
sNGAL, 12 hours 32341 pg/mL	74.8	66.7 79.6	0.009
uKIM-1, 12 hours 1.963 ng/mL	65.1	69.0 62.9	0.015
uNGAL, 12 hours 4831 pg/mL	68.4	82.6 55.2	0.005
uIL18, 12 hours 3.9905 pg/mL	65.2	64.9 63.9	0.023
uCXCL9, 12 hours 3565.3 pg/mL	62.0	60.6 64.5	0.039

The chemokine CXCL9 was found to be of prognostic value in predicting delayed renal function (area under the curve. 62%; sensitivity. 60.6%; specificity, 64.5%; $p = 0.039$).

The ROC curves of urinary biomarkers KIM-1, NGAL, and IL-18 tested 12 hours after transplantation were compared using the DeLong test, and no significant difference was found between them. The difference in areas under the curves between KIM-1 and NGAL was 0.0346, $p = 0.7462$, the difference in areas under the curves between KIM-1 and IL-18 was 0.104, $p = 0.2953$, and the difference in areas under the curves between NGAL and IL-18 ROC curves was 0.0691, $p = 0.5451$, shown in Fig. 3.

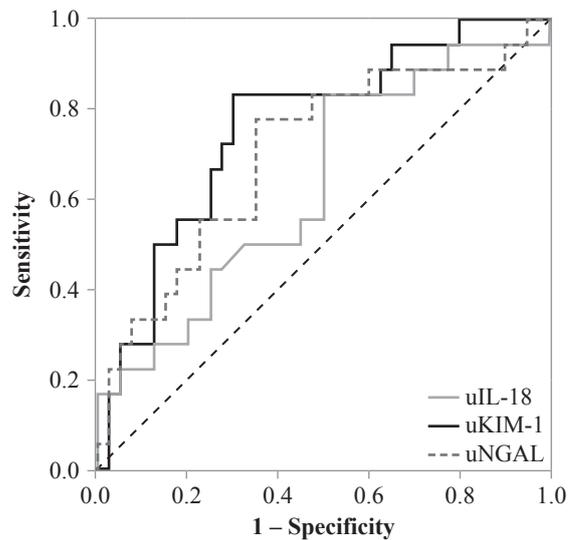


Fig. 3. ROC curves of KIM-1, IL-18, and NGAL tested in urine 12 hours after transplantation in the prediction of delayed graft kidney function

Using bivariate logistic regression analysis, we identified recipient biomarkers and potential transplant-related factors predicting the likelihood of delayed graft function. Of the known clinical data of patients before transplantation, the duration of cold ischemia and donor age had the highest predictive value. If the duration of cold ischemia was extended more than 16.57 h, the odds ratio for a course complicated by delayed renal function was found to be 4.135 higher (95% CI: 2.226–7.683; $p < 0.001$). For a donor kidney transplanted from a donor over 47 years old, the OR was 2.769 higher (95% CI: 1.38–5.557; $p = 0.004$) for a course of delayed function of the transplanted kidney. A KDPI higher than 52%, indicating being slightly less than the donor age, increased the OR for delayed kidney function by 2.489 (95% CI: 1.327–4.6710; $p = 0.005$) vs. 2.769 (95% CI: 1.38–5, $p = 0.004$), but increased the OR estimates compared to the expanded criteria donors (1.971 (95% CI: 1.085–3.582; $p = 0.026$)).

Models predicting delayed graft kidney function based on known pre-transplant donor and recipient factors were developed by adding biomarker values that differed significantly between groups within the first day of early kidney function. To avoid the multicollinearity of the model regressors, we performed a correlation analysis of the factors predicting delayed renal function in univariate logistic regression. Donor age is one of the criteria for ECD evaluation. Donor age, height, weight, and cause of death were included in the formula for calculating the donor profile index, and these factors were strongly correlated. NGAL at six hours correlated with values at follow-up,

so separate prognostic models were constructed with the biomarkers tested at different times.

Multivariable logistic regression analysis models predicting delayed kidney function in transplanted kidneys were constructed, including factors identified as significant in the univariate logistic regression analysis. Due to the multicollinearity of the regressors, the models were ran separately including the following critical clinical criteria: donor age, rating as expanded criteria donor, and KDPI.

A final multivariable regression analysis model including donor age was constructed, which significantly predicted delayed graft function at six hours post-transplantation with serum and urine biomarkers (Nagelkerke $R_2 = 0.317$; overall predictive value 79.4%). After an evaluation of the associations between dialysis duration, donor BMI, biomarker thresholds, and the presence of repeat kidney transplantation, the following factors remained significant factors: donor age > 47 years, cold ischemia time > 16.57 hours, duration of dialysis month > 29.5 months and uNGAL > 6834.7 pg/mL.

Table 6. Multivariable binomial logistic regression analysis model predicting delayed grafted kidney function based on donors' clinical factors and recipients' biomarkers at 6 hours post-transplantation

Characteristics	OR (95% CI)	p-value
Donoro age < 47 years > 47 years	1 6.61 (1.693–25.804)	0.007
Cold ishemia time < 16.57 hours > 16.57 hours	1 3.740 (1.279–10.935)	0.016
uNGAL, 6 hours < 6834.7 ng/mL > 6834.7 ng/mL	1 3.872 (1.245–12.043)	0.019
Duration of dialysis < 29.5 month > 29.5 month	1 2.753 (0.864–8.772)	0.087
Constant	-3.747	p < 0.001

A final best multivariable binomial regression analysis model was constructed, which significantly predicted delayed graft function at 12 hours post-transplantation with serum and urine biomarkers (Nagelkerke $R_2 = 0.301$; overall predictive value, 76.5%). After an evaluation of the associations between donor BMI, serum and urine biomarker thresholds, and the presence of repeat kidney transplantation, the following factors remained significant

factors: **donor age > 47 years, cold ischemia time > 16.57 hours, sNGAL > 32341 pg/mL** (Table 7).

Table 7. Multivariable binomial logistic regression analysis model predicting delayed grafted kidney function based on donors' clinical factors and recipients' biomarkers at 12 hours post-transplantation

Characteristics	OR (95% CI)	p-value
Donoro age < 47 years > 47 years	1 2.88 (1.028–7.028.804)	0.044
Cold ishemia time < 16.57 hours > 16.57 hours	1 5.094 (2.18–11.90)	< 0.001
sNGAL, 12 hours < 32341 pg/mL > 32341 pg/mL	1 2.688 (1.028–7.028)	0.016
Duration of dialysis < 29.5 months > 29.5 months	1 2.888 (1.128–7.369)	0.027
Constant	–3.258	< 0.001

Associations of donor factors with aGFR in the late period after kidney transplantation

No significant correlations were found between donor creatinine and recipient kidney function at 3 years post-transplant. In the analysis of other biomarkers, only uKIM was significantly negatively correlated with eGFR during the entire follow-up period: 1 month, ($r = -0.415$, $p = 0.03$), 3 months, ($r = -0.359$, $p = 0.01$), 6 months, ($r = -0.361$, $p = 0.009$), 1 year ($r = -0.329$, $p = 0.026$), 2 years ($r = -0.358$, $p = 0.02$), and 3 years ($r = -0.457$, $p = 0.004$) post-transplantation, *indicating that more damage to the donor kidney is associated with worse function of the transplanted kidney*. NGAL did not correlate with eGFR in the early post-transplant period, but correlations were found between sNGAL and eGFR at 6 months ($r = 0.251$, $p = 0.063$), 1 year ($r = 0.251$, $p = 0.063$), and 2 years ($r = 0.251$, $p = 0.063$). The correlation between sNGAL and renal function was observed at 1 year ($r = 0.263$, $p = 0.037$), 2 years ($r = 0.369$, $p = 0.004$), and three years ($r = 0.329$, $p = 0.017$), while uNGAL was correlated with renal function at 1 year ($r = 0.308$, $p = 0.045$).

In linear regressions, **higher KDPI** and **KDRI** were significantly associated with **worse kidney function** in all cases studied from 1 month to 3 years ($p < 0.001$).

The strong correlation between KDPI and donor age led to the choice to analyze further the currently routinely assessed factor in the models, donor age. Univariate linear regression analysis showed a significant inverse association between **uKIM-1** and renal function at 6 months (β -coefficient = -0.361 , 95% CI: -48.11 – (-37.129) , $p = 0.009$). However, this association was no longer significant in the multivariable analysis.

Ischemia time, and **uNGAL** remained significant predictors of 1-year graft in univariate linear regression analysis, donor age, KDPI, cold ischemia time, DGF, **uKIM-1**, **serum**, and **urine NGAL** were significantly associated with **one-year** aGFR. The coefficient of determination of the models was $R^2 > 0.25$. The data are presented in Table 8. Multivariate linear regression analysis showed that donor age, cold function.

Table 8. Univariate and multivariate linear regression analyses based on donors' clinical factors in predicting one-year graft functioning

	Univariate			Multivariate		
	β -coefficient	95% CI	p-value	β -coefficient	95% CI	p-value
Donor age, years	-0.437	-0.926–(-0.290)	< 0.001	-0.50	-1.056–(-0.288)	0.01
Donor creatinine, μ mol/L	0.062	-0.111–0.184	0.624			
Cold ischemia time, hours	-0.317	-2.742–(-0.375)	0.011	-0.298	-3.288–(-0.92)	0.039
Dialysis vintage, months	-0.062	-24.439–(-2.776)	0.015			
DGF	-0.304	-25.5–4.739	0.175			
Log-transformed sKIM	-0.176	0.803–24.852	0.026			
Log-transformed sNGAL	0.263	0.325–22.732	0.044	0.32	1.362–24.084	0.029
Log-transformed uNGAL	0.302	-38.88–(-2.66)	0.026			
Log-transformed uKIM	-0.329	-24.439–(-2.776)	0.015			

Univariate linear regression analysis showed that **sNGAL** and **uKIM-1** were significantly associated with **2-year** aGFG (β -coefficient for sNGAL = 0.349 , $p = 0.004$; β -coefficient for uKIM-1 = -0.358 , $p = 0.020$), but the significance was not confirmed in the multivariable analysis. Significant marker associations were found between transplanted kidney function at 3 years and **sNGAL** (β -coefficient = 0.346 , 95% CI: 3.937 – 31.572 , $p = 0.013$) and **uKIM-1** (β -coefficient = -0.457 , 95% CI: -51.806 – 10.685 , $p = 0.004$) in a univariate linear regression analysis. In multivariate linear regression analysis, higher donor age and longer duration of cold ischemia were associated

with lower aGFG at **three years**, while higher sNGAL levels (β -coefficient = 0.289, 95% CI: 0.334–30.84, $p = 0.045$) remained a significant predictor of better renal function.

Associations of recipient biomarkers with transplanted kidney function and histological changes in surveillance biopsies

After 3 months, 161 recipients continued to participate in the study, and after 1 year, 149 recipients were followed up with biomarker testing. Higher sKIM-1 at 3 months was found to correlate with worse renal function: 3 months sKIM-1 correlated with 3 months aGFG ($r = -0.246$, $p = 0.007$), 6 months aGFG correlated with 6 months aGFG. aGFG ($r = -0.246$, $p = 0.018$), aGFG at 2 months ($r = -0.324$, $p = 0.004$), aGFG at 3 years ($r = -0.367$, $p < 0.001$), and at 1 year, sKIM-1 correlated with aGFG at 1 year. Higher uNGAL correlated with lower aGFG at 1 months ($r = -0.444$, $p = 0.03$) and 2 months ($r = -0.427$, $p = 0.042$), but logistic regression analysis showed no significant associations between markers and renal function when distinguishing between eGFR < than 60 mL/min/1.73 m² and > than 60 mL/min/1.73 m².

The study analysed data from 131 patients with zero-time biopsies and at least one protocol biopsy. No significant associations were found between biomarkers and abnormalities in zero-time kidney biopsies. Serum NGAL tested at the time of surveillance biopsies correlated with inflammatory changes (i) in biopsies at 3 months ($r = 0.317$, $p = 0.006$) and with inflammation in combination with tubulitis (i + t) ($r = 0.314$, $p = 0.006$). uNGAL correlated with IF/TA score ($r = 0.303$, $p = 0.046$) and chronic lesion score ($r = 0.347$, $p = 0.021$), but these associations were not significant in the 1-year biopsies. Of all markers studied, only sNGAL at 3 months was associated with IF/TA progression at 1-year follow-up biopsy (OR 0.149, 95% CI: 0.027–0.815, $p = 0.028$). There were no significant associations between tested urinary NGAL and KIM-1 and the other biomarkers tested with IF/TA progression.

Associations of biomarkers and acute rejection

In the first year after transplantation, 25 patients (12.4%) were diagnosed with biopsy-confirmed acute rejection episodes, with 12 (6.5%) occurring in the first month. All patients received treatment with tacrolimus. Similarly, 25 patients (12.4%) were diagnosed with histologically confirmed acute rejection episodes in the first year after transplantation, with 12 (6.5%) occurring in the first month. All patients were treated with tacrolimus. When assessing the association of donor biomarkers with the acute rejection rate, no significant associations ($p > 0.05$) were found with any donor biomarkers analyzed

in this study. In the first year, there were significant correlations between the rejection rate and the recipient's sNGAL levels after 6 hours ($r = 0.258$, $p = 0.007$) and after 12 hours ($r = 0.302$, $p < 0.001$) on the first day after transplantation. Additionally, uCXCL9 levels on the second day after transplantation showed a correlation ($r = 0.297$, $p = 0.047$). Furthermore, uCXCL10 levels at 12 hours ($r = 0.270$, $p = 0.006$), on the second day ($r = 0.244$, $p = 0.005$), and the 12th-day post-transplant ($r = 0.358$, $p < 0.001$) were highly correlated with acute rejection. No significant associations were found for chemokines at three months and one year when tested with protocol biopsies. Analysis of the association of recipient biomarkers with acute rejection in the first year showed significant correlations between the acute rejection rate and the recipient's first-day sNGAL (after 6 h). $r = 0.258$, $p = 0.007$, after 12 h $r = 0.302$, $p < 0.001$, uIL-18 ($r = 0.196$, $p = 0.048$), and on the second day after transplantation uCXCL9 ($r = 0.297$, $p = 0.047$). The uCXCL10 tested at 12 h ($r = 0.270$, $p = 0.006$), the second ($r = 0.244$, $p = 0.005$), and the 12th-day post-transplant ($r = 0.358$, $p < 0.001$) were the most highly correlated with rejection. No significant associations were found for chemokines at three months and one year when tested with protocol biopsies.

Study of the associations between tacrolimus exposure and metabolic parameters and graft outcomes

Logistic regression was performed to assess the association of tacrolimus concentration parameter monitoring with graft function at one, two, and three-years' post-transplantation. Patients were divided into two groups: $eGFR > 60 \text{ mL/min/1.73 m}^2$ and $eGFR < 60 \text{ mL/min/1.73 m}^2$. The univariate logistic regression analysis showed that **TAC C₀** (OR 0.84, 95% CI: 0.725–0.972, $p = 0.019$) and **type of fast metabolizer type at the sixth month** (OR: 2.141, 95% CI: 1.044–4.389, $p = 0.038$) were significantly associated with the presence of **lower eGFR at one year post-transplantation**, in addition to the following clinical factors: donor age, donor hypertension, duration of pre-transplant renal replacement therapy, cold ischemia time, angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors, and progression of IF/TA on follow-up biopsies were significantly associated with *one year* eGFR.

The univariate analysis of graft function at *two years* found that **TAC C₀ and fast metabolizer type at six months** and several clinical factors (donor age, the presence of hypertension, donor evaluation, rejection during the first year, higher IF/TA, and chronicity scores in one year surveillance biopsy were significantly associated with two years $eGFR < 60 \text{ mL/min/1,73 m}^2$. In the multivariate logistic regression, fast TAC metabolizer type at six months

remained a significant graft function predictor with donor age and chronicity score, as shown in Table 9.

Table 9. Univariate and multivariate logistic regression prognostic analyses of transplanted kidney function (eGFR < 60 mL/min/1.73 m²) at 2 years

	Univariate			Multivariate		
	OR	95% CI	p-value	OR	95% CI	p-value
Recipient age, years	1.001	0.974–1.029	0.933			
Donor age, years	1.033	1.009–1.056	0.006	1.043	1.001–1.086	0.045
Donor evaluation	3.175	1.484–6.790	0.003			
Donor hypertension	2.498	1.199–5.208	0.0015			
Cold ischemia time, hours	1.117	1.013–1.232	0.027			
Duration of renal replacement therapy treatment, months	0.986	0.973–1.00	0.050			
TAC C ₀ at 6 months	0.832	0.707–0.979	0.027			
Fast metabolism type, at 6 months	2.437	1.107–5.365	0.027	4.654	1.197–18.097	0.026
Rejection during the first year	4.648	1.014–21.306	0.048			
IF/TA score at 1-year biopsy	2.185	1.212–3.939	0.009			
Chronic lesion score at 1-year biopsy	1.788	1.179–2.711	0.006	1.575	1.002–2.473	0.049

When analyzing the function of the transplanted kidneys at three years, of all the tacrolimus monitoring methods tested, only TAC C₀ CV was a significant factor (GS: 1.068, 95% CI: 1.011–1.129, p = 0.019), together with donor factors and chronic histological damage. Although not statistically significant, the highest tertile of TAC C₀ CV was associated with eGFR < 60 mL/min/1.73 m² three years after transplantation (p = 0.051).

Associations of tacrolimus concentration monitoring parameters with acute rejection

During the follow-up period, 30 (17.4%) recipients were diagnosed with histologically confirmed acute rejection episodes, 24 (13.8%) of which occurred in the first year after transplantation and 11 (6.3%) of which occurred in the first month after transplantation. Acute T cell-mediated rejection was diagnosed once after three months and five times after one year with protocol biopsies. Antibody-mediated rejection was confirmed in five cases at three-month and six cases at one-year biopsies. In two cases, the results were assessed as mixed rejection. Other histologically confirmed rejection cases were detected via biopsy according to indications.

Most rejection episodes were diagnosed in the first year after kidney transplantation, so the association between tacrolimus exposure and metabolism and rejection was analyzed during this period. Based on a model con-

structured via multivariable logistic regression analysis, the factors that were considered significant in the univariate analysis were the TAC C/D ratio at three months and TAC C₀ at six months, the presence of delayed renal function, and the prevalence of diabetes, which were found to be associated with rejection in the first year after transplantation (as shown in Table 10).

Table 10. Logistic regression analysis of tacrolimus monitoring and clinical data associations with first-year rejection

	Univariate			Multivariate		
	OR	95% CI	p-value	OR	95% CI	p-value
DGF	4.19	1.719–10.214	0.002	3.935	1.329–11.646	0.013
Recipient age	0.974	0.942–1.007	0.122			
Diabetes	3.513	1.187–10.396	0.023	3.882	1.150–13.112	0.029
Donor age	1.025	0.993–1.058	0.125			
Donor creatinine	1.007	0.999–1.014	0.083			
Cold ischemia time, hours	1.049	0.955–1.142	0.34			
TAC C ₀ 6 months	0.78	0.622–0.977	0.031	0.752	0.570–0.991	0.043
Fast metabolizer 3 months	3.017	1.214–7.497	0.017			
Fast metabolizer 6 months	2.736	1.077–6.951	0.034			
Fast metabolizer 1 year	2.30	0.888–5.958	0.081			
C/D at 3 months	0.301	0.12–0.752	0.01	0.301	0.110–0.821	0.019
C/D at 6 months	0.44	0.188–1.049	0.064			
C/D at 1year	0.444	0.205–0.962	0.04			

C/D – concentration doses ratio, TAC C₀ – tacrolimus trough concentration.

Study of tacrolimus concentration monitoring methods and changes in renal biopsies

This study analyzed the association of tacrolimus exposure and metabolism parameters with chronic histological changes in the protocol renal biopsies of 131 patients with zero time and at least one protocol biopsy. In 17 cases (13%), 17 zero-time biopsies showed IF/TA (ci ≥1 and/or ct ≥1), which was assessed as low grade in 8.4% and moderate in 4.6%, with an increase in the IF/TA score over time when comparing three month versus one year biopsies (1.14 ± 1.22 (0–6) vs. 0.3 ± 5.12 (0–2) vs. p = 0.02). At one year follow-up, 48 cases (60.8%) had mild (24.1%), moderate (27.8%), or severe (8.9%) IF/TA (60.8%). The degree of inflammatory lesions did not differ significantly between biopsies (p = 0.375), although the incidence of tubulitis was higher in the one-month biopsies (8.6 vs. 23.1; p = 0.118). The percentage of glomerulosclerosis (4.87 (7.43) vs. 4.40 (7.95), p = 0.625) and arteriolar hyalinosis (p = 0.625) did not differ between the three month biopsies and

one year biopsies; however, the chronicity score (1.46 (1.57) (range 0 to 6) vs. 2.18 (1.96) (range 0 to 9), $p < 0.001$) was significantly increased. Overall IF/TA progression was observed in 55% of patients (72 cases): from zero biopsies to three months in 36.2% of biopsies and from three months to one year in 46% of cases. The progression of IF/TA was associated with an older age of the recipient, arterial hypertension in the donor, a history of acute rejection episodes, the presence of interstitial inflammation (i) ($p = 0.02$), and inflammation with tubulitis (i + t) ($p = 0.013$) at the one year biopsy. There were no significant differences between biopsies in terms of arteriolar hyalinosis score, a potential marker of tacrolimus nephrotoxicity.

Table 11 shows the properties of TAC exposure and metabolism stratified to IF/TA progression in survival biopsies. No statistically significant association was found between Tac C_0 concentration, the C/D ratio, the TAC IPV, and IF/TA progression. Also, no significant association was found between periods from zero-time biopsy to 3-month biopsy and from 3-month to 1-year biopsies. **TAC C_0 and C/D ratio values at six months negatively correlated with IF/TA score in one-year biopsy ($r = -0.320$, $p = 0.004$ and $r = -0.269$, $p = 0.001$), but did not correlate with the IFTA progression.** Fast TAC metabolizer status was not significantly associated with IF/TA progression. There was no significant association between TAC CV third tertile and IF/TA progression, but it was associated with a higher chronicity score at one-year biopsy (OR: 1.429, 95% CI: 1.092–1.869, $p = 0.009$).

Table 11. Tacrolimus monitoring data according to interstitial fibrosis and tubular atrophy progression between biopsies

Variable	No IF/TA progression (n = 59)	IF/TA progression (n = 72)	p-value
TAC dosis/weight 3 months, mg/kg	0.121 (0.044)	0.129 (0.48)	0.453
TAC dosis/weight 1 year, mg/kg	0.079 (0.046)	0.085 (0.052)	0.507
TAC C_0 3 months, ng/mL	9.14 (2.89)	9.49 (2.96)	0.49
TAC C_0 6 months, ng/mL	8.03 (2.4)	7.59 (2.5)	0.33
TAC C_0 12 months, ng/mL	7.53 (2.32)	7.56 (2.48)	0.945
C/D 3 months, ng/mL/mg	1.18 (0.32–5.73)	1.09 (0.28–5)	0.963
C/D 6 months, ng/mL/mg	1.28 (0.45–5.7)	1.33 (0.3–7.5)	0.235
C/D 12 months, ng/mL/mg	1.3 (0.52–4.7)	1.24 (0.19–5.95)	0.454
Fast metabolizer percent at 6 months	46.3	39.7	0.457
Fast metabolizer percent at 1 year	40.9	30.2	0.266
TAC C_0 CV	26.27 (11.49)	27.88 (10.44)	0.423
TAC C_0 tertile CV	40.07 (8.5)	38.8 (6.6)	0.678

C/D – concentration doses ratio, CV – coefficient of variability, IF/TA – interstitial fibrosis and tubular atrophy, TAC – tacrolimus, TAC C_0 – tacrolimus trough concentration.

CONCLUSIONS

1. In the early post-transplant period, donor serum interleukin 18 (IL-18) and urinary kidney injury molecule 1 (KIM-1), as well as recipient serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), KIM-1 and recipient urinary KIM-1, IL-18, and NGAL during the first day after transplantation, were better predictors of delayed graft function than conventional clinical laboratory parameters. The predictive value of the donor biomarkers increased with a extended criteria donor and longer cold ischemia time.
2. In the late period at three years after transplantation, kidney function was better in recipients with a higher donor serum NGAL level. Donor urinary uKIM-1 was negatively correlated with recipient eGFR at three years. Biomarkers tested at 3 months and 1 year post-transplant were not significantly associated with worse graft function (aGFG < 60 mL/min./1.73 m²).
3. The risk of histologically confirmed acute rejection in the first year after transplantation increased with elevated levels of C-X-C motif chemokine 9 (CXCL9) and C-X-C motif chemokine 10 (CXCL10) in the recipients' urine at 12 days post-transplantation. Urinary NGAL was negatively correlated with interstitial fibrosis and tubular atrophy and chronic lesion score in protocol biopsies at three months.
4. A lower tacrolimus concentration/dose ratio (C/D ratio < 1.05 ng/mL × 1/mg) at six months post-transplantation was indicative of "faster metabolism". It was associated with worse renal function at two years post-transplantation, while the highest tertile of the tacrolimus variability coefficient was associated with a higher chronic lesion score in biopsies at one-year post-transplantation.

PRACTICAL RECOMMENDATIONS

1. Using biomarkers in clinical practice, especially in the presence of a extended criteria donor, would allow better prediction of delayed graft function. Early identification of patients at higher risk of delayed renal function would allow personalized treatment and reduce complication rates.
2. To minimize the need for invasive tests such as biopsies, it is recommended to further investigate potential biomarkers of acute or chronic kidney injury, including fibrosis progression, calcineurin inhibitor toxicity, and rejection.

3. The kidney donor profile index (KDPI) is not validated in Lithuania. According to our study, this index would be of additional value in predicting kidney function after transplantation. To better assess the quality of a donor's kidney, we recommend further studies to analyze the KDPI's applicability to our population.
4. Personalization of treatment is essential to minimize the adverse effects of immunosuppressive drugs. Based on the results of our study, we suggest evaluating additional tacrolimus monitoring methods in addition to the currently used monitoring of the tacrolimus through concentration. Calculating the tacrolimus concentration/dose ratio at three months and six months after kidney transplantation and assessing the metabolism type may allow the identification of patients at higher risk of rejection and worse renal function. We recommend that fast tacrolimus metabolizers should be monitored more frequently, and that caution should be exercised regarding the dose reduction of other immunosuppressive medications.
5. Calculating the tacrolimus variability coefficient 6–12 months after kidney transplantation may help identify patients at higher risk of progression of chronic changes in renal biopsies and direct attention toward designing an appropriate immunosuppressive regimen.

LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Naghavi M, Ong KL, Aali A, Ababneh HS, Abate YH, Abbafati C, et al. Global burden of 288 causes of death and life expectancy decomposition in 204 countries and territories and 811 subnational locations, 1990–2021: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2021. *The Lancet*. 2024 Apr;S0140673624003672.
2. Boerstra BA, Boenink R, Astley ME, Bonthuis M, Abd ElHafeez S, Arribas Monzón F, et al. The ERA Registry Annual Report 2021: a summary. *Clin Kidney J*. 2024 Feb 1;17(2):sfad281.
3. United States Renal Data System. 2023 USRDS Annual Data Report: Epidemiology of kidney disease in the United States. National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, Bethesda, MD, 2023. <https://usrds-adr.niddk.nih.gov/2023>. (žiūrėta 2024 04 12)
4. Stel VS, Boenink R, Astley ME, Boerstra BA, Radunovic D, Skrunes R, et al. A comparison of the epidemiology of kidney replacement therapy between Europe and the United States: 2021 data of the ERA Registry and the USRDS. *Nephrol Dial Transplant*. 2024 Mar 4;gfae040.
5. The Scientific Registry of Transplant Recipients. https://srtr.transplant.hrsa.gov/annual_reports/2022/Kidney.aspx. (assessed 2024 06 01)
6. Stewart D, Mupfudze T, Klassen D. Does anybody really know what (the kidney median waiting) time is? *Am J Transplant*. 2023 Feb;23(2):223–31.
7. Eurotransplant. <http://statistics.eurotransplant.org/>. (assessed 2024 06 20)
8. The EKITE consortium, Lorent M, Foucher Y, Kerleau K, Brouard S, Baayen C, et al. The EKITE network (epidemiology in kidney transplantation – a European validated database): an initiative epidemiological and translational European collaborative research. *BMC Nephrol*. 2019 Dec;20(1):365.
9. Rosengard BR, Feng S, Alfrey EJ, Zaroff JG, Emond JC, Henry ML, et al. Report of the Crystal City Meeting to Maximize the Use of Organs Recovered from the Cadaver Donor. *Am J Transplant*. 2002 Sep;2(8):701–11.
10. Echterdiek F, Schwenger V, Döhler B, Latus J, Kitterer D, Heemann U, et al. Kidneys From Elderly Deceased Donors – Is 70 the New 60? *Front Immunol*. 2019 Nov 27;10:2701.
11. Pippias M, Stel VS, Arnol M, Bemelman F, Berger SP, Buturovic Ponikvar JB, et al. Temporal trends in the quality of deceased donor kidneys and kidney transplant outcomes in Europe: an analysis by the ERA-EDTA Registry. *Nephrol Dial Transplant*. 2021 Dec 31;37(1):175–86.
12. Querard AH, Foucher Y, Combescure C, Dantan E, Larmet D, Lorent M, et al. Comparison of survival outcomes between Expanded Criteria Donor and Standard Criteria Donor kidney transplant recipients: a systematic review and meta-analysis. *Transpl Int*. 2016 Apr;29(4):403–15.
13. Van Ittersum FJ, Hemke AC, Dekker FW, Hilbrands LB, Christiaans MHL, Roodnat JJ, et al. Increased risk of graft failure and mortality in Dutch recipients receiving an expanded criteria donor kidney transplant. *Transpl Int*. 2017 Jan;30(1):14–28.
14. Patel K, Brotherton A, Chaudhry D, Evison F, Nieto T, Dabare D, et al. All Expanded Criteria Donor Kidneys are Equal But are Some More Equal Than Others? A Population-Cohort Analysis of UK Transplant Registry Data. *Transpl Int*. 2023 Sep 4;36:11421.

15. Ko KJ, Kim YH, Kwon KH, Kim MH, Jun KW, Hwang JK, et al. Kidney Transplantation Using Expanded-Criteria Deceased Donors: A Comparison With Ideal Deceased Donors and Non-Expanded-Criteria Deceased Donors. *Transplant Proc.* 2018 Dec; 50(10):3222–7.
16. Fang X, Wang Y, Liu R, Zhu C, Wu C, He F, et al. Long-term outcomes of kidney transplantation from expanded criteria donors with Chinese novel donation policy: donation after citizens' death. *BMC Nephrol.* 2022 Oct 3;23(1):325.
17. Hall IE, Schröppel B, Doshi MD, Ficek J, Weng FL, Hasz RD, et al. Associations of Deceased Donor Kidney Injury With Kidney Discard and Function After Transplantation: Deceased Donor AKI. *Am J Transplant.* 2015 Jun;15(6):1623–31.
18. Heilman RL, Smith ML, Kurian SM, Huskey J, Batra RK, Chakkera HA, et al. Transplanting Kidneys from Deceased Donors With Severe Acute Kidney Injury: Acute Kidney Injury Donors. *Am J Transplant.* 2015 Aug;15(8):2143–51.
19. Boffa C, van de Leemkolk F, Curnow E, Homan van der Heide J, Gilbert J, Sharples E, et al. Transplantation of Kidneys From Donors With Acute Kidney Injury: Friend or Foe? *Am J Transplant.* 2017 Feb;17(2):411–9.
20. Moein M, Iskhagi S, Shahbazov R, Ball A, Loerzel S, Shaban E, et al. Deceased Donor Kidney Transplantation From Donors With Acute Kidney Injury: Realities and Costs. *Exp Clin Transplant.* 2023 Feb;21(2):104–9.
21. Park WY, Choi MS, Kim YS, Choi BS, Park CW, Yang CW, et al. Impact of acute kidney injury in expanded criteria deceased donors on post-transplant clinical outcomes: multicenter cohort study. *BMC Nephrol.* 2019 Dec;20(1):39.
22. Gwon JG, Kim MG, Park KT, Ko SY, Jung CW. Clinical Outcomes in Kidney Transplantation from Deceased Donors with Acute Kidney Injury Based on Acute Kidney Injury Network Criteria. *Transplant Proc.* 2018 Oct;50(8):2426–30.
23. Chan GC-K, Chow KM. Should we use kidneys from donors with acute kidney injury for renal transplantation? *Nephrology.* 2020 Feb;25(2):105–15.
24. Damodaran S, Bullock B, Ekwenna O, Nayeypour M, Koizumi N, Sindhvani P, et al. Risk factors for delayed graft function and their impact on graft outcomes in live donor kidney transplantation. *Int Urol Nephrol.* 2021 Mar;53(3):439–46.
25. Ahlmark A, Sallinen V, Eerola V, Lempinen M, Helanterä I. Characteristics of Delayed Graft Function and Long-Term Outcomes After Kidney Transplantation From Brain-Dead Donors: A Single-Center and Multicenter Registry-Based Retrospective Study. *Transpl Int.* 2024 Mar 1;37:12309.
26. Augiene R. Deceased Donor Factors Influencing Kidney Transplantation Outcomes: doctoral thesis. Kaunas: Lithuanian University of Health Sciences; 2022. Available from: <https://hdl.handle.net/20.500.12512/115713>
27. Helanterä I, Ibrahim HN, Lempinen M, Finne P. Donor Age, Cold Ischemia Time, and Delayed Graft Function. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2020 Jun;15(6):813–21.
28. Summers DM, Watson CJE, Pettigrew GJ, Johnson RJ, Collett D, Neuberger JM, et al. Kidney donation after circulatory death (DCD): state of the art. *Kidney Int.* 2015 Aug;88(2):241–9.
29. Shamali A, Kassimatis T, Phillips BL, Burton H, Kessaris N, Callaghan C. Duration of delayed graft function and outcomes after kidney transplantation from controlled donation after circulatory death donors: a retrospective study. *Transpl Int.* 2019 Mar 28;tri.13403.
30. Müller AK, Breuer E, Hübel K, Lehmann K, Cippà P, Schachtner T, et al. Long-term outcomes of transplant kidneys donated after circulatory death. *Nephrol Dial Transplant.* 2022 May 25;37(6):1181–7.

31. Li MT, Ramakrishnan A, Yu M, Daniel E, Sandra V, Sanichar N, et al. Effects of Delayed Graft Function on Transplant Outcomes: A Meta-analysis. *Transplant Direct*. 2023 Jan 12;9(2):e1433.
32. Lim WH, Johnson DW, Teixeira-Pinto A, Wong G. Association Between Duration of Delayed Graft Function, Acute Rejection, and Allograft Outcome After Deceased Donor Kidney Transplantation. *Transplantation*. 2019 Feb;103(2):412–9.
33. Castro Filho JBSD, Pompeo JDC, Machado RB, Gonçalves LFS, Bauer AC, Manfro RC. Delayed Graft Function Under the Microscope: Surveillance Biopsies in Kidney Transplantation. *Transpl Int*. 2022 Mar 24;35:10344.
34. Alshaikh EA, Astor BC, Muth B, Jorgenson M, Swanson K, Garg N, et al. Delayed Graft Function Among Kidney Transplant Recipients Is Associated With an Increased Risk of Urinary Tract Infection and BK Viremia. *Transplant Direct*. 2023 Aug 28;9(9):e1526.
35. Lim WH, Johnson DW, Teixeira-Pinto A, Wong G. Association Between Duration of Delayed Graft Function, Acute Rejection, and Allograft Outcome After Deceased Donor Kidney Transplantation. *Transplantation*. 2019 Feb;103(2):412–9.
36. Incerti D, Summers N, Ton TGN, Boscoe A, Chandraker A, Stevens W. The Lifetime Health Burden of Delayed Graft Function in Kidney Transplant Recipients in the United States. *MDM Policy Pract*. 2018 Jan;3(1):238146831878181.
37. Andrews LM, Li Y, De Winter BCM, Shi YY, Baan CC, Van Gelder T, et al. Pharmacokinetic considerations related to therapeutic drug monitoring of tacrolimus in kidney transplant patients. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2017 Dec 2;13(12):1225–36.
38. Schütte-Nütgen K, Thölking G, Steinke J, Pavenstädt H, Schmidt R, Suwelack B, Reuter S. Fast Tac Metabolizers at Risk – It is Time for a C/D Ratio Calculation. *J Clin Med*. 2019 Apr 28;8(5):587. doi: 10.3390/jcm8050587. Erratum in: *J Clin Med*. 2019 Nov 04;8(11):E1870. doi: 10.3390/jcm8111870.
39. Kwiatkowska E, Kwiatkowski S, Wahler F, Gryczman M, Domański L, Marchelk-Mysłiwiec M, et al. C/D Ratio in Long-Term Renal Function. *Transplant Proc*. 2019 Dec;51(10):3265–70.
40. Jouve T, Fonrose X, Noble J, Janbon B, Fiard G, Malvezzi P, et al. The TOMATO Study (Tacrolimus Metabolization in Kidney Transplantation): Impact of the Concentration–Dose Ratio on Death-censored Graft Survival. *Transplantation*. 2020 Jun;104(6):1263–71.
41. Kim EJ, Kim SJ, Huh KH, Kim BS, Kim MS, Kim SI, et al. Clinical significance of tacrolimus intra-patient variability on kidney transplant outcomes according to pre-transplant immunological risk. *Sci Rep*. 2021 Jun 9;11(1):12114.
42. Leino AD, King EC, Jiang W, Vinks AA, Klawitter J, Christians U, et al. Assessment of tacrolimus inpatient variability in stable adherent transplant recipients: Establishing baseline values. *Am J Transplant*. 2019 May;19(5):1410–20.
43. Davis S, Gralla J, Klem P, Stites E, Wiseman A, Cooper JE. Tacrolimus Inpatient Variability, Time in Therapeutic Range, and Risk of De Novo Donor–Specific Antibodies. *Transplantation*. 2020 Apr;104(4):881–7.
44. Brunet M, Van Gelder T, Åsberg A, Haufroid V, Hesselink DA, Langman L, et al. Therapeutic Drug Monitoring of Tacrolimus-Personalized Therapy: Second Consensus Report. *Ther Drug Monit*. 2019 Jun;41(3):261–307.
45. Radzevičienė A, Marquet P, Maslauskienė R, Vaičiūnienė R, Kaduševičius E, Stankevičius E. Analyses of AUC(0–12) and C₀ Compliances within Therapeutic Ranges in Kidney Recipients Receiving Cyclosporine or Tacrolimus. *J Clin Med*. 2020 Dec 1;9(12):3903.

46. Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther.* 2001 Mar;69(3):89–95.
47. Novacescu D, Latcu SC, Bardan R, Daminescu L, Cumpanas AA. Contemporary Biomarkers for Renal Transplantation: A Narrative Overview. *J Pers Med.* 2023 Jul 31; 13(8):1216.
48. Bello AK, Okpechi IG, Levin A, Ye F, Damster S, Arruebo S, et al. An update on the global disparities in kidney disease burden and care across world countries and regions. *Lancet Glob Health.* 2024 Mar;12(3):e382–95.
49. Pippias M, Alfano G, Kelly DM, Soler MJ, De Chiara L, Olanrewaju TO, et al. Capacity for the management of kidney failure in the International Society of Nephrology Western Europe region: report from the 2023 ISN Global Kidney Health Atlas (ISN-GKHA). *Kidney Int Suppl.* 2024 Apr;13(1):136–51.
50. Foreman KJ, Marquez N, Dolgert A, Fukutaki K, Fullman N, McGaughey M, et al. Forecasting life expectancy, years of life lost, and all-cause and cause-specific mortality for 250 causes of death: reference and alternative scenarios for 2016–40 for 195 countries and territories. *The Lancet.* 2018 Nov;392(10159):2052–90.
51. Kiberd BA, Tennankore KK, Vinson AJ. Comparing the Net Benefits of Adult Deceased Donor Kidney Transplantation for a Patient on the Preemptive Waiting List vs a Patient Receiving Dialysis. *JAMA Netw Open.* 2022 Jul 22;5(7):e2223325.
52. De Vries AM, Helgeson VS, Schulz T, Almansa J, Westerhuis R, Niesing J, et al. Benefit finding in renal transplantation and its association with psychological and clinical correlates: A prospective study. *Br J Health Psychol.* 2019 Feb;24(1):175–91.
53. Strohmaier S, Wallisch C, Kammer M, Geroldinger A, Heinze G, Oberbauer R, et al. Survival Benefit of First Single-Organ Deceased Donor Kidney Transplantation Compared With Long-term Dialysis Across Ages in Transplant-Eligible Patients With Kidney Failure. *JAMA Netw Open.* 2022 Oct 7;5(10):e2234971.
54. Senanayake S, Graves N, Healy H, Baboolal K, Kularatna S. Cost-utility analysis in chronic kidney disease patients undergoing kidney transplant; what pays? A systematic review. *Cost Eff Resour Alloc.* 2020 Dec;18(1):18.
55. Jarl J, Desatnik P, Peetz Hansson U, Prütz KG, Gerdtham UG. Do kidney transplantations save money? A study using a before–after design and multiple register-based data from Sweden. *Clin Kidney J.* 2018 Apr 1;11(2):283–8.
56. Zhang Y, Gerdtham UG, Rydell H, Lundgren T, Jarl J. Healthcare costs after kidney transplantation compared to dialysis based on propensity score methods and real world longitudinal register data from Sweden. *Sci Rep.* 2023 Jul 3;13(1):10730.
57. https://srtr.transplant.hrsa.gov/annual_reports/2022/Kidney.aspx.
58. <https://www.odt.nhs.uk/statistics-and-reports/annual-activity-report/> (17 January 2022, date last accessed).
59. Schwarz P, Custódio G, Rheinheimer J, Crispim D, Leitão CB, Rech TH. Brain Death-Induced Inflammatory Activity is Similar to Sepsis-Induced Cytokine Release. *Cell Transplant.* 2018 Oct;27(10):1417–24.
60. Watts RP, Thom O, Fraser JF. Inflammatory Signalling Associated with Brain Dead Organ Donation: From Brain Injury to Brain Stem Death and Posttransplant Ischaemia Reperfusion Injury. *J Transplant.* 2013;2013:1–19.
61. Ravichandran R, Itabashi Y, Zhou F, Lin Y, Mohanakumar T, Chapman WC. Circulating exosomes from brain death and cardiac death donors have distinct molecular and immunologic properties: A pilot study. *Clin Transplant.* 2023 Oct;37(10):e15067.

62. Thorne AM, Huang H, O'Brien DP, Eijken M, Krogstrup NV, Norregaard R, et al. Subclinical effects of remote ischaemic conditioning in human kidney transplants revealed by quantitative proteomics. *Clin Proteomics*. 2020 Dec;17(1):39.
63. Kezić A, Stajic N, Thaïss F. Innate Immune Response in Kidney Ischemia/Reperfusion Injury: Potential Target for Therapy. *J Immunol Res*. 2017;2017:1–10.
64. Liu C, Hall IE, Mansour S, Thiessen Philbrook HR, Jia Y, Parikh CR. Association of Deceased Donor Acute Kidney Injury With Recipient Graft Survival. *JAMA Netw Open*. 2020 Jan 8;3(1):e1918634.
65. Reese PP, Doshi MD, Hall IE, Besharatian B, Bromberg JS, Thiessen-Philbrook H, et al. Deceased-Donor Acute Kidney Injury and Acute Rejection in Kidney Transplant Recipients: A Multicenter Cohort. *Am J Kidney Dis*. 2023 Feb;81(2):222-231.e1.
66. Jacobi J, Rebhan D, Heller K, Velden J, Hilgers KF, Wullich B, et al. *Clin Transplant*. 2014 Oct;28(10):1131–41.
67. Park WY, Choi MS, Kim YS, Choi BS, Park CW, Yang CW, et al. Impact of acute kidney injury in expanded criteria deceased donors on post-transplant clinical outcomes: multicenter cohort study. *BMC Nephrol*. 2019 Dec;20(1):39.
68. Boffa C, Van De Leemkolk F, Curnow E, Homan Van Der Heide J, Gilbert J, Sharples E, et al. Transplantation of Kidneys From Donors With Acute Kidney Injury: Friend or Foe? *Am J Transplant*. 2017 Feb;17(2):411–9.
69. Sonnenberg EM, Hsu JY, Cohen JB, Potluri VS, Geng Z, Levine MH, et al. Acute Kidney Injury in Deceased Organ Donors and Kidney Transplant Outcomes: A National Cohort Study Using a Novel Data Source. *Ann Surg*. 2022 Dec;276(6):e982–90.
70. Zheng YT, Chen CB, Yuan XP, Wang CX. Impact of acute kidney injury in donors on renal graft survival: a systematic review and Meta-Analysis. *Ren Fail*. 2018 Oct 15;40(1):649–56.
71. Nita GE, Gopal JP, Khambalia HA, Moinuddin Z, Van Dellen D. Kidney Transplantation From Donors With Acute Kidney Injury: Are the Concerns Justified? A Systematic Review and Meta-Analysis. *Transpl Int*. 2023 May 18;36:11232.
72. Chong AS. Mechanisms of organ transplant injury mediated by B cells and antibodies: Implications for antibody-mediated rejection. *Am J Transplant*. 2020 Jun;20:23–32.
73. Zens TJ, Danobeitia JS, Levenson G, Chlebeck PJ, Zitur LJ, Redfield RR, et al. The impact of kidney donor profile index on delayed graft function and transplant outcomes: A single-center analysis. *Clin Transplant*. 2018 Mar;32(3):e13190.
74. Rampersad C, Balshaw R, Gibson IW, Ho J, Shaw J, Karpinski M, et al. The negative impact of T cell-mediated rejection on renal allograft survival in the modern era. *Am J Transplant*. 2022 Mar;22(3):761–71.
75. Hirt-Minkowski P, Schaub S. Urine CXCL10 as a biomarker in kidney transplantation. *Curr Opin Organ Transplant*. 2024 Apr;29(2):138–43.
76. Singh R, Watchorn J, Zarbock A, Forni L. Prognostic Biomarkers and AKI: Potential to Enhance the Identification of Post-Operative Patients at Risk of Loss of Renal Function. *Res Rep Urol*. 2024 Mar;Volume 16:65–78.
77. Bellomo R, Kellum JA, Ronco C. Defining acute renal failure: physiological principles. *Intensive Care Med*. 2004 Jan;30(1):33–7.
78. Lin J, Fernandez H, Shashaty MGS, Negoianu D, Testani JM, Berns JS, et al. False-Positive Rate of AKI Using Consensus Creatinine-Based Criteria. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2015 Oct;10(10):1723–31.
79. Waikar SS, Bonventre JV. Creatinine Kinetics and the Definition of Acute Kidney Injury. *J Am Soc Nephrol*. 2009 Mar;20(3):672–9.

80. Moledina DG, Hall IE, Thiessen-Philbrook H, Reese PP, Weng FL, Schröppel B, et al. Performance of Serum Creatinine and Kidney Injury Biomarkers for Diagnosing Histologic Acute Tubular Injury. *Am J Kidney Dis*. 2017 Dec;70(6):807–16.
81. Ostermann M, Zarbock A, Goldstein S, Kashani K, Macedo E, Murugan R, et al. Recommendations on Acute Kidney Injury Biomarkers From the Acute Disease Quality Initiative Consensus Conference: A Consensus Statement. *JAMA Netw Open*. 2020 Oct 6;3(10):e2019209.
82. Ostermann M, Zarbock A, Goldstein S, Kashani K, Macedo E, Murugan R, et al. Recommendations on Acute Kidney Injury Biomarkers From the Acute Disease Quality Initiative Consensus Conference: A Consensus Statement. *JAMA Netw Open*. 2020 Oct 6;3(10):e2019209.
83. Nourie N, Ghaleb R, Lefaucheur C, Louis K. Toward Precision Medicine: Exploring the Landscape of Biomarkers in Acute Kidney Injury. *Biomolecules*. 2024 Jan 8; 14(1):82.
84. Rao PS, Schaubel DE, Guidinger MK, Andreoni KA, Wolfe RA, Merion RM, et al. A Comprehensive Risk Quantification Score for Deceased Donor Kidneys: The Kidney Donor Risk Index. *Transplantation*. 2009 Jul 27;88(2):231–6.
85. Lehner LJ, Kleinstauber A, Halleck F, Khadzhynov D, Schrezenmeier E, Duerr M, et al. Assessment of the Kidney Donor Profile Index in a European cohort. *Nephrol Dial Transplant*. 2018 Aug 1;33(8):1465–72.
86. Philipse E, Lee APK, Bracke B, Hartman V, Chapelle T, Roeyen G, et al. Does Kidney Donor Risk Index implementation lead to the transplantation of more and higher-quality donor kidneys? *Nephrol Dial Transplant*. 2017 Nov 1;32(11):1934–8.
87. Del Moral Martín RMG, Retamero Díaz JA, Cava Molina M, Cobacho Tornel BM, Bravo Soto J, Osuna Ortega A, et al. Validation of KDRI/KDPI for the selection of expanded criteria kidney donors. *Nefrol Engl Ed*. 2018 May;38(3):297–303.
88. Sexton DJ, O’Kelly P, Kennedy C, Denton M, De Freitas DG, Magee C, et al. Assessing the discrimination of the Kidney Donor Risk Index/Kidney Donor Profile Index scores for allograft failure and estimated glomerular filtration rate in Ireland’s National Kidney Transplant Programme. *Clin Kidney J*. 2019 Aug 1;12(4):569–73.
89. Darema M, Athanasopoulou D, Bellos I, Tsoumbou I, Vittoraki AG, Bokos J, et al. Evaluation of Kidney Donor Risk Index/Kidney Donor Profile Index as Predictor Tools of Deceased-Donor Kidney Transplant Outcomes in a Greek Cohort. *J Clin Med*. 2023 Mar 22;12(6):2439.
90. Peters-Sengers H, Heemskerk MBA, Geskus RB, Kers J, Homan Van Der Heide JJ, Berger SP, et al. Validation of the Prognostic Kidney Donor Risk Index Scoring System of Deceased Donors for Renal Transplantation in the Netherlands. *Transplantation*. 2018 Jan;102(1):162–70.
91. Aubert O, Reese PP, Audry B, Bouatou Y, Raynaud M, Viglietti D, et al. Disparities in Acceptance of Deceased Donor Kidneys Between the United States and France and Estimated Effects of Increased US Acceptance. *JAMA Intern Med*. 2019 Oct 1;179(10): 1365.
92. Warmuzińska N, Łuczykowski K, Bojko B. A Review of Current and Emerging Trends in Donor Graft-Quality Assessment Techniques. *J Clin Med*. 2022 Jan 18;11(3):487.
93. Salvadori M, Tsalouchos A. Biomarkers in renal transplantation: An updated review. *World J Transplant*. 2017;7(3):161.
94. Mannon RB, Morris RE, Abecassis M, Axelrod D, Bala S, Friedman GS, et al. Use of biomarkers to improve immunosuppressive drug development and outcomes in renal organ transplantation: A meeting report. *Am J Transplant*. 2020 Jun;20(6):1495–502.

95. Ramalhete LM, Araújo R, Ferreira A, Calado CRC. Proteomics for Biomarker Discovery for Diagnosis and Prognosis of Kidney Transplantation Rejection. *Proteomes*. 2022 Jul 2;10(3):24.
96. Sigdel TK, Gao Y, He J, Wang A, Nicora CD, Fillmore TL, et al. Mining the human urine proteome for monitoring renal transplant injury. *Kidney Int*. 2016 Jun;89(6):1244–52.
97. Koo TY, Jeong JC, Lee Y, Ko KP, Lee KB, Lee S, et al. Pre-transplant Evaluation of Donor Urinary Biomarkers can Predict Reduced Graft Function After Deceased Donor Kidney Transplantation. *Medicine (Baltimore)*. 2016 Mar;95(11):e3076.
98. Buemi A, Musuamba F, Frederic S, Douhet A, De Meyer M, De Pauw L, et al. Is plasma and urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) determination in donors and recipients predictive of renal function after kidney transplantation? *Clin Biochem*. 2014 Oct;47(15):68–72.
99. Van Duijl TT, De Rooij ENM, Treep MM, Koelemaij ME, Romijn FPHTM, Hoogveen EK, et al. Urinary Kidney Injury Biomarkers Are Associated with Ischemia-Reperfusion Injury Severity in Kidney Allograft Recipients. *Clin Chem*. 2023 Aug 2;69(8):924–35.
100. Haase-Fielitz A, Haase M, Devarajan P. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker of acute kidney injury: a critical evaluation of current status. *Ann Clin Biochem Int J Lab Med*. 2014 May;51(3):335–51.
101. Tabertero G, Pescador M, Ruiz Ferreras E, Morales AI, Prieto M. Evaluation of NAG, NGAL, and KIM-1 as Prognostic Markers of the Initial Evolution of Kidney Transplantation. *Diagnostics*. 2023 May 25;13(11):1843.
102. Li YM, Li Y, Yan L, Wang H, Wu XJ, Tang JT, et al. Comparison of urine and blood NGAL for early prediction of delayed graft function in adult kidney transplant recipients: a meta-analysis of observational studies. *BMC Nephrol*. 2019 Dec;20(1):291.
103. Bourgonje AR, Abdulle AE, Bourgonje MF, Kieneker LM, La Bastide-van Gemert S, Gordijn SJ, et al. Plasma Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin Associates with New-Onset Chronic Kidney Disease in the General Population. *Biomolecules*. 2023 Feb 9;13(2):338.
104. Alderson HV, Ritchie JP, Pagano S, Middleton RJ, Pruijm M, Vuilleumier N, et al. The Associations of Blood Kidney Injury Molecule-1 and Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin with Progression from CKD to ESRD. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2016 Dec;11(12):2141–9.
105. Bansal N, Carpenter MA, Weiner DE, Levey AS, Pfeffer M, Kusek JW, et al. Urine Injury Biomarkers and Risk of Adverse Outcomes in Recipients of Prevalent Kidney Transplants: The Folic Acid for Vascular Outcome Reduction in Transplantation Trial. *J Am Soc Nephrol*. 2016 Jul;27(7):2109–21.
106. Swolinsky JS, Hinz RM, Markus CE, Singer E, Bachmann F, Halleck F, et al. Plasma NGAL levels in stable kidney transplant recipients and the risk of allograft loss. *Nephrol Dial Transplant*. 2024 Feb 28;39(3):483–95.
107. Kielar M, Dumnicka P, Gala-Błądzińska A, Będkowska-Prokop A, Ignacak E, Maziarz B, et al. Urinary NGAL Measured after the First Year Post Kidney Transplantation Predicts Changes in Glomerular Filtration over One-Year Follow-Up. *J Clin Med*. 2020 Dec 25;10(1):43.
108. Ichimura T, Bonventre JV, Bailly V, Wei H, Hession CA, Cate RL, et al. Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1), a Putative Epithelial Cell Adhesion Molecule Containing a Novel Immunoglobulin Domain, Is Up-regulated in Renal Cells after Injury. *J Biol Chem*. 1998 Feb;273(7):4135–42.

109. Zhang PL, Rothblum LI, Han WK, Blasick TM, Potdar S, Bonventre JV. Kidney injury molecule-1 expression in transplant biopsies is a sensitive measure of cell injury. *Kidney Int.* 2008 Mar;73(5):608–14.
110. Bonventre JV. Kidney injury molecule-1 (KIM-1): a urinary biomarker and much more. *Nephrol Dial Transplant.* 2009 Nov 1;24(11):3265–8.
111. Reese PP, Hall IE, Weng FL, Schröppel B, Doshi MD, Hasz RD, et al. Associations between Deceased-Donor Urine Injury Biomarkers and Kidney Transplant Outcomes. *J Am Soc Nephrol.* 2016 May;27(5):1534–43.
112. Hollmen ME, Kyllönen LE, Inkinen KA, Lalla ML, Merenmies J, Salmela KT. Deceased donor neutrophil gelatinase-associated lipocalin and delayed graft function after kidney transplantation: a prospective study. *Crit Care.* 2011;15(3):R121.
113. Buemi A, Musuamba F, Frederic S, Douhet A, De Meyer M, De Pauw L, et al. Is plasma and urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) determination in donors and recipients predictive of renal function after kidney transplantation? *Clin Biochem.* 2014 Oct;47(15):68–72.
114. Koyawala N, Reese PP, Hall IE, Jia Y, Thiessen-Philbrook HR, Mansour SG, et al. Urine Injury Biomarkers Are Not Associated With Kidney Transplant Failure: Transplantation. 2020 Jun;104(6):1272–9.
115. Haase-Fielitz A, Haase M, Devarajan P. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker of acute kidney injury: a critical evaluation of current status. *Ann Clin Biochem Int J Lab Med.* 2014 May;51(3):335–51.
116. Bonnard B, Ibarrola J, Lima-Posada I, Fernández-Celis A, Durand M, Genty M, et al. Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin From Macrophages Plays a Critical Role in Renal Fibrosis Via the CCL5 (Chemokine Ligand 5)-Th2 Cells-IL4 (Interleukin 4) Pathway. *Hypertension.* 2022 Feb;79(2):352–64.
117. Moriya H, Mochida Y, Ishioka K, Oka M, Maesato K, Hidaka S, et al. Plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) is an indicator of interstitial damage and a predictor of kidney function worsening of chronic kidney disease in the early stage: a pilot study. *Clin Exp Nephrol.* 2017 Dec;21(6):1053–9.
118. Zhang Z, Cai CX. Kidney injury molecule-1 (KIM-1) mediates renal epithelial cell repair via ERK MAPK signaling pathway. *Mol Cell Biochem.* 2016 May;416(1–2):109–16.
119. Song J, Yu J, Prayogo GW, Cao W, Wu Y, Jia Z, et al. Understanding kidney injury molecule 1: a novel immune factor in kidney pathophysiology. *Am J Transl Res.* 2019; 11(3):1219–29.
120. Ismail OZ, Zhang X, Wei J, Haig A, Denker BM, Suri RS, et al. Kidney Injury Molecule-1 Protects against Gα12 Activation and Tissue Damage in Renal Ischemia-Reperfusion Injury. *Am J Pathol.* 2015 May;185(5):1207–15.
121. Gohda T, Kamei N, Koshida T, Kubota M, Tanaka K, Yamashita Y, et al. Circulating kidney injury molecule-1 as a biomarker of renal parameters in diabetic kidney disease. *J Diabetes Investig.* 2020 Mar;11(2):435–40.
122. Dubin RF, Judd S, Scherzer R, Shlipak M, Warnock DG, Cushman M, et al. Urinary Tubular Injury Biomarkers Are Associated With ESRD and Death in the REGARDS Study. *Kidney Int Rep.* 2018 Sep;3(5):1183–92.
123. Field M, Dronavalli V, Mistry P, Drayson M, Ready A, Cobbold M, et al. Urinary biomarkers of acute kidney injury in deceased organ donors – kidney injury molecule-1 as an adjunct to predicting outcome. *Clin Transplant.* 2014 Jul;28(7):808–15.

124. Mao YJ, Xu DS, Liu SD, Yan JK, Liu XL, Zhang XF, et al. An analysis of the relationship between donor and recipient biomarkers and kidney graft function, dysfunction, and rejection. *Transpl Immunol*. 2023 Dec;81:101934.
125. Schröppel B, Krüger B, Walsh L, Yeung M, Harris S, Garrison K, et al. Tubular Expression of KIM-1 Does not Predict Delayed Function After Transplantation. *J Am Soc Nephrol*. 2010 Mar;21(3):536–42.
126. Bank JR, Van Der Pol P, Vreeken D, Monge-Chaubo C, Bajema IM, Schlagwein N, et al. Kidney injury molecule-1 staining in renal allograft biopsies 10 days after transplantation is inversely correlated with functioning proximal tubular epithelial cells. *Nephrol Dial Transplant*. 2017 Dec 1;32(12):2132–41.
127. Nogare AL, Veronese FV, Carpio VN, Montenegro RM, Pedroso JA, Pegas KL, et al. Kidney injury molecule-1 expression in human kidney transplants with interstitial fibrosis and tubular atrophy. *BMC Nephrol*. 2015 Dec;16(1):19.
128. Yadav B, Prasad N, Agrawal V, Jaiswal A, Agrawal V, Rai M, et al. Urinary Kidney injury molecule-1 can predict delayed graft function in living donor renal allograft recipients. *Nephrology*. 2015 Nov;20(11):801–6.
129. Zhu M, Chen Z, Wei Y, Yuan Y, Ying L, Zhou H, et al. The predictive value of urinary kidney injury molecular-1 for long-term graft function in kidney transplant patients: a prospective study. *Ann Transl Med*. 2021 Feb;9(3):244–244.
130. Keshavarz Shahbaz S, Pourrezagholi F, Nafar M, Ahmadpoor P, Barabadi M, Foroughi F, et al. Dynamic variation of kidney injury molecule-1 mRNA and protein expression in blood and urine of renal transplant recipients: a cohort study. *Clin Exp Nephrol*. 2019 Oct;23(10):1235–49.
131. Luan J, Fu J, Jiao C, Hao X, Feng Z, Zhu L, et al. IL-18 deficiency ameliorates the progression from AKI to CKD. *Cell Death Dis*. 2022 Nov 15;13(11):957.
132. Al-Saegh R, Mohanad M, Khudhair N, Al-Mukhtar M. Using urinary Interleukin-18 as a potential marker for early detection of acute kidney injury in intensive care unit. *Saudi J Kidney Dis Transplant*. 2021;32(2):341.
133. Ostermann M, Zarbock A, Goldstein S, Kashani K, Macedo E, Murugan R, et al. Recommendations on Acute Kidney Injury Biomarkers From the Acute Disease Quality Initiative Consensus Conference: A Consensus Statement. *JAMA Netw Open*. 2020 Oct 6;3(10):e2019209.
134. Cui LY, Zhu X, Yang S, Zhou JS, Zhang HX, Liu L, et al. Prognostic Value of Levels of Urine Neutrophil Gelatinase-associated Lipocalin and Interleukin-18 in Patients With Delayed Graft Function After Kidney Transplantation. *Transplant Proc*. 2015 Dec;47(10):2846–51.
135. Hall IE, Yarlagadda SG, Coca SG, Wang Z, Doshi M, Devarajan P, et al. IL-18 and Urinary NGAL Predict Dialysis and Graft Recovery after Kidney Transplantation. *J Am Soc Nephrol*. 2010 Jan;21(1):189–97.
136. Karin N, Razon H. Chemokines beyond chemo-attraction: CXCL10 and its significant role in cancer and autoimmunity. *Cytokine*. 2018 Sep;109:24–8.
137. Antonelli A, Ferrari SM, Corrado A, Ferrannini E, Fallahi P. CXCR3, CXCL10 and type 1 diabetes. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2014 Feb;25(1):57–65.
138. Ho J, Lucy M, Krokhn O, Hayglass K, Pascoe E, Darroch G, et al. Mass Spectrometry–Based Proteomic Analysis of Urine in Acute Kidney Injury Following Cardiopulmonary Bypass: A Nested Case-Control Study. *Am J Kidney Dis*. 2009 Apr;53(4):584–95.
139. Gao J, Wu L, Wang S, Chen X. Role of Chemokine (C–X–C Motif) Ligand 10 (CXCL10) in Renal Diseases. *Mediators Inflamm*. 2020 Feb 5;2020:1–16.

140. Furuichi K, Wada T, Kitajikma S, Toyama T, Okumura T, Hara A, et al. IFN-Inducible Protein 10 (CXCL10) Regulates Tubular Cell Proliferation in Renal Ischemia-Reperfusion Injury. *Nephron Exp Nephrol*. 2008 Jun 3;109(1):e29–38.
141. Piemonti L, Sordi V, Pellegrini S, Scotti GM, Scavini M, Sioli V, et al. Circulating CXCL10 and IL-6 in solid organ donors after brain death predict graft outcomes. *Sci Rep*. 2021 Mar 23;11(1):6624.
142. Krupickova L, Fialova M, Novotny M, Svachova V, Mezerova K, Ceerdlova E, et al. Chemokine Profiles Are Affected in Serum of Patients with Acute Rejection of Kidney Allograft. Dozio E, editor. *Mediators Inflamm*. 2021 Mar 11;2021:1–12.
143. Millán O, Budde K, Sommerer C, Aliart I, Rissling O, Bardaji B, et al. Urinary miR-155-5p and CXCL10 as prognostic and predictive biomarkers of rejection, graft outcome and treatment response in kidney transplantation. *Br J Clin Pharmacol*. 2017 Dec;83(12):2636–50.
144. Tinel C, Devresse A, Vermorel A, Sauvaget V, Marx D, Avettand-Fenoel V, et al. Development and validation of an optimized integrative model using urinary chemokines for noninvasive diagnosis of acute allograft rejection. *Am J Transplant*. 2020 Dec;20(12):3462–76.
145. Hirt-Minkowski P, Handschin J, Stampf S, Hopfer H, Menter T, Senn L, et al. Randomized Trial to Assess the Clinical Utility of Renal Allograft Monitoring by Urine CXCL10 Chemokine. *J Am Soc Nephrol*. 2023 Aug;34(8):1456–69.
146. Van Loon E, Tinel C, De Loor H, Bossuyt X, Callemeyn J, Coemans M, et al. Automated Urinary Chemokine Assays for Noninvasive Detection of Kidney Transplant Rejection: A Prospective Cohort Study. *Am J Kidney Dis*. 2024 Apr;83(4):467–76.
147. Hirt-Minkowski P, Ho J, Gao A, Amico P, Koller MT, Hopfer H, et al. Prediction of Long-term Renal Allograft Outcome By Early Urinary CXCL10 Chemokine Levels. *Transplant Direct*. 2015 Sep;1(8):e31.
148. Zahran A, Attia A, Mansell H, Shoker A. Contribution of diminished kidney transplant GFR to increased circulating chemokine ligand 27 level. *J Inflamm*. 2018 Dec;15(1):18.
149. Weseslindtner L, Hedman L, Wang Y, Strassl R, Helanterä I, Aberle SW, et al. Longitudinal assessment of the CXCL10 blood and urine concentration in kidney transplant recipients with BK polyomavirus replication – a retrospective study. *Transpl Int*. 2020 May;33(5):555–66.
150. Park S, Sellares J, Tinel C, Anglicheau D, Bestard O, Friedewald JJ. European Society of Organ Transplantation Consensus Statement on Testing for Non-Invasive Diagnosis of Kidney Allograft Rejection. *Transpl Int*. 2024 Jan 4;36:12115.
151. López-Abad A, Piana A, Prudhomme T, Bañuelos Marco B, Dönmez MI, Pecoraro A, et al. Biomarkers in kidney transplantation: Where do we stand? *Actas Urol Esp Engl Ed*. 2024 Jul;48(6):407–9.
152. Kwiatkowska E, Ciecchanowski K, Domański L, Dziedziejko V, Przybyciński J, Pawlik A. Inpatient Variability (IPV) and the Blood Concentration Normalized by the Dose (C/D Ratio) of Tacrolimus – Their Correlations and Effects on Long-Term Renal Allograft Function. *Biomedicines*. 2022 Nov 8;10(11):2860.
153. Egeland EJ, Reisaeter AV, Robertsen I, Midtvedt K, Strøm EH, Holdaas H, et al. High tacrolimus clearance – a risk factor for development of interstitial fibrosis and tubular atrophy in the transplanted kidney: a retrospective single-center cohort study. *Transpl Int*. 2019 Mar;32(3):257–69.
154. Kuypers DRJ. Inpatient Variability of Tacrolimus Exposure in Solid Organ Transplantation: A Novel Marker for Clinical Outcome. *Clin Pharmacol Ther*. 2020 Feb;107(2):347–58.

155. Sallustio BC. Monitoring Intra-cellular Tacrolimus Concentrations in Solid Organ Transplantation: Use of Peripheral Blood Mononuclear Cells and Graft Biopsy Tissue. *Front Pharmacol*. 2021 Oct 26;12:733285.
156. Vanhove T, Vermeulen T, Annaert P, Lerut E, Kuypers DRJ. High Inpatient Variability of Tacrolimus Concentrations Predicts Accelerated Progression of Chronic Histologic Lesions in Renal Recipients. *Am J Transplant*. 2016 Oct;16(10):2954–63.
157. Kostalova B, Mala-Ladova K, Sulkova SD, Denhaerynck K, De Geest S, Maly J. Comparison of different methods to assess tacrolimus concentration intra-patient variability as potential marker of medication non-adherence. *Front Pharmacol*. 2022 Oct 13;13:973564.
158. Redondo-Pachón D, Calatayud E, Buxeda A, Pérez-Sáez MJ, Arias-Cabrales C, Gimeno J, et al. Evolution of kidney allograft loss causes over 40 years (1979–2019). *Nefrol Engl Ed*. 2023 May;43(3):316–27.
159. Naesens M, Lerut E, Damme BV, Vanrenterghem Y, Kuypers DRJ. Tacrolimus Exposure and Evolution of Renal Allograft Histology in the First Year After Transplantation. *Am J Transplant*. 2007 Sep;7(9):2114–23.
160. Torres IB, Reisaeter AV, Moreso F, Åsberg A, Vidal M, Garcia-Carro C, et al. Tacrolimus and mycophenolate regimen and subclinical tubulo-interstitial inflammation in low immunological risk renal transplants. *Transpl Int*. 2017 Nov;30(11):1119–31.
161. Gatault P, Kamar N, Büchler M, Colosio C, Bertrand D, Durrbach A, et al. Reduction of Extended-Release Tacrolimus Dose in Low-Immunological-Risk Kidney Transplant Recipients Increases Risk of Rejection and Appearance of Donor-Specific Antibodies: A Randomized Study. *Am J Transplant*. 2017 May;17(5):1370–9.
162. Vanhove T, Vermeulen T, Annaert P, Lerut E, Kuypers DRJ. High Inpatient Variability of Tacrolimus Concentrations Predicts Accelerated Progression of Chronic Histologic Lesions in Renal Recipients. *Am J Transplant*. 2016 Oct;16(10):2954–63.
163. Gonzales HM, McGillicuddy JW, Rohan V, Chandler JL, Nadig SN, Dubay DA, et al. A comprehensive review of the impact of tacrolimus inpatient variability on clinical outcomes in kidney transplantation. *Am J Transplant*. 2020 Aug;20(8):1969–83.
164. Cantaluppi V, Dellepiane S, Tamagnone M, Medica D, Figliolini F, Messina M, et al. Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin Is an Early and Accurate Biomarker of Graft Function and Tissue Regeneration in Kidney Transplantation from Extended Criteria Donors. Ashton N, editor. *PLOS ONE*. 2015 Jun 30;10(6):e0129279.
165. Loupy A, Mengel M, Haas M. Thirty years of the International Banff Classification for Allograft Pathology: the past, present, and future of kidney transplant diagnostics. *Kidney Int*. 2022 Apr;101(4):678–91.
166. Lentine KL, Smith JM, Hart A, Miller J, Skeans MA, Larkin L, et al. OPTN/SRTR 2020 Annual Data Report: Kidney. *Am J Transplant*. 2022 Mar;22:21–136.
167. Vaulet T, Divard G, Thauinat O, Koshy P, Lerut E, Senev A, et al. Data-Driven Chronic Allograft Phenotypes: A Novel and Validated Complement for Histologic Assessment of Kidney Transplant Biopsies. *J Am Soc Nephrol*. 2022 Nov;33(11):2026–39.
168. Zens TJ, Danobeitia JS, Levenson G, Chlebeck PJ, Zitur LJ, Redfield RR, et al. The impact of kidney donor profile index on delayed graft function and transplant outcomes: A single-center analysis. *Clin Transplant*. 2018 Mar;32(3):e13190.
169. Andreucci M, Faga T, Pisani A, Perticone M, Michael A. The ischemic/nephrotoxic acute kidney injury and the use of renal biomarkers in clinical practice. *Eur J Intern Med*. 2017 Apr;39:1–8.
170. Brilland B, Boud'hors C, Wacrenier S, Blanchard S, Cayon J, Blanchet O, et al. Kidney injury molecule 1 (KIM-1): a potential biomarker of acute kidney injury and tubulo-

- interstitial injury in patients with ANCA-glomerulonephritis. *Clin Kidney J.* 2023 Aug 31;16(9):1521–33.
171. Gohda T, Kamei N, Koshida T, Kubota M, Tanaka K, Yamashita Y, et al. Circulating kidney injury molecule-1 as a biomarker of renal parameters in diabetic kidney disease. *J Diabetes Investig.* 2020 Mar;11(2):435–40.
 172. Koyawala N, Reese PP, Hall IE, Jia Y, Thiessen-Philbrook HR, Mansour SG, et al. Urine Injury Biomarkers Are Not Associated With Kidney Transplant Failure. *Transplantation.* 2020 Jun;104(6):1272–9.
 173. Romejko K, Markowska M, Niemczyk S. The Review of Current Knowledge on Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL). *Int J Mol Sci.* 2023 Jun 21; 24(13):10470.
 174. Aldea PL, Rachisan AL, Stanciu BI, Picos A, Picos AM, Delean DI, et al. The Perspectives of Biomarkers in Predicting the Survival of the Renal Graft. *Front Pediatr.* 2022 Jun 3;10:869628.
 175. Cantaluppi V, Dellepiane S, Tamagnone M, Medica D, Figliolini F, Messina M, et al. Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin Is an Early and Accurate Biomarker of Graft Function and Tissue Regeneration in Kidney Transplantation from Extended Criteria Donors. Ashton N, editor. *PLOS ONE.* 2015 Jun 30;10(6):e0129279.
 176. Chancharoenthana W, Leelahavanichkul A, Wattanatorn S, Avihingsanon Y, Praditpornsilpa K, Eiam-Ong S, et al. Alteration of urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a predictor of tacrolimus-induced chronic renal allograft fibrosis in tacrolimus dose adjustments following kidney transplantation. Stepkowski S, editor. *PLOS ONE.* 2018 Dec 21;13(12):e0209708.
 177. Nogare AL, Veronese FV, Carpio VN, Montenegro RM, Pedroso JA, Pegas KL, et al. Kidney injury molecule-1 expression in human kidney transplants with interstitial fibrosis and tubular atrophy. *BMC Nephrol.* 2015 Dec;16(1):19.
 178. Malyszko J, Koc-Zorawska E, Malyszko JS, Mysliwiec M. Kidney Injury Molecule-1 Correlates With Kidney Function in Renal Allograft Recipients. *Transplant Proc.* 2010 Dec;42(10):3957–9.
 179. Van Timmeren MM, Vaidya VS, Van Ree RM, Oterdoom LH, De Vries APJ, Gans ROB, et al. High Urinary Excretion of Kidney Injury Molecule-1 Is an Independent Predictor of Graft Loss in Renal Transplant Recipients. *Transplantation.* 2007 Dec 27;84(12):1625–30.
 180. Kremer D, Post A, Gomes-Neto AW, Groothof D, Kunutsor SK, Nilsen T, et al. Plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin and kidney graft outcome. *Clin Kidney J.* 2022 Feb 4;15(2):235–43.
 181. Shahbaz SK, Pourrezaghali F, Barabadi M, Foroughi F, Hosseinzadeh M, Ahmadpoor P, et al. High expression of TIM-3 and KIM-1 in blood and urine of renal allograft rejection patients. *Transpl Immunol.* 2017 Aug;43–44:11–20.
 182. Matz M, Beyer J, Wunsch D, Mashreghi MF, Seiler M, Pratschke J, et al. Early post-transplant urinary IP-10 expression after kidney transplantation is predictive of short- and long-term graft function. *Kidney Int.* 2006 May;69(9):1683–90.
 183. Blydt-Hansen TD, Sharma A, Gibson IW, Wiebe C, Sharma AP, Langlois V, et al. Validity and utility of urinary CXCL10/Cr immune monitoring in pediatric kidney transplant recipients. *Am J Transplant.* 2021 Apr;21(4):1545–55.
 184. Mockler C, Sharma A, Gibson IW, Gao A, Wong A, Ho J, et al. The prognostic value of urinary chemokines at 6 months after pediatric kidney transplantation. *Pediatr Transplant.* 2018 Aug;22(5):e13205.

185. Raza A, Firasat S, Khaliq S, Aziz T, Mubarak M, Naqvi SAA, et al. The association of urinary interferon-gamma inducible protein-10 (IP10/CXCL10) levels with kidney allograft rejection. *Inflamm Res*. 2017 May;66(5):425–32.
186. Macioniene E, Miglinas M, Simanavicius M, Vitkauskaite M. #5811 Urinary CXCL9 and CXCL10 Concentrations and Kidney Transplant Injury. *Nephrol Dial Transplant*. 2023 Jun 14;38(Supplement_1):gfad063c_5811.
187. Thölking G, Filensky B, Jehn U, Schütte-Nütgen K, Koch R, Kurschat C, et al. Increased renal function decline in fast metabolizers using extended-release tacrolimus after kidney transplantation. *Sci Rep*. 2021 Aug 2;11(1):15606.
188. Thölking G, Fortmann C, Koch R, Gerth HU, Pabst D, Pavenstädt H, et al. The Tacrolimus Metabolism Rate Influences Renal Function after Kidney Transplantation. *Bueno V*, editor. *PLoS ONE*. 2014 Oct 23;9(10):e111128.
189. Von Samson-Himmelstjerna FA, Messtorff ML, Kakavand N, Eisenberger U, Korth J, Lange U, et al. The Tacrolimus Concentration/Dose Ratio Does Not Predict Early Complications After Kidney Transplantation. *Transpl Int*. 2023 May 9;36:11027.
190. Kim H, Han A, Ahn S, Min SK, Ha J, Min S. Association of high intra-patient variability in tacrolimus exposure with calcineurin inhibitor nephrotoxicity in kidney transplantation. *Sci Rep*. 2023 Oct 2;13(1):16502.

PUBLIKACIJŲ SĄRAŠAS

Straipsnių, kuriuose buvo paskelbti disertacijos tyrimų rezultatai, sąrašas

1. **Maslauskienė, Rima**; Vaičiūnienė, Rūta; Radzevičienė, Aurelija; Tretjakovs, Peteris; Gersone, Gita; Stankevičius, Edgaras; Bumblytė, Inga Arūnė. The Influence of Tacrolimus Exposure and Metabolism on the Outcomes of Kidney Transplants // *Biomedicines*, 2024, t. 12, nr. 5, p. 1–14, ISSN 2227-9059. doi:10.3390/biomedicines12051125. Prieiga per internetą: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11117915/>, <https://hdl.handle.net/20.500.12512/244757>, <https://10.3390/biomedicines12051125>. Science Citation Index Expanded (Web of Science); PubMed; PubMed Central; Scopus. [S1] [M.kr.: M001, N010] [Citav. rodiklis: 4.7, bendr. cit. rod.: 5.333, kvartilis: Q1 (2022. InCites JCR SCIE)]
2. **Maslauskienė, Rima**; Vaičiūnienė, Rūta; Tretjakovs, Peteris; Gersone, Gita; Radzevičienė, Aurelija; Bura, Andrejus; Stankevičius, Edgaras; Bumblytė, Inga Arūnė. Deceased Kidney Donor Biomarkers: Relationship between Delayed Kidney Function and Graft Function Three Years after Transplantation. // *Diagnostics*, 2024, t. 14, nr. 7, p. 1–15, ISSN 2075-4418. doi:10.3390/diagnostics14070717. Prieiga per internetą: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11011901/>, <https://hdl.handle.net/20.500.12512/242771>, <https://10.3390/diagnostics14070717>. Science Citation Index Expanded (Web of Science); PubMed; PubMed Central; Scopus. [S1] [M.kr.: M001, N010] [Citav. rodiklis: 3.6, bendr. cit. rod.: 6.7, kvartilis: Q2 (2022. InCites JCR SCIE)]

Mokslinių konferencijų, kuriuose buvo paskelbti disertacijos tyrimų rezultatai, sąrašas

1. Radzevičienė, Aurelija; **Maslauskienė, Rima**; Vaičiūnienė, Rūta; Bumblytė, Inga Arūnė; Tretjakovs, Peteris; Gersone, Gita; Stankevičius, Edgaras. Relation of donor kidney injury biomarkers with a 1-year allograft function // *Acta Physiologica : Physiology in Focus 2023 : Tallinn, Estonia, September 14–16 2023 : Joint meeting of the Scandinavian Physiological Society, Federation of European Physiological Societies, and the Baltic Physiological Societies*, t. 239, nr. S728, p. 42 - 42, ISSN 1748-1708, 1748-1716. Prieiga per internetą: <https://hdl.handle.net/20.500.12512/240433>, <https://10.1111/apha.14044>. Science Citation Index Expanded (Web of Science); Scopus; MEDLINE; PubMed. [T1a] [M.kr.:

M001, N010] [Citav. rodiklis: 6.4, bendr. cit. rod.: 3.7, kvartilis: Q1 (2022. InCites JCR SCIE)]

2. Vaičiūnienė, R. **Maslauskienė R.** Konferencija “Baltic Nephrology Conference”, Ryga 2022 10 06–2022 10 08, žodinis pranešimas “Individualization of immunosuppression in kidney transplantation”.
3. **Maslauskienė, Rima**; Vaičiūnienė, Rūta; Bumblytė, Inga Arūnė; Tretjakovs, Peteris; Gersone, Gita; Radzevičienė, Aurelija; Stankevičius, Edgaras. The Value of donor biomarkers for predicting early graft function // XV Baltic Nephrology Conference “UpToDate in Nephrology, Dialysis and Kidney Transplantation”: Online Conference abstract book: 11–12 December 2020. [S.l.]: Lietuvos nefrologijos, dializės ir transplantacijos asociacija (LNDTA), 2020, p. 26-26. Prieiga per internetą: <https://hdl.handle.net/20.500.12512/109536>. [T2] [M.kr.: M001, M003]
4. **Maslauskienė, Rima**; Vaičiūnienė, Rūta; Bumblytė, Inga Arūnė; Tretjakovs, Peteris; Gersone, Gita; Radzevičienė, Aurelija; Stankevičius, Edgaras. Relation of donor biomarkers with changes in protocol kidney biopsies of transplanted kidney // International Lithuanian-Polish Conference on Histology: 28 February 2020, Kaunas, Lithuania. Kaunas: Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Leidybos namai, 2020. ISBN 9789955156512, p. 31-32, ISBN 9789955156512. Prieiga per internetą: <https://hdl.handle.net/20.500.12512/108240>. [T1e] [M. kr.: M001, M003]
5. Radzevičienė, Aurelija; **Maslauskienė, Rima**; Vaičiūnienė, Rūta; Bumblytė, Inga Arūnė; Tretjakovs, Peteris; Gersone, Gita; Stankevičius, Edgaras. Relation of donor kidney injury biomarkers with a 1-year allograft // PREDiCT: 5th Annual 3D Oncology and Tissue Models Summit : virtual conference : September 30-October 1, 2020. 2020, p. 1–2. Prieiga per internetą: <https://hdl.handle.net/20.500.12512/109538>. [T2] [M. kr.: M001]

Kitos publikacijos

1. Radzevičienė, Aurelija; Marquet, Pierre; **Maslauskienė, Rima**; Vaičiūnienė, Rūta; Kaduševičius, Edmundas; Stankevičius, Edgaras. Analyses of AUC (0–12) and C₀ Compliances within Therapeutic Ranges in Kidney Recipients Receiving Cyclosporine or Tacrolimus // Journal of Clinical Medicine. Basel: MDPI, 2020, vol. 9, no. 12, p. 1–23, ISSN 2077-0383. Prieiga per internetą: <https://hdl.handle.net/20.500.12512/108684>, <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33271879/>, <https://doi.org/10.3390/jcm9123903>. Science Citation Index Expanded; MEDLINE (PubMed). [S1a] [M.kr.: M001, M003] [Citav. rodiklis: 4.241, bendr. cit. rod.: 5.181, kvartilis: Q1 (2020. InCites JCR SCIE)].

2. Radzevičienė, Aurelija; Stankevičius, Edgaras; Saint-Marcoux, Franck; Marquet, Pierre; Maslauskienė, Rima; Kaduševičius, Edmundas. Pharmacokinetic evaluation of MFF in combinations with tacrolimus and cyclosporine. Findings of C₀ and AUC : observational study // *Medicine (Baltimore)*. Philadelphia : Lippincott Williams and Wilkins, 2020, vol. 99, no. 12, p. 1-6, ISSN 0025-7974, 1536-5964. Prieiga per internetą: <https://hdl.handle.net/20.500.12512/106117>, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32195940>, <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000019441>. Science Citation Index Expanded; MEDLINE (PubMed). [S1a] [M.kr.: M001, M003] [Citav. rodiklis: 1.889, bendr. cit. rod.: 5.181, kvartilis: Q3 (2020. InCites JCR SCIE)].

STRAIPSNIŲ KOPIJOS, KURIOSE SKELBIAMI SVARBIAUSI TYRIMŲ REZULTATAI



biomedicines



Article

The Influence of Tacrolimus Exposure and Metabolism on the Outcomes of Kidney Transplants

Rima Maslauskienė^{1,*}, Ruta Vaiciuniene¹, Aurelija Radzeviciene², Peteris Tretjakovs³, Gita Gersone³, Edgaras Stankevicius^{2,†} and Inga Arune Bumblyte^{1,†}

- ¹ Department of Nephrology, Medical Academy, Lithuanian University of Health Sciences, LT-44307 Kaunas, Lithuania; ruta.vaiciuniene@ismu.lt (R.V.); ingaarune.bumblyte@ismu.lt (I.A.B.)
² Institute of Physiology and Pharmacology, Medical Academy, Lithuanian University of Health Sciences, LT-44307 Kaunas, Lithuania; aurelija.radzeviciene@ismu.lt (A.R.); edgaras.stankevicius@ismu.lt (E.S.)
³ Department of Human Physiology and Biochemistry, Riga Stradins University, LV-1007 Riga, Latvia; peteris.tretjakovs@rsu.lv (P.T.); gita.gersone@rsu.lv (G.G.)
* Correspondence: rima.maslauskienė@ismu.lt; Tel.: +370-61139229
† These authors contributed equally to this work.

Abstract: Tacrolimus (TAC) has a narrow therapeutic window and patient-specific pharmacokinetic variability. In our study, we analyzed the association between TAC exposure, metabolism, and kidney graft outcomes (function, rejection, and histological lesions). TAC trough (C_0), coefficient of variation (TAC CV), concentration/dose ratio (C/D), and biomarkers related to kidney injury molecule-1 (KIM-1) and neutrophil gelatinase lipocalin (NGAL) were analyzed. We examined 174 patients who were subjected to a triple immunosuppressive regimen and underwent kidney transplantation between 2017 and 2022. Surveillance biopsies were performed at the time of kidney implantation and at three and twelve months after transplantation. We classified patients based on their Tac C/D ratios, classifying them as fast (C/D ratio $< 1.05 \text{ ng/mL} \times 1/\text{mg}$) or slow (C/D ratio $\geq 1.05 \text{ ng/mL} \times 1/\text{mg}$) metabolizers. TAC exposure/metabolism did not significantly correlate with interstitial fibrosis/tubular atrophy (IF/TA) progression during the first year after kidney transplantation. TAC CV third tertile was associated with a higher chronicity score at one-year biopsy. TAC C/D ratio at three months and Tac C_0 at six months were associated with rejection during the first year after transplantation. A fast TAC metabolism at six months was associated with reduced kidney graft function one year (OR: 2.141, 95% CI: 1.044–4.389, $p = 0.038$) and two years after transplantation (OR: 4.654, 95% CI: 1.197–18.097, $p = 0.026$), and TAC CV was associated with reduced eGFR at three years. uNGAL correlated with IF/TA and chronicity scores at three months and negatively correlated with TAC C_0 and C/D at three months and one year. Conclusion: Calculating the C/D ratio at three and six months after transplantation may help to identify patients at risk of suffering acute rejection and deterioration of graft function.

Keywords: kidney transplantation; tacrolimus monitoring; C/D ratio; tacrolimus coefficient of variation; neutrophil gelatinase-associated lipocalin; kidney injury molecule-1

1. Introduction

The most frequently prescribed maintenance immunosuppressive regimen following renal transplantation includes mycophenolate mofetil (MMF), tacrolimus (TAC), and steroids. According to the most recent data from the Scientific Registry of Transplant Recipients (SRTR), over 90% of transplant recipients in the USA receive TAC as part of their treatment [1]. While TAC is highly effective in preventing rejection, it has some significant limitations. These include a narrow therapeutic window and pharmacokinetic variability between patients, and even for the same patient over time. Personalized medicine aims to achieve tailored immunosuppression management to enhance patient and graft survival after kidney transplantation. Given the delicate balance between alloimmune risk and TAC toxicity, the monitoring of the



Citation: Maslauskienė, R.; Vaiciuniene, R.; Radzeviciene, A.; Tretjakovs, P.; Gersone, G.; Stankevicius, E.; Bumblyte, I.A. The Influence of Tacrolimus Exposure and Metabolism on the Outcomes of Kidney Transplants. *Biomedicines* **2024**, *12*, 1125. <https://doi.org/10.3390/biomedicines12051125>

Academic Editor: Paola Pontrelli

Received: 15 April 2024
Revised: 10 May 2024
Accepted: 16 May 2024
Published: 18 May 2024



Copyright: © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

effects of TACs has received considerable attention. Most transplant centers routinely apply therapeutic drug monitoring (TDM) utilizing tacrolimus through concentration measurements. While C_0 whole-blood trough concentrations do not definitely correlate with clinical outcomes [2], several studies analyzed other markers of tacrolimus exposure or metabolism, including tacrolimus concentration dose ratio (C/D) [3–6], the coefficient of variation for tacrolimus (TAC CV) [7,8], the tacrolimus daily dose concentration ratio [9], time in the therapeutic range [10,11], area under the concentration–time curve [12,13], and intra-cellular TAC concentrations in peripheral blood mononuclear cells and graft tissue [14,15]. There is currently no agreement on the most accurate and suitable additional therapeutic-drug-monitoring method for clinical practice.

The long-term outcomes of renal grafts can be influenced by inadequate or excessive immunosuppression, both of which can lead to poor outcomes such as graft failure, rejection, infectious complications, toxicity, and malignancies. Chronic allograft dysfunction is the leading cause of long-term graft loss [16]. Surveillance biopsies performed at different time intervals can identify the presence of subclinical inflammation and the progression of renal scarring. Several early studies found that lower tacrolimus trough levels are associated with the progression of interstitial fibrosis and tubular atrophy (IF/TA) [17]; other studies found an association between TAC dose reduction and subclinical inflammation but not IF/TA progression [18,19] and the risk of the appearance of donor-specific antibodies [19]. Higher intra-patient variability in TAC C_0 has also been associated with a faster progression of IF/TA [20,21], worse graft survival, and a higher risk of rejection [22].

For the non-invasive prediction of acute and chronic CNI-induced nephrotoxicity due to induced kidney vasoconstriction and interstitial fibrosis, kidney damage markers, including neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) and kidney injury molecule-1 (KIM-1), have been studied and may have value [23,24].

This study aims to analyze the association of tacrolimus exposure and metabolism markers with kidney graft histological lesions, kidney damage biomarkers, and function, and evaluate which measurement method is more appropriate for clinical practice. The novelty of this study lies in the fact that we not only analyzed the association between different measurements of tacrolimus, such as TAC C_0 , TAC C_0 CV, and C/D ratio, with respect to kidney graft function over three years, but also evaluated their association with the biomarkers KIM-1 and NGAL and graft histological lesions monitored using zero-time and surveillance biopsies.

2. Materials and Methods

2.1. Study Design and Patients

This prospective observational study included kidney recipients who received transplants at the Kaunas Clinics of the Lithuanian University of Health Sciences Hospital from May 2017 to December 2022. All kidney transplant donors and recipients were of Caucasian ethnicity. The recipients' follow-up data from three years after transplantation were analyzed. The observation period ended early in cases of graft failure, recipient death, or loss to follow-up. This study included adult patients treated with prolonged-release tacrolimus, mycophenolate mofetil (MMF), (standard protocol: 2 g per day first 3 months after transplantation and 1 g per day later), or enteric-coated mycophenolic acid (EC-MPA) and methylprednisolone (MP) during the follow-up. To assess the association between tacrolimus and histological changes, a cohort of patients who underwent both zero-time and at least one protocol biopsy was analyzed. The patients were divided into two groups according to IF/TA progression. Through a multivariate analysis to identify the factors of IF/TA progression, rejection, and graft function, we compared not only measures of tacrolimus exposure/metabolism but also several essential characteristics of the donors and recipients. To evaluate the relationship between TAC and graft function, separate TAC measurements were analyzed using $eGFR < 60 \text{ mL/min/1.73 m}^2$ vs. $\geq 60 \text{ mL/min/1.73 m}^2$. A total of 174 kidney recipients were included (Figure 1).

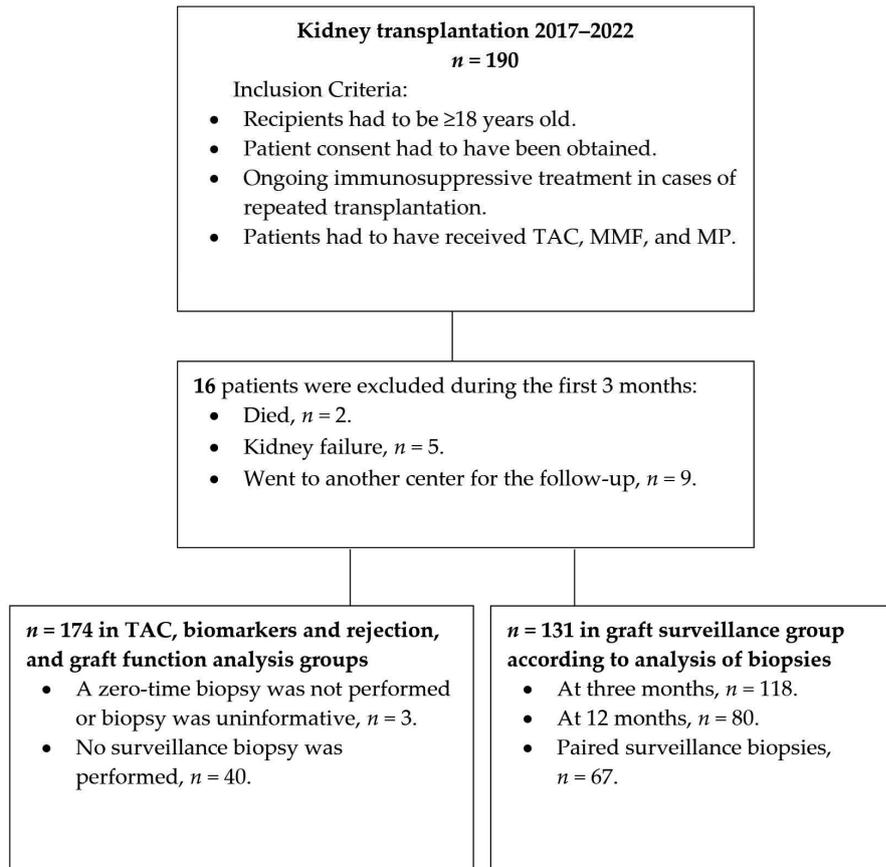


Figure 1. Study flow chart.

All clinical data were obtained from medical records in accordance with the standard of care and routine clinical practice. Laboratory values were analyzed in the hospital's laboratory as part of routine follow-up care. Kidney function was evaluated monthly from three to twelve months after transplantation. Serum creatinine concentrations were measured using the kinetic Jaffe (compensated) method, which is traceable to the isotope dilution mass spectrometry (IDMS) reference method (Analyzer AU680, Beckman Coulter, Brea, CA, USA). The estimated glomerular filtration rate (eGFR) was ascertained using the Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI, 2012) equation. Expanded criteria donors (ECD) were categorized according to the United Network for Organ Sharing criteria [25]. Delayed graft function (DGF) was defined as the requirement for dialysis during the first week after transplantation.

2.2. Biomarker Measurement

Blood and urine samples for biomarker measurements were collected at the same time as the kidney biopsies, while patients were hospitalized for kidney biopsy procedures at three months and one year after transplantation. Two commercially available biomarkers for kidney injury were tested: NGAL in serum and urine (enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit (Human Lipocalin-2/NGAL ELISA Kit; Sigma-Aldrich Chemie GmbH, St. Louis, MI, USA)) and urine KIM-1 (Quantikine ELISA kit (R&D Systems Europe, Ltd.; Abingdon, UK). Serum and urine samples were analyzed in Riga Stradins University's Department of Human Physiology and Biochemistry Laboratory as recommended by the manufacturer. A detailed description of the biomarker analysis process is described in a previously published article [26].

2.3. Histological Analysis

The urologist performed a time-zero graft biopsy in the kidney transplant operating room during surgery when kidney blood flow was restored. According to our transplant center protocol, surveillance biopsies were performed at three and twelve months after kidney transplantation under ultrasound guidance by trained radiologists using a 16-gauge automated needle. The pathologists at the National Center of Pathology evaluated the histological findings of the kidney biopsies according to the updated Banff Classification (1997) [27]. Interstitial inflammation (i) was defined as an i-score ≥ 1 , while biopsies without interstitial infiltrates (i-score = 0) were classified as no inflammation. The chronicity score was defined as the sum of glomerular basement membrane double contours (cg), interstitial fibrosis (ci), tubular atrophy (ct), vascular fibrous intimal thickening (cv), mesangial matrix expansion (mm), and arteriolar hyalinosis (ah) [28]. IF/TA score (ci + ct) was calculated for each biopsy, and the progression of IF/TA between biopsies was defined as the difference in ci + ct score from the previous surveillance biopsy ≥ 1 (on a scale of 0 to 6). In this study, patients were divided into an IFTA progression group (for which the ci+ct scores in surveillance biopsies were higher than those for the zero-time biopsy) and a stable group (for which there was no difference between the biopsies' ci+ct scores).

2.4. Immunosuppression and Tacrolimus Monitoring

Recipients were divided into immunological risk groups based on pre-transplant panel reactive antibody (PRA), HLA mismatch, and the presence of donor-specific antibodies (DSA). Low immunological risk was assessed for non-sensitized patients with 0–2 HLA mismatches. Patients were assessed as high immunological risk when PRA of 50% or more was detected, or PRA 10–49% with three or more HLA mismatches, repeated transplantation, or who were positive for DSA. Other patients were assigned to the medium-risk immunological group.

Standard immunosuppression included induction therapy with basiliximab before kidney transplantation and four days after transplantation for kidney recipients with medium or high immunological risk. High-risk recipients with a calculated PRA of 50% and more, or recipients for whom DSA were detected, received rabbit anti-thymocyte globulin. After the surgery, the patients were treated with triple immunosuppression therapy consisting of prolonged-release tacrolimus, mycophenolate mofetil (MMF) or equimolar doses of enteric-coated mycophenolic acid (EC-MPA), and steroids. The target tacrolimus concentration was 7–15 ng/mL during the first 3 months after transplantation and 5–10 ng/mL between 3 months and one year after transplantation. Routinely, all patients received MMF 2 g/d (or EC-MPA 0.72 g bid) during the first three months, and this treatment was then tapered to 1.0 g/d. Tacrolimus concentrations were determined using the affinity chromium immunoassay method via a Dimension EXL 200 (Siemens) Integrated Chemistry System. Tacrolimus levels were tested monthly for three months and after one year. Additional samples were taken when the patients arrived for the biopsy procedure. The patients' Tac C₀ data were manually reviewed, excluding values affected by untimely testing, treatment of infection, rejection, or other reasons. At least three Tac

C₀ measurements for an individual patient had to be available for IPV calculation. The intra-patient variability (IPV) in tacrolimus trough levels was evaluated as the coefficient of variability (CV), calculated as follows: CV (%) = (SD/mean) * 100. For the present study, we considered analyzing the CV of TAC C₀ between six and twelve months after transplantation. According to previous studies, we considered the highest upper tertile of CV to correspond to a high risk of adverse clinical outcomes. We employed the tacrolimus concentration/dose ratio (C/D) to analyze TAC metabolism at 3, 6, and 12 months and two and three years. According to previous studies, a C/D ratio < 1.05 µg/L × 1/mg was considered suggestive of a fast tacrolimus metabolism, and a C/D ≥ 1.05 µg/L × 1/mg was considered suggestive of a slow metabolism [3].

2.5. Statistical Analysis

Descriptive statistics were presented as means (SD) for normally distributed data, and for continuous variables not following a normal distribution, the median (interquartile range or the minimum and maximum values) was used. Categorical variables were reported as frequencies (percentages). The Chi-squared test was employed for categorical data analysis, and the McNemar test was applied to related nominal data. The Student's *t*-test was utilized to compare normally distributed continuous variables. Differences were assessed using the Mann–Whitney U-test and the Kruskal–Wallis test for continuous variables with skewed distributions. Non-normally distributed biomarker values were log-transformed. Depending on the distribution of variables, correlations between continuous variables were assessed using Pearson or Spearman tests. A logistic regression analysis was performed to analyze the associations between histological lesions, graft function, and clinical data. Factors that were significantly different between the groups according to the univariate analyses were included in multivariate analyses. The results were presented as odds ratios (OR) with a 95% confidence interval (95% CI) and the *p*-value of a likelihood-ratio test. All tests of significance were two-sided, with *p* < 0.05 considered significant. Data were analyzed using IBM SPSS Statistics for Windows, Version 29.0.2.0 (Armonk, NY, USA: IBM Corp).

3. Results

3.1. Characteristics of the Study Population

The demographic and transplant-related variables of the studied cohort are summarized in Table 1. Half of the donors (50.0%) met the extended donor (ECD) criteria. In total, 87.9% of the patients were on hemodialysis, 4% were preemptive, and 8% were on peritoneal dialysis before transplantation. A total of 90.5% of the recipients were undergoing their first kidney transplantation, while 7.5% had undergone repeated transplantations. The most common causes of end-stage renal disease were chronic glomerulonephritis (39.7%), polycystic kidney disease (12.6%), and diabetes (10.3%). During the follow-up period, biopsy-proven acute rejection episodes were diagnosed for 30 (17.4%) recipients; 24 (13.8%) cases occurred during the first year after transplantation and 11 (6.3%) of them during the first month. Cytomegalovirus infection was treated in 24 cases (13.8%), and polyoma virus BK infection was treated in 7 cases (4%). During post-transplant follow-up, post-transplant diabetes mellitus occurred in 28 (16.1%) cases. The percentage of individuals with fast tacrolimus metabolism decreased over time: 43.6% of the cohort were considered fast metabolizers at three months, changing to 42.6% at six months, 32.9% at one year, 22.7% at two years, and 18.8% at three years.

According to the protocol, starting from the third month, tacrolimus doses were reduced and significantly differed from the values at one year (8.0 (2–25) vs. 6 (1–20); *p* < 0.001), and TAC-C₀ was correspondingly lower at a later period (9.34 ± 2.93 vs. 7.5 ± 2.4 vs.; *p* = 0.014). IPV ranged from 6.08 to 59.77% (26.78 ± 11.25). The highest tertile of the TAC variability coefficient was ≥30.6251% (mean, 39.5 ± 7.42; median, 37.03; min, 30.63%; and max, 59.77%).

Table 1. Donor and recipient ($n = 174$) characteristics.

Characteristics	Values
Donor age, years	51.39 ± 15.92
Donor type, SCD/ECD, (%)	87 (50.0)/87 (50.0)
Donor gender, male/female, (%)	97 (55.7)/77 (44.3)
Donor hypertension, %	52.9
Donor creatinine, μmol/L	81 (32–332)
Cold ischemia time, hours *	15.3 (9.0–34.3)
Recipient age, years	49.09 ± 12.88
Recipient gender male/female, (%)	104 (59.8)/70 (40.2)
Recipient hypertension, %	82.8
Diabetes mellitus, %	10.9
Recipient BMI, kg/m ²	25.48 (18.2–38.9)
HLA mismatch *	3 (1–6)
Immunological risk, low/medium/high, (%)	7.0/80.2/12.8
DGF, %	26.4
Rejection during first year, %	13.8

BMI—body mass index; ECD—extended criteria donor; DGF—delayed graft function; SCD—standard criteria donor; *—values presented as median, min., or max.

3.2. Graft Biopsy Group Analysis

In the zero-time biopsy, there were 17 cases (13%) with IF/TA ($ci \geq 1$ and/or $ct \geq 1$) that were mild (8.4%) and moderate (4.6%). IF/TA score increased over time when comparing biopsies at three months and one year (1.14 ± 1.22 (0–6) vs. 0.3 ± 5.12 (0–2); $p = 0.02$). In the three-month biopsies, there were 44 cases (37.9%) with mild (19%), moderate (16.4%), and severe (2.6%) IF/TA. In the surveillance biopsies at one year, 48 cases (60.8%) of IF/TA had mild (24.1%), moderate (27.8%), and severe (8.9%) lesions. The degree of inflammatory lesions did not significantly change between biopsies ($p = 0.375$), although tubulitis incidence tended to be higher in the one-year biopsies (8.6 vs. 23.1; $p = 0.118$). Global glomerulosclerosis percentage (4.87 ± 7.43 vs. 4.40 ± 7.95 , $p = 0.625$) and arteriolar hyalinosis ($p = 0.625$) did not differ between three- and one-year biopsies; however, chronicity score (1.46 ± 1.57 ; (min 0, max 6) vs. 2.18 ± 1.96 (min 0, max 9), $p < 0.001$) significantly increased.

In the graft biopsies group, acute rejection episodes were diagnosed for twenty-one recipients during the first year after kidney transplantation; eleven cases occurred during the first month.

Overall progression of IF/TA was observed in 55% of patients (72 cases): from the zero-time biopsy to three months in 36.2% of biopsies, and from 3 months to 1 year in 46% of cases. IF/TA progression was associated with recipient age, donor hypertension, rejection episodes, and the presence of interstitial inflammation (i) ($p = 0.02$) and inflammation with tubulitis (“i + t”) ($p = 0.013$) at a one-year biopsy. There were no significant differences between biopsies in the arteriolar hyalinosis score, serving as a potential marker for tacrolimus nephrotoxicity (Supplement Table S1). Table 2 shows the properties of TAC exposure and metabolism stratified to IF/TA progression in the survival biopsies.

No statistically significant association was found between Tac C₀ concentration, the C/D ratio, the TAC IPV, and IF/TA progression. Also, no significant association was found between the periods from the zero-time biopsy to the 3-month biopsy and from the 3-month to 1-year biopsies (Supplement Table S2). TAC C₀ and C/D ratio values at six months negatively correlated with IF/TA score for the one-year biopsy ($r = -0.320$, $p = 0.004$ and $r = -0.269$, $p = 0.001$) but did not correlate with IFTA progression. Fast TAC metabolizer status was not significantly associated with IF/TA progression. There was no significant association between the TAC CV third tertile and IF/TA progression, but it was associated with a higher chronicity score at the one-year biopsy (OR: 1.429, 95% CI: 1.092–1.869, $p = 0.009$).

Table 2. Tacrolimus monitoring data arranged according to interstitial fibrosis and tubular atrophy progression between biopsies.

Variable	No IF/TA Progression <i>n</i> = 59	IF/TA Progression <i>n</i> = 72	<i>p</i> Value
TAC dose/weight at 3 months (mg/kg)	0.121 ± 0.044	0.129 ± 0.48	0.453
TAC dose/weight at 1 year (mg/kg)	0.079 ± 0.046	0.085 ± 0.052	0.507
TAC C ₀ at 3 months (ng/mL)	9.14 ± 2.89	9.49 ± 2.96	0.49
TAC C ₀ at 6 months (ng/mL)	8.03 ± 2.4	7.59 ± 2.5	0.33
TAC C ₀ at 12 months (ng/mL)	7.53 ± 2.32	7.56 ± 2.48	0.945
C/D at 3 months (ng/mL/mg)	1.18 (0.32–5.73)	1.09 (0.28–5)	0.963
C/D at 6 months (ng/mL/mg)	1.28 (0.45–5.7)	1.33 (0.3–7.5)	0.235
C/D at 12 months (ng/mL/mg)	1.3 (0.52–4.7)	1.24 (0.19–5.95)	0.454
Fast metabolizer percentage at 6 months	46.3	39.7	0.457
Fast metabolizer percentage at 1 year	40.9	30.2	0.266
TAC-C ₀ CV, %	26.27 ± 11.49	27.88 ± 10.44	0.423
Third TAC-C ₀ tertile CV	40.07 ± 8.5	38.8 ± 6.6	0.678

C/D—concentration/dose ratio; CV—coefficient of variability; IF/TA—interstitial fibrosis and tubular atrophy; TAC—tacrolimus; TAC C₀—tacrolimus trough concentration.

sNGAL was tested at the same time as a surveillance biopsy was performed and correlated with inflammation at the biopsy at three months (i) ($r = 0.317, p = 0.006$) and inflammation with tubulitis (i + t) ($r = 0.314, p = 0.006$); uNGAL correlated with IF/TA score ($r = 0.303, p = 0.046$) and chronicity score ($r = 0.347, p = 0.021$), but these relationships were not significant at the one-year biopsy. Only sNGAL at three months was associated with IF/TA progression in one-year surveillance biopsy (OR: 0.149, 95% CI: 0.027–0.815, $p = 0.028$). No significant associations were found between urinary NGAL and KIM-1 and the progression of IF/TA (Supplement Table S2).

3.3. Association between Tacrolimus Monitoring and Biomarkers

uNGAL negatively correlated with TAC C₀ at three months ($r = -0.283, p = 0.025$) and at one year ($r = -0.585, p = 0.05$), and with C/D ratio at three months ($r = -0.464, p = 0.034$) and at one year ($r = -0.525, p = 0.015$). Fast metabolizers at six months correlated with uNGAL at one year ($r = 0.567, p = 0.007$). C/D ratio at six months correlated with uKIM-1 ($r = -0.412, p = 0.041$).

3.4. Association between Tacrolimus Monitoring and Rejection

Most of the rejection episodes were diagnosed during the early period after kidney transplantation, so the relationship between tacrolimus exposure and metabolism and first-year rejections was analyzed. Based on a multivariable logistic regression analysis model, after adjusting variables deemed significant in univariate analysis, it was found that the TAC-C/D ratio at three months and Tac C₀ at six months, DGF, and the presence of diabetes mellitus were associated with rejection during the first year after transplantation Table 3.

Table 3. Logistic regression analysis of tacrolimus monitoring and clinical data associations with first-year rejection.

	Univariate			Multivariate		
	OR	95% CI	<i>p</i> Value	OR	95% CI	<i>p</i> Value
DGF	4.19	1.719–10.214	0.002	3.935	1.329–11.646	0.013
Recipient age, years	0.974	0.942–1.007	0.122			
Diabetes	3.513	1.187–10.396	0.023	3.882	1.150–13.112	0.029
Donor age, years	1.025	0.993–1.058	0.125			
Donor creatinine, μmol/L	1.007	0.999–1.014	0.083			
Cold ischemia time, hours	1.049	0.955–1.142	0.34			
TAC C ₀ at 6 months, ng/mL	0.78	0.622–0.977	0.031	0.752	0.570–0.991	0.043

Table 3. Cont.

	Univariate			Multivariate		
	OR	95% CI	p Value	OR	95% CI	p Value
Fast metabolizer at 3 months	3.017	1.214–7.497	0.017			
Fast metabolizer at 6 months	2.736	1.077–6.951	0.034			
Fast metabolizer at 1 year	2.30	0.888–5.958	0.081			
C/D at 3 months, ng/mL/mg	0.301	0.12–0.752	0.01	0.301	0.110–0.821	0.019
C/D at 6 months, ng/mL/mg	0.44	0.188–1.049	0.064			
C/D at 1 year, ng/mL/mg	0.444	0.205–0.962	0.04			

C/D—concentration/dose ratio; CI—confidence interval; DGF—delayed graft function; TAC C₀—tacrolimus trough concentration.

There was no significant association between TAC CV ($p = 0.765$) or TAC CV third tertile ($p = 0.514$) and rejection during the first year.

There was no significant association between biomarkers and rejection frequency or later graft function.

3.5. Tacrolimus Measurements and Graft Function

Regardless of metabolizer status, no significant differences were detected between TAC metabolizer type, body mass index, age, and gender.

Logistic regression was conducted to evaluate tacrolimus measurements' association with reduced graft function at one year, two years, and three years after transplantation. The patients were divided into two groups based on their eGFR levels: eGFR ≥ 60 mL/min/1.73 m², and <60 mL/min/1.73 m².

Univariable logistic regression analyses showed that TAC C₀ (OR: 0.84, 95% CI: 0.725–0.972, $p = 0.019$) and fast metabolizer type at six months (OR: 2.141 95% CI: 1.044–4.389, $p = 0.038$), along with several clinical factors, namely, donor age, donor hypertension, duration of renal replacement therapy before transplantation, cold ischemia time, usage of angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors at one year after transplantation, and IF/TA progression in surveillance biopsies, were significantly associated with 1-year eGFR. However, in multivariate analysis, only donor and recipient clinical data, constituting untested TAC monitoring parameters, were significantly associated with graft function.

Univariate analyses of graft function at two years revealed that TAC C₀ and fast metabolizer type at six months and several clinical factors, namely, donor age, affliction with hypertension, donor evaluation, rejection during the first year, higher IF/TA, and chronicity scores for one-year surveillance biopsy, were significantly associated with two-year eGFR < 60 mL/min/1.73 m². In multivariate logistic regression, being of fast TAC metabolizer type at six months remained a significant graft function predictor, along with donor age and chronicity score Table 4.

Table 4. Univariate and multivariate logistic regression analysis for the predictors of graft function (eGFR < 60 mL/min/1.73 m²) at two years.

	Univariate			Multivariate		
	OR	95% CI	p Value	OR	95% CI	p Value
Recipient age, years	1.001	0.974–1.029	0.933			
Donor age, years	1.033	1.009–1.056	0.006	1.043	1.001–1.086	0.045
Donor evaluation	3.175	1.484–6.790	0.003			
Donor hypertension	2.498	1.199–5.208	0.015			
Cold ischemia time, hours	1.117	1.013–1.232	0.027			
KRT time before transplantation, months	0.986	0.973–1.00	0.050			

Table 4. Cont.

	Univariate			Multivariate		
	OR	95% CI	p Value	OR	95% CI	p Value
TAC C ₀ at 6 months, ng/mL	0.832	0.707–0.979	0.027			
Fast metabolizer at 6 months	2.437	1.107–5.365	0.027	4.654	1.197–18.097	0.026
Rejection during first year	4.648	1.014–21.306	0.048			
IF/TA score at 1 year	2.185	1.212–3.939	0.009			
Chronicity score at 1 year	1.788	1.179–2.711	0.006	1.575	1.002–2.473	0.049

CI—confidence interval; IF/TA—interstitial fibrosis and tubular atrophy; KRT—renal replacement therapy; OR—odds ratio; TAC C₀—tacrolimus trough concentration.

In an analysis of graft function at three years, from among all the tested tacrolimus-monitoring methods, only TAC CV was a significant factor (OR: 1.068, 95% CI: 1.011–1.129, $p = 0.019$), along with the donors' factors and chronic histological lesions. Although statistically insignificant, the TAC CV's highest tertile was associated with reduced eGFR < 60 mL/min/1.73 m² at three years ($p = 0.051$).

4. Discussion

This prospective study analyzed the association between several therapeutic drug-monitoring methods for tacrolimus exposure and metabolism, such as TAC C₀, TAC C₀ CV, C/D ratio, the biomarkers KIM-1 and NGAL, IF/TA progression in kidney grafts in zero-time and surveillance biopsies, kidney graft rejection, and later kidney function over a three-year period. For eighty percent of the patient biopsies, proven rejection occurred during the first year after transplantation. A lower C/D ratio at three months and lower TAC C₀ at six months were associated with rejection. It was found that TAC metabolizer status, especially in the first year after transplantation, may help to predict graft function at one year and two years.

No significant association was found between TAC C₀ concentration, the C/D ratio, TAC IPV, the highest tertile of TAC CV, and IF/TA progression in surveillance biopsies, but the TAC CV's highest tertile was associated with a higher chronicity score at one-year biopsy, which is an independent risk factor of graft failure [28]. uNGAL negatively correlated with TAC C₀ and C/D ratio at three months and one year, and with IF/TA and chronicity scores at three-month biopsies; therefore, this may be taken to be a possible marker of CNI-induced renal injury. sNGAL at three months was associated with IF/TA progression in surveillance biopsies. The biomarkers KIM-1 and NGAL were not found to be significantly associated with rejection or eGFR over the follow-up period.

Numerous studies have analyzed the relationship between TAC IPV and patient and graft survival; however, few studies have focused on chronic histological lesion analyses [22]. Several authors have analyzed the dynamics of IF/TA inception through subsequent protocol biopsies, using different TAC C₀ CV levels of tertiles ranging from 22.1 to 44.2% [10,21,29]. Studies analyzing the association between tacrolimus and IF/TA progression have obtained conflicting results. In the study by Vanhove et al., paired surveillance biopsies were performed at 3 months and 2 years after transplantation. The patients with the third IPV tertile had an increased risk of developing moderate to severe fibrosis and tubular atrophy within two years post-transplantation compared to the lowest tertile. The authors found that kidney function did not deteriorate during the 2-year follow-up period; this indicates that high IPV may be associated with the accelerated progression of chronic histologic lesions before any evidence of kidney dysfunction. [21]. We found no relation between TAC CV and IFTA progression, but an association with a higher chronicity score was obtained. In this study, only 8.9% of the IF/TA group biopsies found lesions that were determined to be severe, with most biopsies finding minor or moderate lesions. On the other hand, 1-year protocol biopsies may not be sufficient to assess IFTA progression. It is possible that changes associated with tacrolimus metabolism and exposure might be observed in future protocol biopsies at 2 and 3 years.

A recent study by Kim H et al. showed that their low-IPV group had better five-year graft survival rates than the high-IPV group, and high IPV was linked to CNI nephrotoxicity [29]. This study data showed that higher TAC CV was associated with reduced graft function not in the early period but at three years after transplantation. Another large study by Kim EJ found that high TAC IPV significantly increases the risk of graft failure and antibody-mediated rejection in patients at high immunological risk. However, among the low-immunological-risk group patients, death-censored graft survival and rejection were not significantly different in terms of TAC IPV [7]. These results could also explain the findings regarding IPV in this study, as only 12.8 percent of the recipients were at high immunological risk.

The usefulness of NGAL and KIM-1 measurements in kidney transplantations has mainly been assessed in urine or blood samples taken early—i.e., hours or days—after transplantation. The value of biomarker measurements taken later in the period after transplantation remains less investigated. A few studies have analyzed NGAL and KIM-1 at a later period after kidney transplantation. In animal models, NGAL produced by macrophages plays a critical role in renal fibrosis [30]. In a non-transplant patient study, plasma NGAL (pNGAL) levels correlated with the degree of interstitial cell infiltration and fibrosis [31]. A recent study found that higher uNGAL levels at 3, 6, 9, and 12 months were associated with a higher kidney graft fibrosis score [32]. In early studies, during a later period after transplantation, uKIM-1 was associated with the presence of IF/TA [33] and negatively correlated with graft function [34]. In this study, serum NGAL was tested at three months when surveillance biopsies were performed, and it was associated with inflammation. At three months after transplantation, uNGAL showed a negative correlation with IF/TA and chronicity scores. While serum NGAL was associated with the progression of IF/TA at the time of the surveillance biopsy at three months, it did not have such an association at one year. However, it is essential to note that the small sample of biomarkers used in this study may have influenced the results. An early study that monitored urinary KIM-1 over a median six-year post-transplant period found that this is an independent predictor of long-term graft loss [35]. Another recent study by Kremer et al. analyzed the relationship between pNGAL measured at a median age of 5.4 years in stable kidney transplant recipients and kidney graft outcomes. pNGAL was found to be strongly associated with graft failure, especially among patients with preexisting poor kidney function and proteinuria. Elevated pNGAL concentrations were strongly associated with an increased risk of death-censored graft failure [36]. We did not find a significant association between biomarkers and graft function at three months and over a one-year period.

This study revealed a negative correlation between uNGAL and TAC C₀ and C/D at three months and at one year. uKIM-1 at six months correlated with C/D ratio, and uNGAL at one year correlated with fast metabolizer status at six months. A possible explanation for these findings is that biomarkers such as NGAL and KIM-1 may be associated with CNI-induced renal vasoconstriction [23,24].

The findings of the TAC C/D ratio and graft outcome analysis are not homogenous. Some authors found that high tacrolimus clearance was significantly associated with the development of IF/TA in the first year following renal transplantation [9]. A recent study that tested whether TAC C/D was associated with rejection during the first year, graft, and patient survival at one, three, six, nine, and twelve months does not support tailoring tacrolimus monitoring therapy based on C/D in the early post-transplant period [37]. Other authors found that fast metabolizers, classified as such according to C/D ratio measurement at three months, showed a faster decline in eGFR within five years after transplantation and a higher rejection rate than slow metabolizers [3]. In this study, the TAC C₀ at six months and the C/D ratio at three months were associated with rejection, and being a fast metabolizer at three and six months was linked to reduced graft function. This study confirms the results of other studies on the prognostic importance of TAC concentration measured after six months for renal outcomes after transplantation. The results can be attributed to immunosuppression typically being reduced in patients from the third month

onwards, with most cases stabilizing at the six-month mark. In this period, opportunistic infection prevention treatment has usually finished, and a consistent, targeted therapy for comorbid conditions is typically applied for most patients.

This study has some limitations. A small group of paired surveillance biopsies was used to analyze TAC monitoring's influence on histological graft lessons. Due to the COVID-19 pandemic, many patients, more than usual, did not agree to the performance of a surveillance biopsy. We did not have data about genetic variabilities and de novo donor-specific antibody development, which could have affected the course of kidney function and histological changes.

5. Conclusions

- The data in this study do not show an association between TAC exposure/metabolism and IF/TA progression during the first year after kidney transplantation. However, a higher TAC CV tertile was associated with a higher chronicity score at a one-year biopsy.
- Faster TAC metabolism was associated with reduced kidney graft function and an increased risk of rejection. Calculating the C/D ratio at three and six months after transplantation may help to identify patients at risk for acute rejection and deterioration of graft function and be a simple and inexpensive tool that is useful for physicians in their daily clinical practice. Based on this finding, we recommend considering more frequently monitoring fast tacrolimus metabolizers and a more cautious tapering of other immunosuppressive medicaments.
- Measuring tacrolimus blood level variability over six months to one year may help to identify patients at a greater risk of progression for chronic graft lesions and reduced long-term graft function. It may also point to potential non-adherence to immunosuppressive treatment.
- uNGAL, a possible marker of CNI-induced renal injury, negatively correlated with TAC C₀ and C/D ratio at three months and one year and with IF/TA and chronicity scores at three-month biopsies.

There was no significant association between NGAL and KIM-1, tested the same time as a surveillance biopsy was performed, with rejection frequency and later graft function.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/biomedicines12051125/s1>, Table S1. Clinical data of patients according to interstitial fibrosis and tubular atrophy progression between surveillance biopsies; Table S2. Tacrolimus monitoring and biomarkers data according to interstitial fibrosis and tubular atrophy progression between biopsies.

Author Contributions: Conceptualization, I.A.B., R.V., R.M. and E.S.; methodology, I.A.B., R.V., R.M. and A.R.; software, R.M.; formal analysis, R.M. and R.V.; investigation, P.T., G.G. and R.M.; resources, R.M., P.T., G.G., A.R. and E.S.; data curation, R.V.; writing—original draft preparation, R.M.; writing—review and editing, I.A.B., R.V., P.T., G.G., A.R. and E.S.; visualization, R.V.; supervision, E.S. and I.A.B.; project administration A.R.; funding acquisition, A.R., E.S. and P.T. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was supported by the grant from the Research Council of Lithuania (No. P-MIP-17-445). The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript; or in the decision to publish the results.

Institutional Review Board Statement: The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki, and the protocol was approved by the Kaunas Regional Ethics Committee (BE-2-52 (11 April 2014) and P1-BE-2-52/2014 (12 May 2017)).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: The data are contained within the article and Supplementary Materials. The datasets used and analyzed during the current study are available from the corresponding author (M.R.) on request. The data are not publicly available due to [restrictions on their containing information that could compromise the privacy of research participants].

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

Abbreviations

BMI	body mass index
C/D	concentration doses ratio
CI	confidence interval
DGF	delayed graft function
ECD	expanded-criteria donor
eGFR	estimated glomerular filtration rate
HD	hemodialysis
IF/TA	interstitial fibrosis and tubular atrophy
KIM-1	kidney injury molecule-1
KRT	kidney replacement therapy
NGAL	neutrophil gelatinase-associated lipocalin
MMF	mycophenolate mofetil
OR	odds ratio
TAC CV	tacrolimus coefficient of variation
TAC C ₀	tacrolimus trough concentration.

References

- Organ Procurement and Transplantation Network, United Network for Organ Sharing/Scientific Registry of Transplant Recipients. Available online: https://srrt.transplant.hrsa.gov/annual_reports/2022/Kidney.aspx (accessed on 10 April 2024).
- Andrews, L.M.; Li, Y.; De Winter, B.C.M.; Shi, Y.-Y.; Baan, C.C.; Van Gelder, T.; Hesselink, D.A. Pharmacokinetic Considerations Related to Therapeutic Drug Monitoring of Tacrolimus in Kidney Transplant Patients. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* **2017**, *13*, 1225–1236. [CrossRef] [PubMed]
- Schütte-Nütgen, K.; Thölking, G.; Steinke, J.; Pavenstädt, H.; Schmidt, R.; Suwelack, B.; Reuter, S. Reuter Fast Tac Metabolizers at Risk—It Is Time for a C/D Ratio Calculation. *J. Clin. Med.* **2019**, *8*, 587. [CrossRef] [PubMed]
- Kwiatkowska, E.; Kwiatkowski, S.; Wahler, F.; Gryczman, M.; Domański, L.; Marchelk-Myśliwiec, M.; Ciechanowski, K.; Drozd-Dabrowska, M. C/D Ratio in Long-Term Renal Function. *Transplant. Proc.* **2019**, *51*, 3265–3270. [CrossRef] [PubMed]
- Jouve, T.; Fonrose, X.; Noble, J.; Janbon, B.; Fiard, G.; Malvezzi, P.; Stanke-Labesque, F.; Rostaing, L. The TOMATO Study (Tacrolimus Metabolization in Kidney Transplantation): Impact of the Concentration–Dose Ratio on Death-Censored Graft Survival. *Transplantation* **2020**, *104*, 1263–1271. [CrossRef] [PubMed]
- Kwiatkowska, E.; Ciechanowski, K.; Domański, L.; Dziedziejko, V.; Przybyciński, J.; Pawlik, A. Inpatient Variability (IPV) and the Blood Concentration Normalized by the Dose (C/D Ratio) of Tacrolimus—Their Correlations and Effects on Long-Term Renal Allograft Function. *Biomedicines* **2022**, *10*, 2860. [CrossRef] [PubMed]
- Kim, E.J.; Kim, S.J.; Huh, K.H.; Kim, B.S.; Kim, M.S.; Kim, S.I.; Kim, Y.S.; Lee, J. Clinical Significance of Tacrolimus Intra-Patient Variability on Kidney Transplant Outcomes According to Pre-Transplant Immunological Risk. *Sci. Rep.* **2021**, *11*, 12114. [CrossRef] [PubMed]
- Leino, A.D.; King, E.C.; Jiang, W.; Vinks, A.A.; Klawitter, J.; Christians, U.; Woodle, E.S.; Alloway, R.R.; Rohan, J.M. Assessment of Tacrolimus Inpatient Variability in Stable Adherent Transplant Recipients: Establishing Baseline Values. *Am. J. Transplant.* **2019**, *19*, 1410–1420. [CrossRef] [PubMed]
- Egeland, E.J.; Reisaeter, A.V.; Robertsen, I.; Midtvedt, K.; Strøm, E.H.; Holdaas, H.; Hartmann, A.; Åsberg, A. High Tacrolimus Clearance—A Risk Factor for Development of Interstitial Fibrosis and Tubular Atrophy in the Transplanted Kidney: A Retrospective Single-Center Cohort Study. *Transpl. Int.* **2019**, *32*, 257–269. [CrossRef] [PubMed]
- Davis, S.; Gralla, J.; Klem, P.; Stites, E.; Wiseman, A.; Cooper, J.E. Tacrolimus Inpatient Variability, Time in Therapeutic Range, and Risk of De Novo Donor-Specific Antibodies. *Transplantation* **2020**, *104*, 881–887. [CrossRef] [PubMed]
- Kuypers, D.R.J. Inpatient Variability of Tacrolimus Exposure in Solid Organ Transplantation: A Novel Marker for Clinical Outcome. *Clin. Pharmacol. Ther.* **2020**, *107*, 347–358. [CrossRef] [PubMed]
- Brunet, M.; Van Gelder, T.; Åsberg, A.; Haufroid, V.; Hesselink, D.A.; Langman, L.; Lemaitre, F.; Marquet, P.; Seger, C.; Shipkova, M.; et al. Therapeutic Drug Monitoring of Tacrolimus—Personalized Therapy: Second Consensus Report. *Ther. Drug Monit.* **2019**, *41*, 261–307. [CrossRef] [PubMed]

13. Radzevičienė, A.; Marquet, P.; Maslauskienė, R.; Vaičiūnienė, R.; Kaduševičius, E.; Stankevičius, E. Analyses of AUC(0–12) and C0 Compliances within Therapeutic Ranges in Kidney Recipients Receiving Cyclosporine or Tacrolimus. *J. Clin. Med.* **2020**, *9*, 3903. [CrossRef] [PubMed]
14. Lemaitre, F.; Vethe, N.T.; D'Avolio, A.; Tron, C.; Robertsen, I.; De Winter, B.; Denicolo, A.; Koch, B.C.P.; Venkataramanan, R.; Van Gelder, T.; et al. Measuring Intracellular Concentrations of Calcineurin Inhibitors: Expert Consensus from the International Association of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology Expert Panel. *Ther. Drug Monit.* **2020**, *42*, 665–670. [CrossRef] [PubMed]
15. Sallustio, B.C. Monitoring Intra-Cellular Tacrolimus Concentrations in Solid Organ Transplantation: Use of Peripheral Blood Mononuclear Cells and Graft Biopsy Tissue. *Front. Pharmacol.* **2021**, *12*, 733285. [CrossRef] [PubMed]
16. Redondo-Pachón, D.; Calatayud, E.; Buxeda, A.; Pérez-Sáez, M.J.; Arias-Cabrales, C.; Gimeno, J.; Burballa, C.; Mir, M.; Llinàs-Mallol, L.; Outon, S.; et al. Evolution of Kidney Allograft Loss Causes over 40 Years (1979–2019). *Nefrologia* **2023**, *43*, 316–327. [CrossRef] [PubMed]
17. Naesens, M.; Lerut, E.; Damme, B.V.; Vanrenterghem, Y.; Kuypers, D.R.J. Tacrolimus Exposure and Evolution of Renal Allograft Histology in the First Year After Transplantation. *Am. J. Transplant.* **2007**, *7*, 2114–2123. [CrossRef] [PubMed]
18. Torres, I.B.; Reisaeter, A.V.; Moreso, F.; Åsberg, A.; Vidal, M.; Garcia-Carro, C.; Midtvedt, K.; Reinhold, F.P.; Scott, H.; Castellà, E.; et al. Tacrolimus and Mycophenolate Regimen and Subclinical Tubulo-Interstitial Inflammation in Low Immunological Risk Renal Transplants. *Transpl. Int.* **2017**, *30*, 1119–1131. [CrossRef] [PubMed]
19. Gatault, P.; Kamar, N.; Büchler, M.; Colosio, C.; Bertrand, D.; Durrbach, A.; Albano, L.; Rivalan, J.; Le Meur, Y.; Essig, M.; et al. Reduction of Extended-Release Tacrolimus Dose in Low-Immunological-Risk Kidney Transplant Recipients Increases Risk of Rejection and Appearance of Donor-Specific Antibodies: A Randomized Study. *Am. J. Transplant.* **2017**, *17*, 1370–1379. [CrossRef]
20. Mo, H.; Kim, S.-Y.; Min, S.; Han, A.; Ahn, S.; Min, S.-K.; Lee, H.; Ahn, C.; Kim, Y.; Ha, J. Association of Inpatient Variability of Tacrolimus Concentration With Early Deterioration of Chronic Histologic Lesions in Kidney Transplantation. *Transplant. Direct* **2019**, *5*, e455. [CrossRef] [PubMed]
21. Vanhove, T.; Vermeulen, T.; Annaert, P.; Lerut, E.; Kuypers, D.R.J. High Inpatient Variability of Tacrolimus Concentrations Predicts Accelerated Progression of Chronic Histologic Lesions in Renal Recipients. *Am. J. Transplant.* **2016**, *16*, 2954–2963. [CrossRef] [PubMed]
22. Gonzales, H.M.; McGillicuddy, J.W.; Rohan, V.; Chandler, J.L.; Nadig, S.N.; Dubay, D.A.; Taber, D.J. A Comprehensive Review of the Impact of Tacrolimus Inpatient Variability on Clinical Outcomes in Kidney Transplantation. *Am. J. Transplant.* **2020**, *20*, 1969–1983. [CrossRef] [PubMed]
23. Fu, R.; Tajima, S.; Suetsugu, K.; Watanabe, H.; Egashira, N.; Masuda, S. Biomarkers for Individualized Dosage Adjustments in Immunosuppressive Therapy Using Calcineurin Inhibitors after Organ Transplantation. *Acta Pharmacol. Sin.* **2019**, *40*, 151–159. [CrossRef]
24. Cantaluppi, V.; Dellepiane, S.; Tamagnone, M.; Medica, D.; Figliolini, F.; Messina, M.; Manzione, A.M.; Gai, M.; Tognarelli, G.; Ranghino, A.; et al. Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin Is an Early and Accurate Biomarker of Graft Function and Tissue Regeneration in Kidney Transplantation from Extended Criteria Donors. *PLoS ONE* **2015**, *10*, e0129279. [CrossRef] [PubMed]
25. Port, F.K.; Bragg-Gresham, J.L.; Metzger, R.A.; Dykstra, D.M.; Gillespie, B.W.; Young, E.W.; Delmonico, F.L.; Wynn, J.J.; Merion, R.M.; Wolfe, R.A.; et al. Donor Characteristics Associated with Reduced Graft Survival: An Approach to Expanding the Pool of Kidney Donors. *Transplantation* **2002**, *74*, 1281–1286. [CrossRef]
26. Maslauskienė, R.; Vaiciuniene, R.; Tretjakovs, P.; Gersono, G.; Radzevičienė, A.; Bura, A.; Stankevičius, E.; Bumblyte, I.A. Deceased Kidney Donor Biomarkers: Relationship between Delayed Kidney Function and Graft Function Three Years after Transplantation. *Diagnostics* **2024**, *14*, 717. [CrossRef] [PubMed]
27. Loupy, A.; Mengel, M.; Haas, M. Thirty Years of the International Banff Classification for Allograft Pathology: The Past, Present, and Future of Kidney Transplant Diagnostics. *Kidney Int.* **2022**, *101*, 678–691. [CrossRef] [PubMed]
28. Vaulet, T.; Divard, G.; Thaumat, O.; Koshy, P.; Lerut, E.; Senev, A.; Aubert, O.; Van Loon, E.; Callemeyn, J.; Emonds, M.-P.; et al. Data-Driven Chronic Allograft Phenotypes: A Novel and Validated Complement for Histologic Assessment of Kidney Transplant Biopsies. *J. Am. Soc. Nephrol.* **2022**, *33*, 2026–2039. [CrossRef] [PubMed]
29. Kim, H.; Han, A.; Ahn, S.; Min, S.-K.; Ha, J.; Min, S. Association of High Intra-Patient Variability in Tacrolimus Exposure with Calcineurin Inhibitor Nephrotoxicity in Kidney Transplantation. *Sci. Rep.* **2023**, *13*, 16502. [CrossRef] [PubMed]
30. Bonnard, B.; Ibarrola, J.; Lima-Posada, I.; Fernández-Celis, A.; Durand, M.; Genty, M.; Lopez-Andrés, N.; Jaisser, F. Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin From Macrophages Plays a Critical Role in Renal Fibrosis Via the CCL5 (Chemokine Ligand 5)-Th2 Cells-IL4 (Interleukin 4) Pathway. *Hypertension* **2022**, *79*, 352–364. [CrossRef]
31. Moriya, H.; Mochida, Y.; Ishioka, K.; Oka, M.; Maesato, K.; Hidaka, S.; Ohtake, T.; Kobayashi, S. Plasma Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL) Is an Indicator of Interstitial Damage and a Predictor of Kidney Function Worsening of Chronic Kidney Disease in the Early Stage: A Pilot Study. *Clin. Exp. Nephrol.* **2017**, *21*, 1053–1059. [CrossRef] [PubMed]
32. Chanchaoenthana, W.; Leelahavanichkul, A.; Wattanatorn, S.; Avihingsanon, Y.; Praditpornsilpa, K.; Eiam-Ong, S.; Townamchai, N. Alteration of Urinary Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin as a Predictor of Tacrolimus-Induced Chronic Renal Allograft Fibrosis in Tacrolimus Dose Adjustments Following Kidney Transplantation. *PLoS ONE* **2018**, *13*, e0209708. [CrossRef]

33. Nogare, A.L.; Veronese, F.V.; Carpio, V.N.; Montenegro, R.M.; Pedroso, J.A.; Pegas, K.L.; Gonçalves, L.F.; Manfro, R.C. Kidney Injury Molecule-1 Expression in Human Kidney Transplants with Interstitial Fibrosis and Tubular Atrophy. *BMC Nephrol.* **2015**, *16*, 19. [CrossRef] [PubMed]
34. Malyszko, J.; Koc-Zorawska, E.; Malyszko, J.S.; Mysliwiec, M. Kidney Injury Molecule-1 Correlates With Kidney Function in Renal Allograft Recipients. *Transplant. Proc.* **2010**, *42*, 3957–3959. [CrossRef]
35. Van Timmeren, M.M.; Vaidya, V.S.; Van Ree, R.M.; Oterdoom, L.H.; De Vries, A.P.J.; Gans, R.O.B.; Van Goor, H.; Stegeman, C.A.; Bonventre, J.V.; Bakker, S.J.L. High Urinary Excretion of Kidney Injury Molecule-1 Is an Independent Predictor of Graft Loss in Renal Transplant Recipients. *Transplantation* **2007**, *84*, 1625–1630. [CrossRef] [PubMed]
36. Kremer, D.; Post, A.; Gomes-Neto, A.W.; Groothof, D.; Kunutsor, S.K.; Nilsen, T.; Hidden, C.; Sundrehagen, E.; Eisenga, M.F.; Navis, G.; et al. Plasma Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin and Kidney Graft Outcome. *Clin. Kidney J.* **2022**, *15*, 235–243. [CrossRef] [PubMed]
37. Bartlett, F.E.; Carthon, C.E.; Hagopian, J.C.; Horwedel, T.A.; January, S.E.; Malone, A. Tacrolimus Concentration-to-Dose Ratios in Kidney Transplant Recipients and Relationship to Clinical Outcomes. *Pharmacotherapy* **2019**, *39*, 827–836. [CrossRef] [PubMed]

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

Deceased Kidney Donor Biomarkers: Relationship between Delayed Kidney Function and Graft Function Three Years after Transplantation

Rima Maslauskienė ^{1,*}, Ruta Vaiciuniene ¹, Peteris Tretjakovs ², Gita Gersone ², Aurelija Radzeviciene ³, Andrejus Bura ¹, Edgaras Stankevicius ³ and Inga Arune Bumbylyte ¹

- ¹ Department of Nephrology, Medical Academy, Lithuanian University of Health Sciences, LT-44307 Kaunas, Lithuania; ruta.vaiciuniene@lsmu.lt (R.V.); andrejus.bura@lsmu.lt (A.B.); ingaarune.bumbylyte@lsmu.lt (I.A.B.)
 - ² Department of Human Physiology and Biochemistry, Riga Stradins University, Dzirciema Str. 16, LV-1007 Riga, Latvia; peteris.tretjakovs@rsu.lv (P.T.); gita.gersone@rsu.lv (G.G.)
 - ³ Institute of Physiology and Pharmacology, Medical Academy, Lithuanian University of Health Sciences, A. Mickeviaus Str. 9, LT-44307 Kaunas, Lithuania; aurelija.radzeviciene@lsmu.lt (A.R.); edgaras.stankevicius@lsmu.lt (E.S.)
- * Correspondence: rima.maslauskienė@lsmu.lt; Tel.: +370-61139229

Abstract: With an increasing number of marginal donors, additional methods for the evaluation of cadaveric kidney quality are required. This study aimed to evaluate pretransplant deceased donor serum (s) and urine (u) biomarkers, including neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), kidney injury molecule-1 (KIM-1), interleukin-18, and C-X-C motif chemokine 10 (CXCL10) for predicting early and late graft function. In total, 43 deceased kidney donors and 76 corresponding recipients were enrolled. Delayed graft function (DGF) occurred in 27.6% of cases. sIL-18, sKIM-1, uNGAL, and uKIM-1 were predictors of DGF. A model incorporating sIL-18, uKIM-1, and clinical factors was developed to predict DGF (AUROC 0.863). Univariate analysis showed a negative association between uKIM and graft eGFR at 6, 12, 24, and 36 months, but this was not confirmed in the multivariate analysis. In conclusion, we report a superior performance of donor biomarkers for predicting DGF and later graft function over serum creatinine. Higher levels of donor sIL-18 and uKIM in conjunction with expanded-criteria donors and longer cold ischemia times predicted DGF. With no renal tubular damage in zero-time donor biopsies, higher pretransplant urine and serum NGAL levels were associated with better allograft function one year after transplantation, and sNGAL with graft function three years after transplantation.

Keywords: kidney transplantation; donor biomarker; NGAL; KIM-1; IL-18; CXCL10



Citation: Maslauskienė, R.; Vaiciuniene, R.; Tretjakovs, P.; Gersone, G.; Radzeviciene, A.; Bura, A.; Stankevicius, E.; Bumbylyte, I.A. Deceased Kidney Donor Biomarkers: Relationship between Delayed Kidney Function and Graft Function Three Years after Transplantation. *Diagnostics* **2024**, *14*, 717. <https://doi.org/10.3390/diagnostics14070717>

Academic Editor: Kenji Tsuji

Received: 29 January 2024

Revised: 20 March 2024

Accepted: 26 March 2024

Published: 28 March 2024



Copyright: © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Kidney transplantation represents the optimal choice for selected patients with end-stage renal disease. Compared to dialysis, transplantation improves patient survival and quality of life and reduces cardiovascular morbidity [1–4]. For kidney transplantation, the healthcare costs are significantly lower than long-term dialysis expenses [5–7]. The worldwide scarcity of donated kidneys has prompted various efforts to expand organ supply, such as accepting organs from older donors with acute kidney injury or different comorbidities [7]. Due to the increasing use of marginal organs, delayed graft function (DGF) is the most common early complication, ranging from 20.5 to 29.5% in deceased donors [8–10] and 45–65% in donation after circulatory death [11]. DGF is associated with prolonged hospitalization, increased mean treatment costs [12], and an increased risk of early infectious complications, mainly urinary tract infections and BK viremia. Prolonged DGF duration is also a risk factor for acute rejection [13–15]. Many studies have found that DGF is associated with worse graft later outcomes [13,14,16–18]. The main donor-related

risk factors for DGF are ischemia–reperfusion injury, a deceased donor, advanced donor age, expanded-criteria donors (ECDs), donor acute kidney injury (AKI), higher body mass index, race, longer cold ischemia time, and recipient-related factors such as pretransplant dialysis, HLA mismatch, and other recipient clinical conditions [19]. Success in organ transplantation lies in avoiding DGF and prolonging graft survival.

The outcomes of transplantations using ECDs and donors with AKI remain a topical issue. Current clinical practice evaluates donor kidney suitability according to urine output and serum creatinine levels. Although serum creatinine (sCr) is typically used as a marker to monitor donor kidney function and diagnose AKI, it is an insufficiently sensitive and reliable biomarker of glomerular filtration, not a marker of tubular damage.

Furthermore, donor kidney injury can exist without any change in sCr. sCr concentration may not increase when half of the kidney function remains due to compensatory increases in other nephron functions [20]. The kinetics of the rise in sCr are relatively slow after acute injury [21].

Additional methods are required for the more accurate evaluation of donor kidney injury. In recent decades, great interest has been shown in finding non-invasive, reliable, and predictive biomarkers [22,23]. Some proteomics have been developed as biomarkers for kidney damage. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), kidney injury molecule-1 (KIM-1), and interleukin-18, reflecting early pathological processes, have been studied in recent years, with varying results of clinical success. NGAL, KIM-1, and IL-18 have been shown to be markers for the early diagnosis of AKI or ischemic injury. In the last few years, several studies have indicated that C-X-C motif chemokine 10 (CXCL10) is involved in developing renal diseases. Increasing evidence suggests that CXCL10 plays an essential role in the inflammatory mechanisms induced by AKI. Also, various studies have established an association between CXCL10 levels and inflammatory/immune processes occurring during organ transplantation [24].

Our study aimed to evaluate potential biomarkers in pretransplant donors for predicting delayed graft function and graft outcomes over three years after kidney transplantation.

2. Materials and Methods

2.1. Study Design and Participants

This study is a joint project of the Lithuanian University of Health Sciences (Lithuania) and Riga Stradins University (Latvia). The prospective observational study enrolled kidney donors and corresponding recipients who underwent kidney transplantation between May 2017 and October 2020 in the Kaunas Clinics of the Lithuanian University of Health Sciences. Exclusion criteria were as follows: participants (donors and recipients) under the age of 18 years, primary recipient graft failure due to surgical causes, repeated transplants when immunosuppressive therapy was still being used, refusal of the recipient or legal representative of the donor to participate in the study.

The study enrolled 43 deceased donors and 76 kidney recipients. All donors included in the study were prepared in one university hospital following the same standards of diagnosis and treatment. All kidney transplant donors and recipients were of Caucasian descent. Expanded-criteria donors (ECDs) were defined according to the United Network for Organ Sharing (UNOS) criteria: kidney donors over the age of 60 years without comorbidities or donors over the age of 50 years with two comorbidities (history of hypertension, death from cerebrovascular accident, or terminal serum creatinine levels $> 132 \mu\text{mol/L}$) [25]. Delayed graft function (DGF) was defined by dialysis requirement during the first week after transplantation, as defined by UNOS [26]. To identify recipient-related factors for DGF, we compared several of the essential characteristics of recipients divided into immediate graft function (IGF) and DGF groups. IGF was established as patients without a need for dialysis during the first seven days after transplantation.

For the biomarker investigation, donors' serum and urine samples were collected before kidney explantation on the day of procurement. Donor kidney function was evaluated on the day of organ donation by measuring the creatinine concentration in serum. Serum

creatinine concentration was measured by the kinetic Jaffe (compensated) method, traceable to the IDMS (isotope dilution mass spectrometry) reference method (Analyzer AU680, Beckman Coulter, Chaska, MN, USA). The estimated glomerular filtration rate (eGFR) was calculated using the CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (2012)) equation.

All clinical data were obtained from medical records. Several commercially available biomarkers for kidney injury were tested in both serum and urine, including neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), interleukin-18 (IL-18), and kidney injury molecule-1 (KIM-1). C-X-C motif chemokine 10 (CXCL10) was tested in serum. Recipient follow-up data were collected for three years after kidney transplantation. Renal function was evaluated 6, 12, 24, and 36 months after transplantation. The observation period ended early in cases of graft loss, death, or the date of the last documented clinical contact with the transplant recipient. Routine laboratory values were analyzed in the hospital's local laboratory as part of routine follow-up care.

A time-zero graft biopsy was performed by the urologist in the kidney transplant operating room during surgery when kidney blood flow was restored. The histological findings in the kidney biopsies were evaluated by pathologists at the National Center of Pathology based on the Banff criteria [27]. Acute rejection episodes were defined as either biopsy-proven or clinically suspected acute rejection improved by empirical steroid pulse therapy.

The Kidney Donor Profile Index (KDPI) was included for additional information about the donors in this study. This index is not routinely used in our transplantation center. The KDRI was calculated retrospectively using ten donor characteristics (age, height, weight, ethnicity, hypertension, diabetes, cause of death, serum creatinine, hepatitis C virus status, and information about meeting donation after cardiac death criteria) determined by the Organ Procurement and Transplantation Network calculator (Available online: <https://optn.transplant.hrsa.gov/resources/allocation-calculators/kdri-calculator>, accessed on 28 January 2024). Based on the KDRI values, each kidney's KDPI score (%) was determined using the Organ Procurement and Transplantation Network (OPTN) mapping table and the donor median for the corresponding year.

The primary outcome was determining donor biomarkers' predictive performance for DGF, and the secondary outcome was establishing donor biomarkers' relationships with 6-month, 1-, 2-, and 3-year graft function.

2.2. Biomarker Measurement

Per study protocol, blood and urine samples were obtained from donors before organ procurement on the day of organ explantation. Fresh urine samples were collected using an indwelling urinary catheter tube and centrifuged for 10 min at $2500\times g$ to remove insoluble elements. Supernatants were divided into 1 mL aliquots and stored at $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Donor blood samples were left for 30–60 min at room temperature for a clot to form, then were centrifuged, and the supernatant was aliquoted for freezing at $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Donors' serum and urine samples were transported to Rigas Stradins University Laboratory, ensuring the necessary temperature conditions. The same experienced specialists performed the biomarker tests. They were blinded to clinical information about the participants. Samples were thawed at $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ before analysis. After one freeze–thaw cycle, serum and urine biomarkers were measured as recommended by the manufacturer.

Serum and urine NGAL measurement was performed using a commercial enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit (Human Lipocalin-2/NGAL ELISA Kit; Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen, Germany). The serum and urine KIM-1 assays were performed using a Quantikine ELISA kit (R&D Systems Europe, Ltd., Abingdon, UK), the serum and urine IL-18 assays were measured using an ELISA kit (Human IL18/Interleukin-18 ELISA Kit; Sigma-Aldrich Chemie GmbH), and the serum and urine IP-10/CXCL10 assays using an ELISA kit (Sigma-Aldrich Chemie GmbH). Biomarkers were expressed without correction for creatinine levels.

2.3. Statistical Analysis

Descriptive statistics are reported as mean (SD) for data with normal distribution, median (interquartile range or minimum and maximum values) for continuous variables with non-normal distribution, and frequency (percentage) for categorical variables. Chi-squared tests were used for the categorical variables. Continuous variables were compared using Students' *t*-tests. Mann–Whitney *U*-tests and Kruskal–Wallis tests were used to measure differences in continuous variables with a skewed distribution. Correlations between urine biomarkers and continuous variables were assessed by Spearman or Pearson correlation, depending on the distribution of variables. The diagnostic performances of biomarkers to predict DGF were evaluated by receiver-operating characteristic (ROC) curve analyses, and the cut-off point for DGF occurrence was determined by the maximum values of the Youden-J indexes. Factors significantly different between the DGF and IGF groups in the univariate analyses were included in multivariate logistics analyses. Non-normally distributed biomarker values were log₁₀-transformed. Multiple logistic regression analyses with a backward variable selection were used to assess the association between biomarkers and DGF in the presence of covariates and to produce the best-fit model for predicting DGF. The results are presented as odds ratios (OR) with a 95% confidence interval [95% CI] and the *p*-value of the likelihood-ratio test. The diagnostic efficacy of the best-fit model for DGF progression was evaluated through ROC curve analysis utilizing the DeLong test. Univariate linear regression was used to estimate the impact of donor and recipient variables on eGFR at 6-month, 1-year, 2-year, and 3-year intervals. Multivariable linear regression with a stepwise variable selection procedure was conducted in the univariate analysis to identify independent factors influencing graft function. The results are presented as regression coefficients (B) with 95% confidence intervals. All tests of significance were two-sided, with *p* < 0.05 considered significant. Data were analyzed using IBM SPSS Statistics Version 29.0 (New York, NY, USA) and MedCalc (Statistical Software Ltd., version 22.016, Ostend, Belgium).

3. Results

3.1. Characteristics of the Study Population

The prospective observational study enrolled 43 deceased donors. More than half of the donors (53.5%) met the ECD criteria. In total, 79.1% of the donors required inotropes to maintain hemodynamic stability. The mean age of the donors was 53.51 (SD 13.33) years (20–74 years); 37.2% of the donors were older than 60 (respectively, 52.4% in the DGF group and 21.8% in the IFG group). There were 25 (58%) men and 18 (41.9%) women. The mean KDRI was 1.1686 (SD 0.358), the mean KDPI was 59.14% (SD 26.57), and 18.5% had a KDPI of more than 80%. The most common death cause was a cerebral vascular accident (72.1%). The number of deaths from head trauma and other causes was equal [14%]. The study involved one donor after circulatory death, and 58.1% of donors had a history of hypertension. The average donor's body mass index was 25.87 (SD 3.62). On the day of kidney donation, creatinine ranged from 22 µmol/L to 221 µmol/L, with an average of 95.13 (SD 39.35) µmol/L. The median urine output was 3330 (2400–4000) mL/24 h. The creatinine level was elevated over 26.5 µmol/L (≥ 0.3 mg/dL) above normal, which could be considered AKI in 16.7% of women and 12.0% of men. Time-zero graft biopsies were performed in 75 cases. There was no significant tubular damage, such as acute tubular injury or acute tubular necrosis. The values of the donor biomarker concentrations are given in Supplementary Table S1.

The study involved 76 kidney recipients. The recipients' characteristics and transplantation details are summarized in Table 1.

Table 1. Characteristics of kidney transplant recipients, stratified by delayed graft function.

Clinical Characteristics	Total = 76	IGF n = 55 (73.4%)	DGF n = 21 (27.6%)	p Value
Mean age *, years	46.92 (13.39)	47.47 (12.85)	45.48 (14.94)	0.565
Female n (%)/male n (%)	29 (38.2)/47 (61.8)	23 (41.8)/32 (58.2)	6 (28.6)/15 (71.4)	0.288
Body mass index *, kg/m ²	25.13 (4.71)	25.08 (4.66)	25.24 (4.94)	0.898
Duration of dialysis, month	22 (1–171)	20 (1–171)	27 (9–82)	0.018
Waiting on the recipient list, days	228 (13–1332)	224 (13–1332)	282 (69–1175)	0.128
Mode of dialysis HD, n (%)	69 (90.8)	48 (87.3)	21 (100)	0.229
First transplantation (%)	69 (90.8)	51 (92.7)	18 (85.7)	0.344
Time ischemia cold *, hours	15.63 (3.95)	14.81 (3.34)	17.73 (4.68)	0.014
Time ischemia warm, min.	35 (20–80)	35.0 (23–80)	36 (20–60)	0.686
HLA mismatch level, n (%)				
0–3	48 (63.2)	36 (65.5)	12 (57.1)	0.597
3–5	28 (36.8)	19 (34.5)	9 (42.9)	
Induction with antilymphocyte preparations, n (%)				
Not intended	11 (14.5)	9 (16.4)	2 (9.5)	0.741
Basiliximab	62 (81.6)	44 (80.0)	18 (85.7)	
ATG	3 (3.9)	2 (3.6)	1 (4.8)	
CNI				
Cyclosporin, n (%)	16 (21.1)	13 (23.6)	3 (14.3)	0.371
Tacrolimus, n (%)	60 (78.9)	42 (76.4)	18 (85.7)	
Lengths of stay in hospital *, days	19.9 (7.99)	18 (5.3)	25.2 (11.3)	<0.001

HD—hemodialysis; ATG—antithymocyte globulin; CNI—calcineurin inhibitor; DGF—delayed graft function; eGFR—estimated glomerular filtration rate; IGF—immediate graft function; PD—peritoneal dialysis. Values reported are median (min.–max.), means (SD *), or n (%). Continuous variables were compared using Mann–Whitney *U*-tests or Students' *t*-tests as appropriate, and categorical variables were compared using the Chi-squared test. Bold formatting indicates statistically significant *p* values (*p* < 0.05).

Out of the total number of kidney transplantations performed, four [5.3%] were pre-emptive. Three (3.9%) patients were on peritoneal dialysis. None of these before-mentioned patients experienced DGF. Of the recipients, 90.8% underwent their first kidney transplantation, while 9.2% had repeated transplantations. Of them, 5.3% underwent a second transplantation, 2.6% had a third, and 1.3% had a fourth transplantation. The median waiting time for kidney transplantation was 228 (13–1332) days. The most common cause of end-stage renal disease was chronic glomerulonephritis (31.6%), followed by polycystic kidney disease at 13.2%, diabetes at 9.2%, pyelonephritis at 9.2%, arterial hypertension at 5.3%, and other reasons at 31.6%. There were no significant differences between the DGF and IGF groups according to kidney disease diagnosis. Antibody induction was given to 65 (85.5%) recipients. The immunosuppressive protocol was triple therapy for all patients with methylprednisolone, mycophenolate mofetil, and a calcineurin inhibitor (cyclosporine or tacrolimus). DGF occurred in 27.6% of recipients with a need for 1 to 16 sessions of hemodialysis.

Recipients who had worse early graft function had significantly longer dialysis vintage. Cold ischemic time was longer in the DGF group. Patients with DGF had more extended hospital stays (Table 1).

Donors in the DGF group were older than those in the IGF group and had a more significant ECD ratio (76.2 vs. 41.8%), with a higher KDPI percentage (45 vs. 13%). Donor creatinine was not significantly different between the groups (*p* = 0.511) (Table 2).

Table 2. Kidney donor characteristics, stratified by delayed graft function.

Characteristics	IGF <i>n</i> = 55	DGF = 21	<i>p</i> Value
Donor age, years	49.65 (14.4)	59.9 (7.0)	0.003
Donor gender male/female (%)	54.5/45.5	57.1/42.9	0.839
Donor BMI, kg/m ²	25.2 (3.5)	26.97 (3.5)	0.66
Cerebrovascular death cause (%)	70.9	76.2	0.778
History of hypertension (yes vs. no) (%)	50.9/49.1	66.7/33.3	0.303
Expanded-criteria donors, (yes vs. no) (%)	41.8/58.2	76.2/23.8	0.007
KDPI (%)	50.36 (26.6)	71.85 (19.8)	0.02
KDPI > 80 (%), (yes vs. no)	13/87	45/55	0.018
Donor urine output, mL/kg/h	1.85 (1.2–2.3)	1.51 (1.1–2.3)	0.41

BMI—body mass index; eGFR—estimated glomerular filtration rate; DGF—delayed graft function; IGF—immediate graft function; KDPI—kidney donor profile index. Values reported are presented as median (interquartile ranges), means (SD), or *n* (%). Continuous variables were compared using Mann–Whitney *U*-tests, and categorical variables were compared using the Chi-squared test.

The serum NGAL (sNGAL), urinary IL-18 (uIL-18), and serum CXCL10 values did not differ between the DGF and IGF groups. Other biomarkers such as serum IL-18 (sIL-18), serum KIM-1, urinary NGAL (uNGAL), and urinary KIM-1 (uKIM-1) levels were significantly higher in the DGF group compared to the IGF group (Table 3). There was a statistically significant correlation between the donors' serum creatinine and the donors' sKIM-1 ($r = 0.334$, $p = 0.04$), sNGAL ($r = 0.360$, $p = 0.002$), and uNGAL ($r = 0.2900$, $p = 0.037$).

Table 3. Comparison of donor biomarkers between immediate and delayed graft function groups.

Characteristics	IGF <i>n</i> = 55	DGF = 21	<i>p</i> Value
Donor serum creatinine, $\mu\text{mol/L}$	89.6 (32.1)	99.4 (42.2)	0.511
Serum NGAL pg/mL	25,496.1 (13,583.0–42,939.6)	44,460.5 (15,664.3–62,027)	0.140
Serum IL-18 pg/mL	162.97 (108.18–243.3)	298.1 (160.6–380.5)	0.006
Serum KIM-1 ng/mL	224.8 (111.5–352.7)	283.0 (223.6–827.8)	0.010
Serum CXCL10 pg/mL	39.61 (29–98.9)	41.49 (29.0–134.5)	0.614
Urinary NGAL pg/mL	1219.1 (821.9–1219.1)	2921.7 (1208.4–5766.4)	0.047
Urinary IL-18 pg/mL	9.7 (3.3–17.6)	14.3 (6.0–23.4)	0.25
Urinary KIM-1, ng/mL	1.4 (0.7–3.97)	3.2 (2.4–6.5)	0.014

CXCL10—C-X-C-motif chemokine 10; DGF—delayed graft function; IGF—immediate graft function; IL-18—interleukin-18 (serum, urine); NGAL—neutrophil gelatinase-associated lipocalin; KIM-1—kidney injury molecule-1 (serum, urine). Values are presented as median (interquartile ranges), means (SD), or *n* (%). Continuous variables were compared using Mann–Whitney *U*-tests, and categorical variables were compared using the Chi-squared test.

During follow-up, recipients with DGF showed significantly lower kidney function than those without DGF after 1, 3, 6, 12, and 36 months (Supplementary Table S2). No significant differences in graft function after 24 months were observed between the DGF and IGF groups. Acute rejection occurred in 10.5% ($n = 8$) of recipients during the first year, with a significant difference between the DGF (23.8%) and IGF (5.5%) groups ($p = 0.033$). No statistically significant differences existed between donor biomarker concentrations and acute rejection during the first year after transplantation.

3.2. Predictive Performances of Donor Biomarkers for Delayed Graft Function

The diagnostic performances of biomarkers for predicting DGF were assessed using ROC curve analysis. sIL-18, sKIM-1, uNGAL, and uKIM-1 were found to be significant predictors of DGF, whereas serum NGAL ($p = 0.150$), urine IL-18 ($p = 0.222$), and sCXCL10 ($p = 0.648$) were not. The diagnostic performances of the biomarkers' area under the receiver-operating characteristic curve (AUROC) with optimal cut-off values for the risk of DGF are shown in Table 4.

Table 4. Diagnostic performance of donor biomarkers for delayed graft function.

Biomarker	AUROC 95% CI	p Value	Sensitivity Specificity (%)	Biomarker Cut-Off Values	OR 95% CI	p Value
sIL-18 pg/mL	0.706 [0.577–0.835]	0.002	90 46.6	147.3	3.462 [1.665–36.906]	0.003
sKIM-1 pg/mL	0.694 [0.562–0.826]	0.004	95 35.71	161.3	10.0 [1.246–80.245]	0.009
uKIM-1 ng/mL	0.710 [0.574–0.846]	0.002	93.8 53.7	1.2	9.5 [1.158–77.908]	0.014
uNGAL pg/mL	0.717 [0.5914–0.8217]	0.001	87.5 53.1	1161.3	7.913 [1.623–38.352]	0.008

AUROC—area under the receiver-operating characteristic curve; CI—confidence interval; OR—odds ratio; sIL-18—serum interleukin-18; sKIM-1—serum kidney injury molecule-1; uKIM-1—urine kidney injury molecule-1; uNGAL—urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin; Pearson Chi-square test.

We developed a model to evaluate the performance of donor biomarkers in predicting DGF. The model incorporates the donor biomarkers and factors identified in previous clinical studies that are known predictors of DGF [28]. Univariate logistic regression analyses showed that donor age, ECD, KDPI, cold ischemia time, and serum and urine KIM-1 and sIL-18 were significantly associated with DGF. Surprisingly, there was not statistically significant ($p = 0.087$) association between uNGAL and DGF (Table 5).

Table 5. Univariate and multivariate logistic regression analyses for predictors of delayed graft function.

	Univariate				Multivariate			
	B Coefficient	OR	95% CI	p Value	B Coefficient	OR	95% CI	p Value
Donor age (year)	0.77	1.080	1.022–1.141	0.006				
Expanded-criteria donors	1.583	4.87	1.567–15.13	0.006	2.204	9.016	2.04–40.23	0.004
Dialysis vintage (months)	0.02	0.002	0.996–1.008	0.571				
Cold ischemia time (hours)	0.193	1.213	1.062–1.385	0.004	0.278	1.320	1.074–1.624	0.008
Donor creatinine (μmol/L)	0.007	1.007	0.993–1.022	0.322				
KDPI, %	0.036	1.037	1.012–1.062	0.004				
Log-transformed sIL-18	2.819	16.765	1.732–162.283	0.015	1.998	0.136	0.022–0.824	0.030
Log-transformed sKIM-1	2.423	11.279	1.802–70.603	0.010				
Log-transformed uKIM-1	2.812	16.645	1.703–162.707	0.016	2.50	12.178	1.226–120.975	0.033
Log-transformed uNGAL	1.127	3.085	0.849–11.209	0.087				

KDPI—kidney donor profile index; sIL-18—serum interleukin-18; sKIM-1—serum kidney injury molecule-1; uKIM-1—urine kidney injury molecule-1; uNGAL—urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin; B coefficient—regression coefficient; CI—confidence interval; OR—odds ratio. Biomarker values were log₁₀-transformed.

The multivariate logistic regression analysis demonstrated that the reduced best-fit model, which may be helpful to predict graft function in the early period after transplantation, included donor evaluation (extended or standard criteria donor), cold ischemia

time, and two biomarkers—sIL-18 and uKIM-1. However, variables significant in the univariate analysis, such as donor age, KDPI, higher than eighty percent KDPI, and sKIM-1 concentration, were insignificant in the multivariate analysis (Table 5).

Using predictors associated with DGF, as indicated by the multivariate logistic regression analysis, we performed an ROC curve analysis to assess the diagnostic performance of the reduced best-fit model. The AUROC of the model was 0.863 [95% CI 0.651–0.856], $p = 0.0006$. This model included biomarkers (uKIM-1, sIL-18) and selected clinical data concerning donor evaluation type (ECD or SCD) and cold ischemia time. Analogously, a reduced best-fit model without biomarkers was performed based only on the same clinical data. The AUROC of this model was 0.765 [95% CI 0.766–0.930], $p < 0.0001$, and it had a significantly lower ability to predict DGF versus the biomarkers-included model ($p = 0.0324$; DeLong test) (Figure 1).

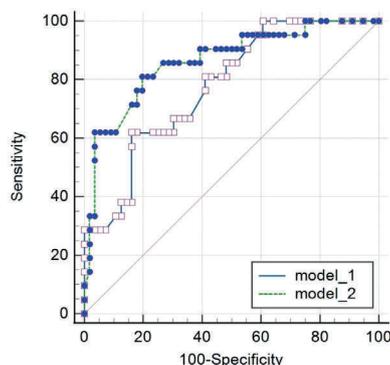


Figure 1. Comparison of diagnostic accuracy of the receiver-operating characteristic curves of the reduced best-fit models with and without biomarkers. Model 1—donor evaluation (ECD or SCD) and cold ischemia time. Model 2—donor evaluation (ECD or SCD), cold ischemia time, and biomarkers uKIM-1 and sIL-18. Difference between areas = 0.0872; $p = 0.0324$ in DeLong test [95% CI 0.00731–0.167]. CI—confidence interval; ECD—extended-criteria donors; SCD—standard-criteria donors; uKIM-1—urine kidney injury molecule-1; sIL-18—serum interleukin-18.

3.3. Donor Biomarker Associations with Later Graft Function

We did not find a significant correlation between donor creatinine and recipient graft function up to three years after transplantation. Only uKIM showed a statistically significant negative correlation with graft function throughout the observation period at 1 month ($r = -0.415$, $p = 0.03$), 3 months ($r = -0.359$, $p = 0.01$), 6 months ($r = -0.361$, $p = 0.009$), 1 year ($r = -0.329$, $p = 0.026$), 2 years ($r = -0.358$, $p = 0.02$), and 3 years ($r = -0.457$, $p = 0.004$) after transplantation. NGAL did not correlate with eGFR in the early post-transplant period. However, a correlation was found with sNGAL and eGFR at six months ($r = 0.251$, $p = 0.063$), 1 year ($r = 0.263$, $p = 0.037$), 2 years ($r = 0.369$, $p = 0.004$), and 3 years ($r = 0.329$, $p = 0.017$). uNGAL correlated with kidney function only after one year ($r = 0.308$, $p = 0.045$).

Univariate linear regression analysis showed a significant negative association between uKIM and renal function at six months (β coefficient = -0.361 , [95% CI -48.11 to -37.129], $p = 0.009$), but this was not confirmed in the multivariate analysis.

Univariate linear regression analyses found that donor age, KDPI, cold ischemia time, DGF, uKIM-1, serum, and urine NGAL were significantly associated with 1-year eGFR. Multiple linear regression analyses with a stepwise variable selection showed that donor age, cold ischemia time, and uNGAL are significant predictors of 1-year graft function after

adjusting other variables (Table 6). KDPI and donor age correlated; therefore, we chose to analyze age because KDPI is not routinely used in our center.

Table 6. Univariate and multivariate linear regression analyses predicting 1-year graft functioning.

	Univariate			Multivariate		
	β Coefficient	95% CI	<i>p</i> Value	β Coefficient	95% CI	<i>p</i> Value
Donor age (year)	−0.437	−0.926 to −0.290	<i>p</i> < 0.001	−0.50	−1.056 to −0.288	0.01
Donor creatinine	0.062	−0.111 to 0.184	0.624			
Cold ischemia time (hours)	−0.317	−2.742 to −0.375	0.011	−0.298	−3.288 to −0.92	0.039
Dialysis vintage (months)	−0.062	−0.227 to 0.140	0.637			
DGF	−0.304	−24.439 to −2.776	0.015			
Log-transformed sKIM-1	−0.176	−25.5 to 4.739	0.175			
Log-transformed sNGAL	0.263	0.803 to 24.852	0.026			
Log-transformed uNGAL	0.302	0.325 to 22.732	0.044	0.32	1.362–24.084	0.029
Log-transformed uKIM-1	−0.329	−38.88 to −2.66	0.026			

β —standardized beta coefficient; CI—confidence interval; DGF—delayed graft function; KDPI—kidney donor profile index; sKIM-1—serum kidney injury molecule-1; uKIM-1—urine kidney injury molecule-1; NGAL—urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin (in serum; in urine).

In the univariate linear regression analyses, sNGAL and uKIM-1 were significantly associated with 2-year eGFR (sNGAL β coefficient = 0.349, *p* = 0.004; uKIM-1 β coefficient = −0.358, *p* = 0.020), but their significance was not confirmed in the multivariate analysis.

In the univariate linear regression analyses, sNGAL (β coefficient = 0.346, [95% CI 3.937–31.572], *p* = 0.013) and uKIM-1 (β coefficient = −0.457, [95% CI −51.806 to −10.685], *p* = 0.004) were significantly associated with 3-year graft function. In the multivariate linear regression analyses, sNGA, donor age, and cold ischemia time were predictors of 3-year eGFR (β coefficient = 0.289, [95% CI 0.334–30.84], *p* = 0.045) after the DGF and biomarkers were adjusted.

4. Discussion

This observational study aimed to evaluate clinically available and relatively simple tested donor biomarkers to predict delayed graft function and later outcomes up to three years after transplantation.

The routine testing of donor sCr did not accurately predict early or late graft outcomes. We found that pretransplant uKIM-1, sKIM-1, sIL-18, and uNGAL were reliable for predicting the occurrence of DGF. We determined the cut-off values of biomarkers and developed a reduced best-fit model that could be helpful in predicting graft function in the early post-transplant period in clinical practice. After adjusting for other variables, the model revealed the prognostic value of donor evaluation (extended or standard criteria donors), cold ischemia time, and two biomarkers—sIL-18 and uKIM-1. The diagnostic performance of this model was found to be significantly better than that of the donor clinical factors alone. The predictive performance of the donor biomarkers for later graft function was also tested. Donor biomarkers were significantly associated with 1-year graft outcomes (uKIM-1 negatively; uNGAL and sNGAL positively), but ultimately, only uNGAL’s predictive value with donor age was confirmed in the multivariate analysis. Three-year outcomes were associated with pretransplant sNGAL.

The evaluation of kidney graft quality is critical to effectively increase the donor pool and improve short- and long-term transplant outcomes. Grafts from ECDs yield inferior outcomes than standard-criteria donors, with higher incidences of DGF and primary non-function. Finding additional methods to evaluate the deceased donor's kidney quality is crucial in this field.

In the last few years, many new technologies have emerged to examine organ function, including transcriptomics, genomics, proteomics, metabolomics, and innovative solutions in organ perfusion [29]. Numerous potential biomarkers, quantified in serum, urine, renal tissues, and perfusate, have been tested to diagnose donor AKI and predict DGF, acute rejection, and chronic allograft dysfunction. Most published studies analyze recipients' materials, but fewer significant studies analyzing donor biomarkers have been performed.

In this study, particular attention was drawn to donor biomarkers. Our results showed that donor sCr levels did not predict early or later graft outcomes. These findings are consistent with the existing literature showing that donor AKI diagnosis based on sCr is not associated with worse recipient outcomes in the long term [30,31], while other authors find generally less favorable graft outcomes if the donor had an AKI [32,33].

In this study, sKIM-1 correlated with donor sCr, while uKIM-1 was associated with DGF. This is a novel finding which needs to be confirmed in further studies. Kidney injury molecule-1 is expressed in the kidney proximal tubular cells, liver, and spleen. uKIM-1 is recognized as an early and specific urinary biomarker for kidney injury and has been tested in many AKI studies [34]. There are a small number of studies that have tested blood KIM-1 in kidney disease [35,36]. Recently, a small study analyzed the diagnostic performance of serum and urine KIM-1 in renal donors and recipients to predict DGF. However, the authors did not produce statistically significant results [37]. Field's published study on multi-organ donors found that a higher donor urinary KIM-1 level was associated with a worse early function of transplanted kidneys [38]. P. Reese et al., in a large prospective study, found that even though the levels of tested donor biomarkers were higher in recipients with DGF, the association of uKIM-1 with DGF was significant only for the middle biomarker tertiles [39].

Another donor biomarker associated with DGF in this study was uNGAL. NGAL is primarily known as a biomarker of acute kidney injury and is released after tubular damage and during the processes of renal regeneration. NGAL may play a role as a predictor of renal function decline and mortality due to kidney failure [40]. We confirmed the results published by Halmen et al., showing that donor NGAL concentrations correlated directly with donor plasma creatinine levels. In the study by Halmen et al., high donor uNGAL concentration was associated with prolonged DGF and more histological changes in the donor kidney biopsies. Still, uNGAL and sNGAL failed to predict DGF. It is important to note that this study did not include donors with AKI based on plasma creatinine levels [41]. P. Reese et al. found that the levels of donor uNGAL were higher in recipients with DGF. However, the multivariate analysis revealed a positive association between donor uNGAL concentrations and a modest increase in the relative risk of recipient DGF [39]. Koo et al. investigated the levels of donor urine biomarkers to predict reduced graft function and slow graft function. Multivariate analyses, adjusted for several donor factors, showed that donor uNGAL was associated with donor AKI and predicted reduced recipient kidney function [42]. Whether urine NGAL or plasma NGAL is the better predictor for graft outcomes remains an unresolved question among kidney recipients. A recent meta-analysis suggests that the recipient's urine and serum/plasma NGAL are valuable biomarkers for the early identification of DGF in kidney transplantation [43]. The prognostic significance of donor sNGAL for graft outcomes has been little studied. Buemi et al. found no correlation between donor plasma NGAL and uNGAL values and the occurrence of DGF [44]. In our study, sNGAL was not associated with DGF, but had a prognostic value in later outcomes.

Pretransplant IL-18 for the prediction of DGF was also examined. IL-18 is produced by T cells and macrophages and is a multifunctional cytokine involved in both mediating and predicting AKI. It mediates various inflammatory and oxidative responses, including renal injury, fibrosis, and graft rejection [45].

Studies have shown that IL-18 levels are significantly higher in the urine of patients with acute tubular necrosis and DGF [46]. Higher levels of urinary IL-18 in deceased donor kidney recipients within the first 24 h after transplantation have been associated with higher rates of DGF and suboptimal allograft function. However, the role of donor serum IL-18 as a biomarker to predict early graft dysfunction after kidney transplantation is poorly defined. Our study found that donor sIL-18 has a predictive value for DGF, but there are no correlations with later graft function.

In the last few years, some new biomarkers have been developed. Different studies have indicated that C-X-C motif chemokine 10 (CXCL10) is involved in developing renal diseases through the chemoattraction of inflammatory cells and facilitating cell growth and angiostatic effects [24]. This chemokine has been well studied as a graft-rejection predictor; its role in ischemic reperfusion injury has been shown in mice models [24,47]. Several studies have demonstrated that urinary CXCL10 expression is significantly elevated during AKI [48]. The pretransplant elevation of serum CXCL10 concentration in patients with acute rejection shows an association with the risk of graft failure [48,49]. Urinary CXCL10 levels increase in patients experiencing acute rejection [50] and in pediatric patients with declining renal allograft function [51]. A few studies evaluate donor CXCL10 as a biomarker and its value for the recipient's graft outcomes. A recent multicenter study of 1100 deceased donors and 2869 recipients who underwent various types of transplants [1470 kidney recipients] found that the instability of hemodynamics, anoxia as a death cause, the presence of risk factors associated with cardiovascular disease, and the presence of active infection were significant predictors of donor serum CXCL10 levels. High CXCL10 level was significantly associated with a lower probability of immediate kidney graft function and predicted recipient survival after kidney, liver, and heart transplantation [52]. In our study, the level of serum CXCL10 was higher in the ECD group ($p < 0.001$) but was not associated with DGF or kidney transplant function in the three years after transplantation.

The purpose of studies on biomarkers is to facilitate an early and personalized diagnosis and prognosis for each patient. A reduced best-fitting model, which included two selected donor biomarkers (sIL-18 and uKIM-1) and two critical clinical factors [donor evaluation—ECD or SCD—and cold ischemia time] was used in the logistic regression analysis in this study. The model may be helpful in deciding on medical intervention after transplantation. Additionally, cut-offs for medical decision making based on the predictive values obtained through data analysis are proposed. Koo et al.'s study also created a prediction model of early graft dysfunction based on donor biomarkers. This model included donor uNGAL, uL-FABP, and sCr, and had a better predictive value for reduced graft function than donor sCr alone [42]. This model may help evaluate the suitability of a potential donor kidney for transplantation.

We evaluated donor biomarkers' predictive performance for later graft function.

uKIM-1 (negatively) and uNGAL (positively) were associated with 1-year graft outcomes, but only uNGAL predictive values were confirmed in the multivariate analysis. This is a different result from the study by Halmen et al., where high donor uNGAL concentrations were associated with worse 1-year kidney graft survival [41]. In Koo et al.'s study, uNGAL level negatively correlated with kidney function at 3, 6, and 12 months after transplantation. Urinary KIM and NGAL were negatively associated with 1-year eGFR in the univariate analyses, but their significance was not confirmed in the multivariate analysis. In another study, Modelina et al. found no statistically significant associations between donor urinary NGAL, KIM-1, or IL-18 concentrations above the cut-off levels and the 6-month graft eGFR [53]. In the study by Reese et al., pretransplant uNGAL was associated with 6-month eGFR only among recipients without DGF, whereas KIM-1 and IL-18 were not associated at all. The results of this study suggest that donor urinary biomarkers provide limited value in predicting recipient allograft function at six months post-transplantation [39]. The authors continued follow-up and concluded that the risk of graft failure and the 3-year composite outcome did not vary with donor injury biomarker concentrations after adjusting for donor, transplant, and recipient characteristics. Also,

subclinical donor AKI (elevated urine injury biomarkers and normal sCr) was not associated with graft failure [54]. Various research findings suggest that further in-depth studies should be performed.

The role of donor serum biomarkers in predicting subsequent graft outcomes is poorly defined. Brain death causes a cytokine storm and inflammatory response that might explain the high levels of sNGAL in donors whose kidneys appear to be healthy [41]. In our study, only sNGAL had a prognostic value for later outcomes: sNGAL was significantly positively correlated with kidney function at 6, 12, 24, and 36 months. We found that sNGAL, along with other clinical data, may predict kidney function three years after transplantation. Based on evidence from other studies, we hypothesize that NGAL is an acute-phase protein involved in inflammation. One source of NGAL in serum is the activation process of neutrophils and monocytes during the acute phase of the reaction, so serum NGAL elevation may not result only from decreased kidney glomerular filtration or tubular damage. Its main antibacterial mechanism is the regulation of iron metabolism, but it may also influence chemotaxis, adhesion, and the migration of inflammatory cells. This suggests that NGAL may provide protection in AKI [40,55] and induce protective processes that support long-term recovery. We hypothesize that in the absence of donor chronic kidney disease and no signs of renal tubular damage in zero-time biopsies, a higher NGAL concentration also indicates a possible increase in renal reserve and graft function in the future.

Our study has several strengths. It is a prospective study with an extensive follow-up period of three years. While the surge in innovative studies is noteworthy, most biomarker measurement techniques require sophisticated technological apparatus and an extended duration to yield results. Our investigation incorporated an analysis of a panel of biomarkers, which included relatively straightforward tests for NGAL, KIM-1, IL-18, and the novel addition to the DGF field, CXCL10. Rapid biomarker tests would provide additional information about the status of the donor's kidney and could personalize medical decisions after transplantation.

There are several limitations to our study. The small sample size limited the statistical accuracy, making it difficult to draw more conclusive predictions. The donors' urinary biomarker values were not normalized to the biomarker/creatinine ratio; nevertheless, only a small number of donors in this study were polyuric. More extensive studies should be performed to confirm donor biomarkers' relationships with kidney graft function. The follow-up of our study included the COVID-19 pandemic period, and some of the recipients experienced adverse events of this disease with some influence on graft function, independent of the quality of the donor's kidney.

5. Conclusions

We found that the level of biomarkers is a better predictor of DGF and later graft function compared to serum creatinine measured at the same time. Higher levels of donor serum IL-18 and urine KIM in conjunction with expanded-criteria donors and longer cold ischemia times predicted DGF better than clinical criteria alone. Without renal tubular damage in zero-time donor biopsies, higher pretransplant donor urine and serum NGAL were associated with better recipient allograft function one year after transplantation, and serum NGAL was associated with graft function three years after transplantation.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/diagnostics14070717/s1>, Table S1: Results of donor biomarker values; Table S2: Characteristics of recipient outcomes, stratified by delayed graft function.

Author Contributions: Conceptualization, I.A.B., R.V., R.M. and E.S.; methodology, I.A.B., R.V., R.M. and A.R.; software, R.M.; formal analysis, R.M. and R.V.; investigation, P.T., G.G., A.B. and R.M.; resources, A.B., R.M., P.T., G.G., A.R. and E.S.; data curation, R.V.; writing—original draft preparation, R.M.; writing—review and editing, I.A.B., R.V., P.T., G.G., A.R., E.S. and A.B.; visualization, R.V.;

supervision, I.A.B. and E.S.; project administration A.R.; funding acquisition, A.R., E.S. and P.T. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was supported by the grant from the Research Council of Lithuania (No. P-MIP-17-445). The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript; or in the decision to publish the results.

Institutional Review Board Statement: The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki, and the protocol was approved by the Kaunas Regional Ethics Committee (BE-2-52 (11 April 2014) and P1-BE-2-52/2014 (12 May 2017).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: The datasets used and/or analyzed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

Abbreviations

AKI = acute kidney injury, ATG = antithymocyte globulin, AUROC = area under the receiver-operating characteristic curve, CI = confidence interval, CXCL10 = C-X-C motif chemokine 10, DGF = delayed graft function, ECD = expanded-criteria donor, eGFR = estimated glomerular filtration rate, HD = hemodialysis, HLA = human leukocyte antigen, IGF = immediate graft function, KDPI = kidney donor profile index, NGAL = neutrophil gelatinase-associated lipocalin, ROC = receiver-operating characteristic, SCD—standard criteria donors, sIL-18 = serum interleukin-18, sNGAL = serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin, sCR = serum creatinine, uIL-18 = urinary interleukin-18, uKIM-1 = urinary kidney injury molecule-1, uKIM-1 = urinary kidney injury molecule-1, uNGAL = urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin.

References

1. Kiberd, B.A.; Tennankore, K.K.; Vinson, A.J. Comparing the Net Benefits of Adult Deceased Donor Kidney Transplantation for a Patient on the Preemptive Waiting List vs. a Patient Receiving Dialysis. *JAMA Netw. Open* **2022**, *5*, e2223325. [CrossRef] [PubMed]
2. De Vries, A.M.; Helgeson, V.S.; Schulz, T.; Almansa, J.; Westerhuis, R.; Niesing, J.; Navis, G.J.; Schroevers, M.J.; Ranchar, A.V. Benefit finding in renal transplantation and its association with psychological and clinical correlates: A prospective study. *Br. J. Health Psychol.* **2019**, *24*, 175–191. [CrossRef] [PubMed]
3. Strohmaier, S.; Wallisch, C.; Kammer, M.; Geroldinger, A.; Heinze, G.; Oberbauer, R.; Haller, M.C. Survival Benefit of First Single-Organ Deceased Donor Kidney Transplantation Compared with Long-term Dialysis Across Ages in Transplant-Eligible Patients with Kidney Failure. *JAMA Netw. Open* **2022**, *5*, e2234971. [CrossRef] [PubMed]
4. Fidan, C.; Ağırbaş, İ. The effect of renal replacement therapy on health-related quality of life in end-stage renal disease: A meta-analysis. *Clin. Exp. Nephrol.* **2023**, *27*, 829–846. [CrossRef]
5. Senanayake, S.; Graves, N.; Healy, H.; Baboolal, K.; Kularatna, S. Cost-utility analysis in chronic kidney disease patients undergoing kidney transplant; what pays? A systematic review. *Cost. Eff. Resour. Alloc.* **2020**, *18*, 18. [CrossRef] [PubMed]
6. Jarl, J.; Desatnik, P.; Peetz Hansson, U.; Prütz, K.G.; Gerdtam, U.G. Do kidney transplantations save money? A study using a before–after design and multiple register-based data from Sweden. *Clin. Kidney J.* **2018**, *11*, 283–288. [CrossRef] [PubMed]
7. Zhang, Y.; Gerdtam, U.G.; Rydell, H.; Lundgren, T.; Jarl, J. Healthcare costs after kidney transplantation compared to dialysis based on propensity score methods and real world longitudinal register data from Sweden. *Sci. Rep.* **2023**, *13*, 10730. [CrossRef]
8. Helanterä, I.; Ibrahim, H.N.; Lempinen, M.; Finne, P. Donor Age, Cold Ischemia Time, and Delayed Graft Function. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* **2020**, *15*, 813–821. [CrossRef]
9. Dalinkevičienė, E. Evaluation of Factors Influencing Kidney Graft and Recipient Survival after Kidney Transplantation. Ph.D. Thesis, Medical Academy, Lithuanian University of Health Sciences, Kaunas, Lithuania, 2017. Available online: <https://hdl.handle.net/20.500.12512/18334> (accessed on 3 February 2017).
10. Augliene, R. Deceased Donor Factors Influencing Kidney Transplantation Outcomes. Ph.D. Thesis, Lithuanian University of Health Sciences, Kaunas, Lithuania, 2022. Available online: <https://hdl.handle.net/20.500.12512/115713> (accessed on 7 November 2022).
11. Shamali, A.; Kassimatis, T.; Phillips, B.L.; Burton, H.; Kessar, N.; Callaghan, C. Duration of delayed graft function and outcomes after kidney transplantation from controlled donation after circulatory death donors: A retrospective study. *Transpl. Int.* **2019**, *32*, 635–645. [CrossRef]
12. Kim, D.W.; Tsapepas, D.; King, K.L.; Husain, S.A.; Corvino, F.A.; Dillon, A.; Wang, W.; Mayne, T.J.; Mohan, S. Financial impact of delayed graft function in kidney transplantation. *Clin. Transplant.* **2020**, *34*, e14022. [CrossRef]

13. Li, M.T.; Ramakrishnan, A.; Yu, M.M.; Daniel, E.; Sandra, V.; Sanichar, N.; King, K.L.; Stevens, J.S.; Husain, S.A.; Mohan, S. Effects of Delayed Graft Function on Transplant Outcomes: A Meta-analysis. *Transplant. Direct* **2023**, *9*, e1433. [CrossRef]
14. Lim, W.H.; Johnson, D.W.; Teixeira-Pinto, A.; Wong, G. Association between Duration of Delayed Graft Function, Acute Rejection, and Allograft Outcome after Deceased Donor Kidney Transplantation. *Transplantation* **2019**, *103*, 412–419. [CrossRef]
15. Filho, J.B.S.D.C.; Pompeo, J.D.C.; Machado, R.B.; Gonçalves, L.F.S.; Bauer, A.C.; Manfro, R.C. Delayed Graft Function Under the Microscope: Surveillance Biopsies in Kidney Transplantation. *Transpl. Int.* **2022**, *35*, 10344. [CrossRef]
16. Lim, W.H.; McDonald, S.P.; Kennedy, S.E.; Larkins, N.; Wong, G. Association Between Slow and Delayed Graft Function with Graft Outcomes in Pediatric and Adolescent Deceased Donor Kidney Transplant Recipients. *Transplantation* **2017**, *101*, 1906–1912. [CrossRef]
17. Incerti, D.; Summers, N.; Ton, T.G.N.; Boscoe, A.; Chandraker, A.; Stevens, W. The Lifetime Health Burden of Delayed Graft Function in Kidney Transplant Recipients in the United States. *MDM Policy Pract.* **2018**, *3*, 238146831878181. [CrossRef]
18. Zhang, H.; Fu, Q.; Liu, J.; Li, J.; Deng, R.; Wu, C.; Nie, W.; Chen, X.; Liu, L.; Wang, C. Risk factors and outcomes of prolonged recovery from delayed graft function after deceased kidney transplantation. *Ren. Fail.* **2020**, *42*, 792–798. [CrossRef]
19. Ponticelli, C.; Reggiani, F.; Moroni, G. Delayed Graft Function in Kidney Transplant: Risk Factors, Consequences and Prevention Strategies. *J. Pers. Med.* **2022**, *12*, 1557. [CrossRef]
20. Bellomo, R.; Kellum, J.A.; Ronco, C. Defining acute renal failure: Physiological principles. *Intensive Care Med.* **2004**, *30*, 33–37. [CrossRef]
21. Waikar, S.S.; Bonventre, J.V. Creatinine Kinetics and the Definition of Acute Kidney Injury. *J. Am. Soc. Nephrol.* **2009**, *20*, 672–679. [CrossRef] [PubMed]
22. Salvadori, M.; Tsalouchos, A. Biomarkers in renal transplantation: An updated review. *World J. Transplant.* **2017**, *7*, 161. [CrossRef] [PubMed]
23. Caulfield, T.; Murdoch, B.; Sapir-Pichhadze, R.; Keown, P. Policy Challenges for Organ Allocation in an Era of “Precision Medicine”. *Can. J. Kidney Health Dis.* **2020**, *7*, 205435812091265. [CrossRef]
24. Gao, J.; Wu, L.; Wang, S.; Chen, X. Role of Chemokine (C–X–C Motif) Ligand 10 (CXCL10) in Renal Diseases. *Mediat. Inflamm.* **2020**, *2020*, 6194864. [CrossRef]
25. Port, F.K.; Bragg-Gresham, J.L.; Metzger, R.A.; Dykstra, D.M.; Gillespie, B.W.; Young, E.W.; Delmonico, F.L.; Wynn, J.J.; Merion, R.M.; Wolfe, R.A.; et al. Donor characteristics associated with reduced graft survival: An approach to expanding the pool of kidney donors. *Transplantation* **2002**, *74*, 1281–1286. [CrossRef]
26. Lentine, K.L.; Smith, J.M.; Miller, J.M.; Bradbrook, K.; Larkin, L.; Weiss, S.; Handarova, D.K.; Temple, K.; Israni, A.K.; Snyder, J.J. OPTN/SRTR 2021 Annual Data Report: Kidney. *Am. J. Transplant.* **2023**, *23*, S21–S120. [CrossRef]
27. Loupy, A.; Mengel, M.; Haas, M. Thirty years of the International Banff Classification for Allograft Pathology: The past, present, and future of kidney transplant diagnostics. *Kidney Int.* **2022**, *101*, 678–691. [CrossRef]
28. Swanson, K.J.; Bhattarai, M.; Parajuli, S. Delayed graft function: Current status and future directions. *Curr. Opin. Organ Transplant.* **2023**, *28*, 1–7. [CrossRef]
29. Warmuzińska, N.; Łuczykowski, K.; Bojko, B. A Review of Current and Emerging Trends in Donor Graft-Quality Assessment Techniques. *J. Clin. Med.* **2022**, *11*, 487. [CrossRef]
30. Nita, G.E.; Gopal, J.P.; Khambalia, H.A.; Moinuddin, Z.; Van Dellen, D. Kidney Transplantation from Donors with Acute Kidney Injury: Are the Concerns Justified? A Systematic Review and Meta-Analysis. *Transpl. Int.* **2023**, *36*, 11232. [CrossRef]
31. Zheng, Y.T.; Chen, C.B.; Yuan, X.P.; Wang, C.X. Impact of acute kidney injury in donors on renal graft survival: A systematic review and Meta-Analysis. *Ren. Fail.* **2018**, *40*, 649–656. [CrossRef] [PubMed]
32. Koyawala, N.; Parikh, C.R. A Review of Donor Acute Kidney Injury and Posttransplant Outcomes. *Transplantation* **2020**, *104*, 1553–1559. [CrossRef] [PubMed]
33. Schütte-Nütgen, K.; Finke, M.; Ehlert, S.; Thölking, G.; Pavenstädt, H.; Suwelack, B.; Palmes, D.; Bahde, R.; Koch, R.; Reuter, S. Expanding the donor pool in kidney transplantation: Should organs with acute kidney injury be accepted?—A retrospective study. *PLoS ONE* **2019**, *14*, e0213608. [CrossRef]
34. Song, J.; Yu, J.; Prayogo, G.W.; Cao, W.; Wu, Y.; Jia, Z.; Zhang, A. Understanding kidney injury molecule 1: A novel immune factor in kidney pathophysiology. *Am. J. Transl. Res.* **2019**, *11*, 1219–1229. [PubMed]
35. Andreucci, M.; Faga, T.; Pisani, A.; Perticone, M.; Michael, A. The ischemic/nephrotoxic acute kidney injury and the use of renal biomarkers in clinical practice. *Eur. J. Intern. Med.* **2017**, *39*, 1–8. [CrossRef] [PubMed]
36. Brilland, B.; Boud'Hors, C.; Wacrenier, S.; Blanchard, S.; Cayon, J.; Blanchet, O.; Piccoli, G.B.; Henry, N.; Djema, A.; Coindre, J.-P.; et al. Kidney injury molecule 1 (KIM-1): A potential biomarker of acute kidney injury and tubulointerstitial injury in patients with ANCA-glomerulonephritis. *Clin. Kidney J.* **2023**, *16*, 1521–1533. [CrossRef] [PubMed]
37. Mao, Y.-J.; Xu, D.-S.; Liu, S.-D.; Yan, J.-K.; Liu, X.-L.; Zhang, X.-F.; Pan, W.-G.; Tian, C. An analysis of the relationship between donor and recipient biomarkers and kidney graft function, dysfunction, and rejection. *Transpl. Immunol.* **2023**, *81*, 101934. [CrossRef] [PubMed]
38. Field, M.; Dronavalli, V.; Mistry, P.; Drayson, M.; Ready, A.; Cobbold, M.; Inston, N. Urinary biomarkers of acute kidney injury in deceased organ donors—Kidney injury molecule-1 as an adjunct to predicting outcome. *Clin. Transplant.* **2014**, *28*, 808–815. [CrossRef] [PubMed]

39. Reese, P.P.; Hall, I.E.; Weng, F.L.; Schröppel, B.; Doshi, M.D.; Hasz, R.D.; Thiessen-Philbrook, H.; Ficek, J.; Rao, V.; Murray, P.; et al. Associations between Deceased-Donor Urine Injury Biomarkers and Kidney Transplant Outcomes. *J. Am. Soc. Nephrol.* **2016**, *27*, 1534–1543. [CrossRef] [PubMed]
40. Romejko, K.; Markowska, M.; Niemczyk, S. The Review of Current Knowledge on Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL). *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 10470. [CrossRef] [PubMed]
41. Hollmen, M.E.; Kyllönen, L.E.; Inkinen, K.A.; Lalla, M.L.; Merenmies, J.; Salmela, K.T. Deceased donor neutrophil gelatinase-associated lipocalin and delayed graft function after kidney transplantation: A prospective study. *Crit. Care* **2011**, *15*, R121. [CrossRef]
42. Koo, T.Y.; Jeong, J.C.; Lee, Y.; Ko, K.-P.; Lee, K.-B.; Lee, S.; Park, S.J.; Park, J.B.; Han, M.; Lim, H.J.; et al. Pre-transplant Evaluation of Donor Urinary Biomarkers can Predict Reduced Graft Function after Deceased Donor Kidney Transplantation. *Medicine* **2016**, *95*, e3076. [CrossRef]
43. Li, Y.M.; Li, Y.; Yan, L.; Wang, H.; Wu, X.J.; Tang, J.T.; Wang, L.L.; Shi, Y.Y. Comparison of urine and blood NGAL for early prediction of delayed graft function in adult kidney transplant recipients: A meta-analysis of observational studies. *BMC Nephrol.* **2019**, *20*, 291. [CrossRef] [PubMed]
44. Buemi, A.; Musumba, F.; Frederic, S.; Douhet, A.; De Meyer, M.; De Pauw, L.; Darius, T.; Kanaan, N.; Wallemacq, P.; Mourad, M. Is plasma and urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) determination in donors and recipients predictive of renal function after kidney transplantation? *Clin. Biochem.* **2014**, *47*, 68–72. [CrossRef] [PubMed]
45. Davran, F.; Yilmaz, V.T.; Erdem, B.K.; Gultekin, M.; Suleymanlar, G.; Akbas, H. Association of interleukin 18-607A/C and -137C/G polymorphisms with oxidative stress in renal transplant recipients. *Ren. Fail.* **2016**, *38*, 717–722. [CrossRef] [PubMed]
46. Parikh, C.R.; Jani, A.; Melnikov, V.Y.; Faubel, S.; Edelstein, C.L. Urinary interleukin-18 is a marker of human acute tubular necrosis. *Am. J. Kidney Dis.* **2004**, *43*, 405–414. [CrossRef] [PubMed]
47. Furuichi, K.; Wada, T.; Kitajikima, S.; Toyama, T.; Okumura, T.; Hara, A.; Kawachi, H.; Shimizu, F.; Sugaya, T.; Mukaida, N.; et al. IFN-Inducible Protein 10 (CXCL10) Regulates Tubular Cell Proliferation in Renal Ischemia-Reperfusion Injury. *Nephron Exp. Nephrol.* **2008**, *109*, e29–e38. [CrossRef] [PubMed]
48. Ho, J.; Lucy, M.; Krokhn, O.; Hayglass, K.; Pascoe, E.; Darroch, G.; Rush, D.; Nickerson, P.; Rigatto, C.; Reslerova, M. Mass Spectrometry-Based Proteomic Analysis of Urine in Acute Kidney Injury Following Cardiopulmonary Bypass: A Nested Case-Control Study. *Am. J. Kidney Dis.* **2009**, *53*, 584–595. [CrossRef] [PubMed]
49. Krupickova, L.; Fialova, M.; Novotny, M.; Svachova, V.; Mezerova, K.; Cecrdlova, E.; Viklicky, O.; Striz, I. Chemokine Profiles Are Affected in Serum of Patients with Acute Rejection of Kidney Allograft. *Mediators Inflamm.* **2021**, *2021*, 5513690. [CrossRef] [PubMed]
50. Matz, M.; Beyer, J.; Wunsch, D.; Mashreghi, M.-F.; Seiler, M.; Pratschke, J.; Babel, N.; Volk, H.-D.; Reinke, P.; Kotsch, K. Early post-transplant urinary IP-10 expression after kidney transplantation is predictive of short- and long-term graft function. *Kidney Int.* **2006**, *69*, 1683–1690. [CrossRef] [PubMed]
51. Mockler, C.; Sharma, A.; Gibson, I.W.; Gao, A.; Wong, A.; Ho, J.; Blydt-Hansen, T.D. The prognostic value of urinary chemokines at 6 months after pediatric kidney transplantation. *Pediatr. Transplant.* **2018**, *22*, e13205. [CrossRef]
52. Piemonti, L.; Sordi, V.; Pellegrini, S.; Scotti, G.M.; Scavini, M.; Sioli, V.; Castiglione, A.G.; Cardillo, M. Circulating CXCL10 and IL-6 in solid organ donors after brain death predict graft outcomes. *Sci. Rep.* **2021**, *11*, 6624. [CrossRef]
53. Moledina, D.G.; Hall, I.E.; Thiessen-Philbrook, H.; Reese, P.P.; Weng, F.L.; Schröppel, B.; Doshi, M.D.; Wilson, F.P.; Coca, S.G.; Parikh, C.R. Performance of Serum Creatinine and Kidney Injury Biomarkers for Diagnosing Histologic Acute Tubular Injury. *Am. J. Kidney Dis.* **2017**, *70*, 807–816. [CrossRef] [PubMed]
54. Koyawala, N.; Reese, P.P.; Hall, I.E.; Jia, Y.; Thiessen-Philbrook, H.R.; Mansour, S.G.; Doshi, M.D.; Akalin, E.; Bromberg, J.S.; Harhay, M.N.; et al. Urine Injury Biomarkers Are Not Associated with Kidney Transplant Failure. *Transplantation* **2020**, *104*, 1272–1279. [CrossRef] [PubMed]
55. Aldea, P.L.; Rachisan, A.L.; Stanciu, B.I.; Picos, A.; Picos, A.M.; Delean, D.I.; Stroescu, R.; Starcea, M.I.; Borzan, C.M.; Elec, F.I. The Perspectives of Biomarkers in Predicting the Survival of the Renal Graft. *Front. Pediatr.* **2022**, *10*, 869628. [CrossRef] [PubMed]

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

PRIEDAI



KAUNO REGIONINIS BIOMEDICININIŲ TYRIMŲ ETIKOS KOMITETAS
LSMUL KK, Fiziologijos ir farmakologijos institutas (Klinikinės farmakologijos padalinys), Eivenių g.2, LT-50009 Kaunas,
tel. (+370) 37 32 68 89; el.paštas: kaunorbtek@ismuni.lt

LEIDIMAS ATLIKTI BIOMEDICININĮ TYRIMĄ

2014-11-04 Nr. BE-2-52

Biomedicininio tyrimo pavadinimas: „Imunosupresantų koncentracijų, nustatytų skirtingomis metodikomis, sąsajų su transplantuoto organo funkcijomis tyrimas“.	
Protokolo Nr.:	1
Data:	2014-11-04
Versija:	3
Asmens informavimo forma	2014-11-04
Pagrindinis tyrėjas:	Prof. Edgaras Stankevičius
Biomedicininio tyrimo vieta:	LSMUL VŠĮ Kauno klinikos
Įstaigos pavadinimas:	Nefrologijos klinika
Adresas:	Širdies ir kraujagyslių ligų klinika Eivenių g. 2, LT-50009, Kaunas

Išvada:

Kauno regioninio biomedicininis tyrimų etikos komiteto posėdžio, įvykusio **2014 m. lapkričio 4 d.** (protokolo Nr. BE-10-10) sprendimu pritarta biomedicininio tyrimo vykdymui.

Mokslinio eksperimento vykdytojai įsipareigoja: (1) nedelsiant informuoti Kauno Regioninį biomedicininis Tyrimų Etikos komitetą apie visus nenumatytus atvejus, susijusius su studijos vykdymu, (2) iki sausio 15 dienos – pateikti metinį studijos vykdymo apibendrinimą bei, (3) per mėnesį po studijos užbaigimo, pateikti galutinį pranešimą apie eksperimentą.

Kauno regioninio biomedicininis tyrimų etikos komiteto nariai			
Nr.	Vardas, Pavardė	Veiklos sritis	Dalyvavo posėdyje
1.	Prof. Romaldas Mačiulaitis	Klinikinė farmakologija	ne
2.	Prof. Edgaras Stankevičius	Fiziologija, farmakologija	ne
3.	Doc. Eimantas Peičius	Filosofija	taip
4.	Dr. Ramunė Kasperavičienė	Kalbotyra	taip
5.	Med. dr. Jonas Andriuškevičius	Chirurgija	ne
6.	Agnė Krušinskaitė	Teisė	taip
7.	Prof. Skaidrius Miliauskas	Pulmonologija, vidaus ligos	taip
8.	Med. dr. Rokas Bagdonas	Chirurgija	ne
9.	Eglė Vaižgelienė	Visuomenės sveikata	taip

Kauno regioninis biomedicininis tyrimų etikos komitetas dirba vadovaudamasis etikos principais nustatytais biomedicininis tyrimų Etikos įstatyme, Helsinkio deklaracijoje, vaistų tyrinėjimo Geros klinikinės praktikos taisyklėmis.

Pirmininkas



Prof. Romaldas Mačiulaitis



KAUNO REGIONINIS BIOMEDICININIŲ TYRIMŲ ETIKOS KOMITETAS
Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, A. Mickevičiaus g. 9, LT-44307 Kaunas, tel. +370 37 32 68 89; e-mail: kaunorbtek@ismuni.lt

PRITARIMAS
BIOMEDICININIO TYRIMO PAPILDYMU/PRATĖSIMUI

2017-12-05 Nr. P1-BE-2-52/2014

Biomedicininio tyrimo pavadinimas: „Imunosupresantų koncentracijų, nustatytų skirtingomis metodikomis, sąsają su transplantuoto organo funkcijomis tyrimas“ (leidimo atlikti biomedicininį tyrimą leidimas 2014.11.04 Nr. BE-2-52)	
Pagrindinis tyrėjas:	Prof. Inga Arūnė Bumblytė
Biomedicininio tyrimo vieta:	Lietuvos sveikatos mokslų universiteto ligoninė, Kauno klinikos, Nefrologijos klinika, Eivenių pl. 2, LT-50161 Kaunas, Lietuva

Peržiūrėti šie [✓] su minėtu tyrimu susiję dokumentai:

[✓] Biomedicininio tyrimo: „Imunosupresantų koncentracijų, nustatytų skirtingomis metodikomis, sąsają su transplantuoto organo funkcijomis tyrimas“ pagrindinio tyrėjo prašymas dėl biomedicininio tyrimo papildymo/pakeitimo.

[✓] Paraiška biomedicininiam tyrimui: „Imunosupresantų koncentracijų, nustatytų skirtingomis metodikomis, sąsają su transplantuoto organo funkcijomis tyrimas“.

[✓] Biomedicininiam tyrimo: „Imunosupresantų koncentracijų, nustatytų skirtingomis metodikomis, sąsają su transplantuoto organo funkcijomis tyrimas“ protokolas nr. 1, versija nr. 5, data 2017-10-21.

[✓] Biomedicininiam tyrimo: „Imunosupresantų koncentracijų, nustatytų skirtingomis metodikomis, sąsają su transplantuoto organo funkcijomis tyrimas“ protokolo santrauka nr. 1, versija nr. 5, data 2017-10-21.

[✓] Biomedicininiam tyrimo: „Imunosupresantų koncentracijų, nustatytų skirtingomis metodikomis, sąsają su transplantuoto organo funkcijomis tyrimas“ asmens informavimo formos: recipientui (versija nr. 5, data 2017-10-21); donorui (versija nr. 5, data 2017-10-21); giminaičiams (versija nr. 5, data 2017-10-21).

[✓] Biomedicininiam tyrimo: „Imunosupresantų koncentracijų, nustatytų skirtingomis metodikomis, sąsają su transplantuoto organo funkcijomis tyrimas“ etinio vertinimo anketa.

[✓] Itraukiamų į tyrimą tyrėjų CV prof. Ingos Bumblytės, doc. Rūtos Vaičiūnienės ir Aistės Andriulionienės

[✓] **Nutarta:**

[✓] **Pritarti biomedicininio tyrimo pakeitimams atitinkantiems pateiktus dokumentus ir išduoti pritarimą tyrimo papildymui/pratėsimui.**

Kauno regioninio biomedicininių tyrimų etikos komiteto nariai		
Nr.	Vardas, Pavardė	Veiklos sritis
1.	Prof. Edgaras Stankevičius	Fiziologija, farmakologija
2.	Prof. Skaidrius Miliauskas	Chirurgija
3.	Prof. Kęstutis Petrikonis	Neurologija
4.	Doc. Gintautas Gumbavičius	Klinikinė farmakologija
5.	Med. dr. Jonas Andriulkevičius	Chirurgija
6.	Dr. Ramunė Kasperavičienė	Kalbotyra
7.	Eglė Vaižgelienė	Visuomenės sveikata
8.	Žydrūnė Luneckaitė	Filosofija
9.	Jurgita Laurinaitytė	Teisė

Kauno regioninis biomedicininių tyrimų etikos komitetas dirba vadovaudamasis etikos principais nustatytais biomedicininių tyrimų Etikos įstatyme, Helsinkio deklaracijoje, vaistu tyrinėjimo Geros klinikinės praktikos taisyklėmis.

Pirmininkas



Prof. Edgaras Stankevičius



KAUNO REGIONINIS BIOMEDICININIŲ TYRIMŲ ETIKOS KOMITETAS
Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, A. Mickėvičiaus g. 9, LT-44307 Kaunas, tel. +370 37 32 72 29, el. paštas: kaunorbtek@ismuni.lt

PRITARIMAS
BIOMEDICININIO TYRIMO PAPILDYMU/PAKEITIMUI

2019-07-12 Nr. P3-BE-2-9/2014

Biomedicininio tyrimo pavadinimas: „Inkstų ligų ir lėtinio inkstų nepakankamumo išaiškinimo, prevencijos galimybių ir gydymo optimizavimo tyrimo programa“ (leidimas atlikti biomedicininį tyrimą 2014-04-01 Nr. BE-2-9, papildymas 2015-12-29 Nr. P1-BE-2-9/2014, papildymas 2017-07-12 Nr. P2-BE-2-9/2014)	
Pagrindinis tyrėjas: Biomedicininio tyrimo vieta:	Prof. dr. Inga Arūnė Bumblytė Lietuvos sveikatos mokslų universiteto ligoninė Kauno klinikos, Nefrologijos klinika Eivenių g. 2, LT-50161, Kaunas

Peržiūrėti šie [✓] su minėtu tyrimu susiję dokumentai:

[✓] Biomedicininio tyrimo „Inkstų ligų ir lėtinio inkstų nepakankamumo išaiškinimo, prevencijos galimybių ir gydymo optimizavimo tyrimo programa“ pagrindinio tyrėjo prašymas dėl biomedicininio tyrimo papildymo/pakeitimo;

[✓] Biomedicininio tyrimo „Inkstų ligų ir lėtinio inkstų nepakankamumo išaiškinimo, prevencijos galimybių ir gydymo optimizavimo tyrimo programa“ paraiška;

[✓] Biomedicininio tyrimo „Inkstų ligų ir lėtinio inkstų nepakankamumo išaiškinimo, prevencijos galimybių ir gydymo optimizavimo tyrimo programa“ protokolas Nr. 1, versija 5, 2019-07-02;

[✓] Biomedicininio tyrimo „Inkstų ligų ir lėtinio inkstų nepakankamumo išaiškinimo, prevencijos galimybių ir gydymo optimizavimo tyrimo programa“ protokolo santrauka;

[✓] Prašymas dėl atleidimo nuo asmens informavimo formos naudojimo;

[✓] Papildomai į biomedicininį tyrimą „Inkstų ligų ir lėtinio inkstų nepakankamumo išaiškinimo, prevencijos galimybių ir gydymo optimizavimo tyrimo programa“ įtraukiamų tyrėjų CV: gyd. Rimos Maslauskienės ir gyd. Andrejaus Buros.

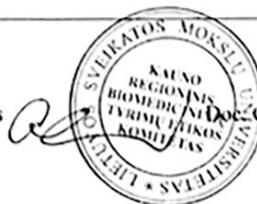
[✓] Nutarta:

[✓] Pritarti biomedicininio tyrimo papildymui/pakeitimui.

Kauno regioninio biomedicininis tyrimų etikos komiteto nariai		
Nr.	Vardas, pavardė	Veiklos sritis
1.	Prof. Edgaras Stankevičius	Fiziologija, farmakologija
2.	Prof. Skaidrius Miliauskas	Pulmonologija, vidaus ligos
3.	Med. dr. Jonas Andriuskevičius	Chirurgija
4.	Doc. Gintautas Gumbrevičius	Klinikinė farmakologija
5.	Prof. Kęstutis Petrikonis	Neurologija
6.	Dr. Ramunė Kasperavičienė	Filologija
7.	Aušra Degutytė	Visuomenės sveikata
8.	Dr. Žydrūnė Luneckaitė	Visuomenės sveikata
9.	Jurgita Laurinaitytė	Teisė

Kauno regioninis biomedicininis tyrimų etikos komitetas dirba vadovaudamasis etikos principais nustatytais biomedicininis tyrimų Etikos įstatyme, Helsinkio deklaracijoje, vaistų tyrinėjimo Geros klinikinės praktikos taisyklėmis.

Kauno RBTEK pirmininką pavaduojantis ekspertas



Doc. Gintautas Gumbrevičius

CURRICULUM VITAE

Name, Surname: Rima Maslauskienė
Address: Hospital of Lithuanian University of Health Sciences
Kauno klinikos, Department of Nephrology,
Eiveniu 2, Kaunas LT-50161, Lithuania
Tel.: +370 611 39229
E-mail: rima.maslauskiene@lsmu.lt; rima.maslauskiene@kaunoklinikos.lt

Professional Qualifications

2019–2023 PhD studies, Lithuania University of Health Sciences, Kaunas, Lithuania
2001–2003 Residency of Nephrologist doctor, Kaunas Medical University, Kaunas
1999–2001 Residency of Internal medicine doctor, Kaunas Medical University, Kaunas
1998–1999 Residency of medical doctor Klaipėda City hospital
1992–1998 Kaunas Medical Academy, Faculty of Medicine, Kaunas

Details of Medical License, Certification:

Licence of doctor nephrologist No. MPL-11042

Experience/Current and Previous Positions:

2023 year–till now Doctor Nephrologist, UAB Hormodernus
2009 year–till now Doctor Nephrologist, UAB Diaverum klinikos
2003 August–till now Doctor Nephrologist, Hospital of Lithuanian University of Health Sciences, Kauno klinikos
2001–2003 August Assistant of Doctor Nephrologist, Kaunas Medical University clinics, Nephrology department
1999–2000 Internal Medicine Doctor, Marijampolė hospital emergency department
1998–1999 Assistant in Kaunas Medical University Institute of Pshychophysiology and Rehabilitation, Palanga
1998–1999 Assistant of Internal Medicine Doctor, Klaipėda City hospital Emergency department

Experience in biomedical research:

2017–2020 Personalization of immunosuppressive therapy by pharmacokinetic modeling and prognostic indicators in patients after organ transplantation.
2011–2013 Prevalence of chronic kidney disease risk factors among family practice patients.

Membership:

Lithuanian Association of Nephrology, Dialysis and Transplantation (LNDTA)
European Renal-European Dialysis and Transplantation Association (ERA-EDTA)
International Society of Nephrology (ISN)

PADĖKA

Dėkoju mokslinio darbo vadovei prof. dr. Ingai Arūnei Bumblytei už suteiktą galimybę atlikti šį darbą, tobulėti mokslinėse ir profesinėse srityse, už naudingus patarimus ir pasitikėjimo kreditą.

Dėkoju prof. dr. Vytautui Kuzminskiui už prieš daug metų pasiūlytą žymenų tyrimų Nefrologijos klinikoje idėją, suteiktas profesines ir gyvenimiškas žinias ir palaikymą.

Dėkoju mokslinio darbo konsultantui prof. dr. Edgarui Stankevičiui už naudingus ir praktiškus patarimus bei logistinių problemų sprendimus.

Ačiū prof. dr. Rūtai Vaičiūnienei už visapusišką pagalbą atliekant šį mokslinį darbą, idėjų generavimą ir skatinimą tobulėti.

Dėkoju dr. Aurelijai Radzevičienei už bendradarbiavimą, vertingus patarimus ir problemų sprendimo pamokas.

Dėkoju prof. dr. Editai Žiginskienei už palaikymą ir organizacinę pagalbą derinant mokslinę ir darbinę veiklą ir už nuolatinį emocinį palaikymą.

Esu labai dėkinga doc. dr. Eglei Dalinkevičienei ir dr. Rūtai Auglienei už dalinimąsi žiniomis, patirtimi ir pozityvumą.

Dėkoju prof. Peteris Tretjakovs ir doc. Gita Gersone už biologinių žymenų tyrimų atlikimą.

Ačiū tariau visam Nefrologijos klinikos kolektyvui už palaikymą ir pagalbą atliekant šį tyrimą.

Dėkoju Intensyvios terapijos klinikos kolektyvui už pagalbą renkant tyrimo mėginius.

Labai ačiū Linai Vaškelienei už bendradarbiavimą ir pagalbą ruošiant mėginius.

Dėkoju Irenai Nedzelskienei už konsultacijas statistikos klausimais.

Esu dėkinga pacientams, sutikusiems dalyvauti tyrime ir prisidėti prie mokslo pažangos

Labai dėkoju savo tėvams – be jūsų paramos, gyvenime nebūčiau ten kur esu. Ačiū sesei už atramą, taisyklingos kalbos patarimus ir buvimą šalia. Ačiū draugams už palaikymą ir motyvaciją. Ypatingą padėką skiriu savo vyrui ir vaikams – už kantrybę, meilę ir supratimą.