

Kronična upala u bolesnika s transplantiranim solidnim organom

Chronic Inflammation in Patients with Solid Organ Transplant

JERKO BARBIĆ

Zavod za nefrologiju, KBC Osijek; Medicinski fakultet Osijek

SAŽETAK ____ Transplantacija organa najbolji je način liječenja bolesnika sa završnom fazom kronične bubrežne bolesti. Brojni su čimbenici koji se odnose na darivatelja organa koji utječu na ishod bubrežne transplantacije. Vrlo su dobro poznate razlike između živih i umrlih darivatelja bubrega. Transplantirani organ izložen je različitim oblicima oštećenja u različitim fazama transplantacije organa. Moždana smrt darivatelja i ishemija presađenog organa potiču oslobađanje molekula povezanih s oštećenjem koje aktiviraju upalu. Upala nakon transplantacije može biti lokalna ili sustavna. Lokalna upala u transplantiranom organu potiče aktivnost stečene imunosti protiv aloantigena. Kronična upala i aktivirana stečena imunost dovode do poremećenog procesa cijeljenja koji uzrokuje fibrozu te u konačnici dovodi do gubitka funkcije presađenog organa. Sustavna kronična upala može se povezati s inzulinskom rezistencijom, debljinom, šećernom bolesti i arterijskom hipertenzijom, što sve zajedno predstavlja rizični faktor općeg i srčano-žilnog morbiditeta i mortaliteta u transplantiranih bolesnika.

KLJUČNE RIJEČI: upala, transplantacija, citokini, molekule povezane s oštećenjem

SUMMARY ____ Organ transplantation is the optimal therapy for end-stage kidney disease. There are numerous factors related to the donor that affect the outcome of a kidney transplantation. The differences between living and deceased kidney donors are very well known. The transplanted organ is exposed to different forms of damage at different stages of organ transplantation. In the early phase, brain death of the donor and ischemia of the transplanted organ stimulate the release of damage-associated molecular patterns (DAMP) that activate inflammation in the transplanted organ. In addition to local inflammation, inflammation can also be systemic. Local inflammation in the transplanted organ promotes the activity of acquired immunity and causes chronic rejection. Chronic inflammation and activated acquired immunity lead to chronic local inflammation that disrupts the healing process causing fibrosis and ultimately loss of function of the transplanted organ. Systemic chronic inflammation can be associated with insulin resistance, obesity, diabetes, arterial hypertension, which all together represent a risk factor for general and cardiovascular morbidity and mortality in transplant patients.

KEY WORDS: inflammation, transplantation, cytokines, damage-associated molecular patterns

→ **Kronična upala niskog intenziteta** ____

Glavna je zadaća imunološkog sustava uklanjanje „stranih“ staničnih struktura, primjerice, bakterija, virusa, gljivica i parazita, ali i vlastitih oštećenih ili promijenjenih stanica (tumorskih stanica, stanica pod stresom). Prirodna i stečena imunost predstavljaju dva glavna ogranka imunološkog sustava. Prirodni imunološki sustav aktivira upalni odgovor i čini prvu liniju obrane organizma. Odgovor limfocita T i B predstavlja stečenu imunost. Taj oblik imunosti karakterizira specifičnost odgovora prema antigenima i sposobnost imunološkog pamćenja. Stečeni imunostni odgovor može biti posredovan protutijelima (u tom se slučaju govori o humoralnom odgovoru) ili stanicama (tj. staničnom odgovoru).

Upala predstavlja „univerzalni odgovor tkiva“ na oštećenje. Temeljni je zadatak uklanjanje oštećenja, a smanjenjem oštećenja smanjuje se podražaj za aktivaciju upale, upala

se utišava, te istovremeno započinje proces cijeljenja tkiva. Suprotno tome, stalna ili ponavljajuća aktivacija imunološkog sustava dovodi do kronične upale niskog intenziteta. Kronične upalne bolesti danas su prepoznate kao vodeći uzrok smrti u svijetu tako da gotovo 50 % uzroka smrti su bolesti povezane s kroničnom upalom kao što su ishemijska bolest srca, rak, šećerna bolest, kronična bubrežna bolest, moždani udar ili pak nealkoholna masna bolest jetre (engl. *non-alcoholic fatty liver disease*, NAFDL). Potrebno je istaknuti kako kronična upala predstavlja rizični čimbenik mortaliteta u općoj populaciji, a ujedno je povezana s povećanim rizikom i težinom određenih bolesti kao što su srčano-žilne bolesti, šećerna bolest, kronične bubrežne bolesti, maligne bolesti (1).

Akutna i kronična upala imaju određene zajedničke mehanizme nastanka. Akutni upalni odgovor najčešće nastaje u stanjima infekcije kao rezultat interakcije receptora

koji prepoznaju molekularne obrasce na stanicama prirodene imunosti (engl. *pattern recognition receptors*, PRR), a koji prepoznaju strukture patogenih mikroba (2). Strukture koje se prepoznaju evolucijski su konzervirane i nazivamo ih molekularnim obrascima povezanim s patogenima (engl. *pathogen-associated molecular patterns*, PAMP). Na taj način prirodena imunost štiti organizam od infekcija prepoznavajući obrasce karakteristične za patogene, a najvažniji obrasci su lipopolisaharidi bakterija i bakterijska DNA.

Osim toga, akutni upalni odgovor može se aktivirati s pomoću molekularnih obrazaca povezanih s oštećenjem (engl. *damage-associated molecular patterns*, DAMP).

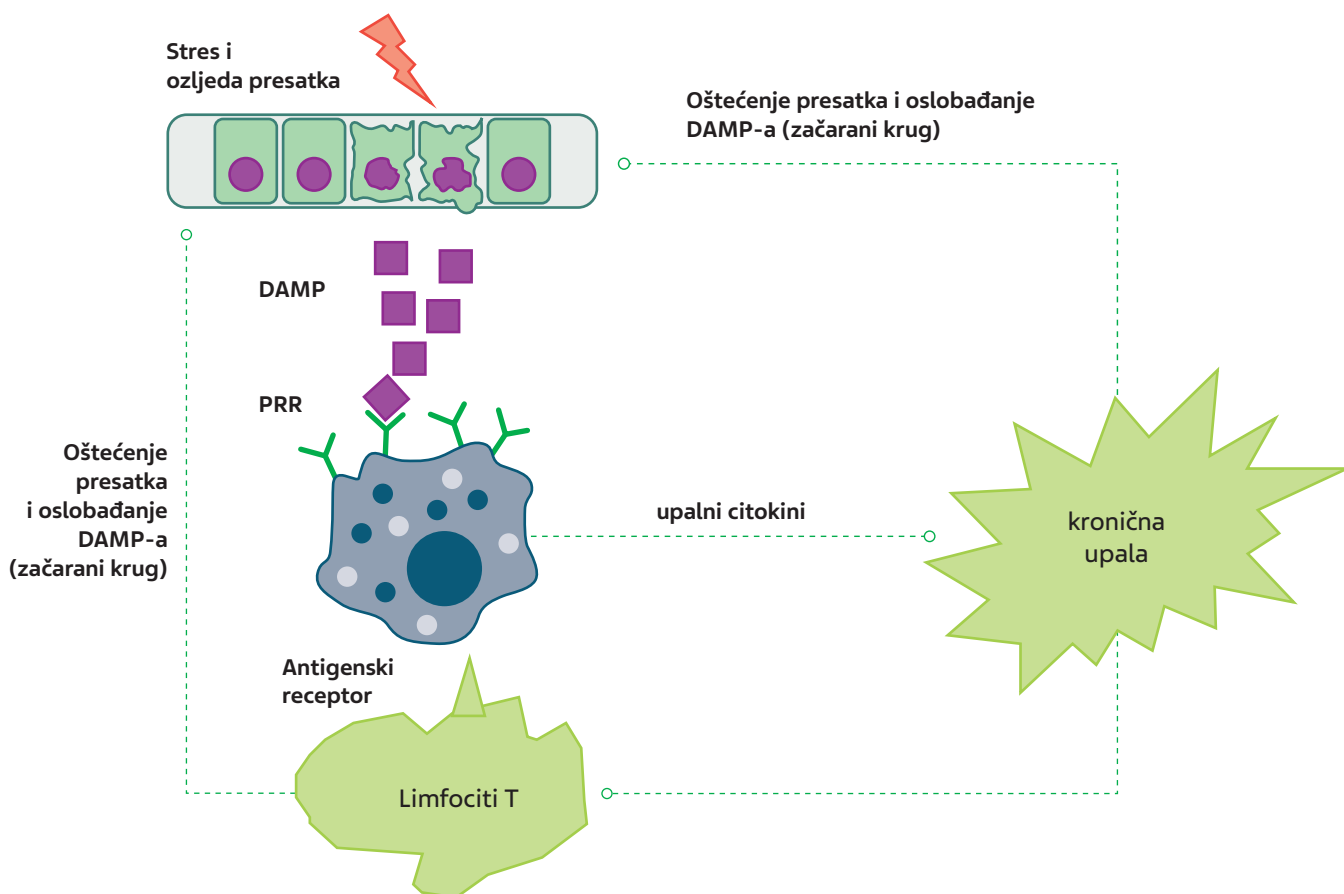
Molekularni obrasci povezani s oštećenjem (DAMP) oslobađaju se nakon fizičkog ili kemijskog oštećenja stanica, zatim bilo kojeg oblika metaboličkog stresa (ishemija) ili poremećene homeostaze u stanicama (3). Smrt stanice nastaje kao nepovratni rezultat oštećenja stanica, odnosno kao definitivni rezultat poremećene stanične homeostaze. Smrt stanice u tkivima izaziva upalnu reakciju koja u svojoj osnovi ima zadatak eliminirati umrle stanice i započeti proces cijeljenja tkiva. Danas razlikujemo više oblika stanične smrti koje manje ili više izazivaju upalnu reakciju. Nekroza se smatra „neprogramiranim“ oblikom stanične smrti koji dovodi do snažnoga upalnog odgovora. Taj snažni upalni odgovor posljedica je oslobađanja DAMP-a (primjerice, oslobađa se ATP, HMGB1 /engl. *high-mobility group box 1*/, mokraćna kiselina, mitohondrijska DNA) iz oštećenih stanica. Navedene endogene molekule aktiviraju imunološke stanice i dovode do snažne proizvodnje upalnih citokina (3). Postoje i programirani oblici stanične smrti, a neki od njih povezani su s oslobađanjem DAMP-a. U programirane oblike stanične smrti koje povezujemo s upalom zbog oslobađanja DAMP-a spadaju nekroptoza, ferroptoza i piroptoza (4). U nekroptozi dolazi do ruptur staničnih membrana. Ferroptozu karakterizira željezom posredovana lipidna peroksidacija staničnih membrana, dok piroptozu karakterizira stvaranje pora na staničnim membranama. Programirani oblik stanične smrti koji nije povezan s upalom je apoptoza kod koje se stvaraju apoptotička membranska tjelešca (neka od njih sadrže DAMP) koja aktiviraju fagocitozu i proizvodnju antiupalnih citokina (IL-10, TGF- β) (4). Većina DAMP molekula šalje signal u stanice prirodene imunosti putem PRR-a, a najvažniji među njima su receptori slični Toll-u. (engl. *Toll-like receptors*, TLR). Aktivacija putem ovih receptora dovodi do proizvodnje upalnih citokina (IL-1, IL-6, TNF- α) i kemokina. Imunološki sustav prepoznaje opasnost i ostaje aktivan dok opasnost za organizam postoji. Primjerice, u slučajevima akutne upale, u infekciji nakon uklanjanja infektivnog uzročnika, intenzitet upalne reakcije se smanjuje, a tome doprinose polarizacija stanica prema proizvodnji protuupalnih citokina (M2 populacija makrofaga koji proizvode

IL-10, TGF- α) te proizvodnja protuupalnih medijatora *lipoksina*, *rezolvina*, *protektina* i *marezina* koji doprinose smanjivanju upale i početku procesa cijeljenja tkiva (5).

Jednostavno rečeno, fiziološki upalni odgovor karakterizira vremenski ograničena pojačana upalna aktivnost sve dok opasnost za organizam postoji, a kada se opasnost ukloni, tada se upalni odgovor utišava. Ipak, u stanjima postojanja određenih bioloških, okolišnih, psiholoških i socijalnih čimbenika ne dolazi do smanjivanja upale, već nastaje stanje kronične ili „sterilne“ upale niskog intenziteta koju karakterizira aktivacija određenih komponenti imunosnog odgovora koje su drugačije u odnosu na akutnu upalu. Promjene od akutnoga prema kroničnome upalnom odgovoru mogu uzrokovati gubitak imunološke tolerancije, a gubitak tolerancije dovodi do nastanka autoimunosti. U slučaju transplantacije upalni okoliš transplantiranog organa čini presađeni organ „imunogeničnijim“ u smislu aktivacije limfocita T i B (6). Kronična upala dovodi do povećane sklonosti infekcijama, slabijem odgovoru na cijepljenje i sklonosti nastanka malignih bolesti (7).

Kronična se upala povećava sa starenjem organizma i taj se proces označava kao *inflammaging* tako da u starijoj životnoj dobi nalazimo veću proizvodnju upalnih citokina i proteina akutne upale (CRP) te povećani izražaj upalnih gena (7). U starijoj životnoj dobi dolazi do procesa staničnog starenja (engl. *cellular senescence*). Taj proces karakterizira zaustavljanje stanične proliferacije i nastanak tzv. sekrecijskoga staničnog fenotipa. Temeljna karakteristika toga staničnog fenotipa je proizvodnja upalnih citokina i kemokina. Na koji način tzv. „stare“ stanice fenotipski postaju sekretorne stanice nije sasvim jasno. Vjerojatno u njihovoj preobrazbi sudjeluju brojni endogeni i egzogeni okolišni rizični čimbenici. Važne endogene čimbenike čini oštećenje DNA, skraćanje telomera, epigenetske promjene i oksidativni stres (7). U egzogene čimbenike spadaju kronična infekcija, debljina, disbioza mikrobioma crijeva, djelovanje različitih okolišnih toksina. U starijoj životnoj dobi kao posljedica kronične upale dolazi do inzulinske rezistencije (pojavljuje se šećerna bolest tip 2), javlja se arterijska hipertenzija, a zbog imunomodulacije pojavljuju se autoimune i maligne bolesti. Osim starenja organizma, i određene kronične infekcije povezuju se s kroničnom upalom slabijeg intenziteta, a ovdje najvažniju ulogu imaju infekcije EBV i CMV virusom. Zatim važnu ulogu imaju i životne navike. Primjerice, manji intenzitet kronične upale nalazimo u osoba koje imaju veću fizičku aktivnost, hrane se s manje industrijski procesuiranom hranom, manje sole hranu i manje su izložene okolišnim zagađivačima. Prehrana i debljina dovode do disbioze mikrobioma crijeva, što može uzrokovati povećanu propusnost crijeva i nastanak sustavne endotoksemije i kronične upale slabijeg intenziteta (8). Kliničke posljedice kronične upale su

SLIKA 1. Stres i oštećenje presatka zbog imunskog odgovora i kronične upale



*DAMP – engl. *damage-associated molecular patterns*

razvitak metaboličkog sindroma (hipertenzija, debljina, šećerna bolest, hiperlipidemija, nealkoholna masna bolest jetre), kronične bubrežne bolesti, degenerativne bolesti (Alzheimerova i Parkinsonova bolest), depresija, maligne bolesti, autoimunost, osteoporozna i sarkopenija. Povezanost kronične upale najviše je izražena s metaboličkim sindromom, šećernom bolesti tipa 2, inzulinskom rezistencijom, srčano-žilnim bolestima, a u novije vrijeme i s arterijskom hipertenzijom. CRP kao marker upale povezuje se s neželjenim kardiovaskularnim događajima u muškaraca i žena (7).

Upala i molekule povezane s oštećenjem u transplantaciji solidnih organa

Odbacivanje presađenog organa glavni je limitirajući čimbenik u transplantaciji koji zahtijeva snažnu imunosupresivnu terapiju. Prvotno se odbacivanje alopresatka tumačilo u najvećoj mjeri kao rezultat odgovora stečene imunosti usmjerene protiv specifičnih antigena tkivne podudarnosti donora, međutim, novije spoznaje ukazuju na sve složeniju sliku odgovora imunskog sustava primatelja na presadak (engl. *graft*), a koji uključuje i aktivaciju prirodne imunosti. Nedavna

istraživanja pokazala su kako prirodna imunost ima kritičnu ulogu u odbacivanju presatka (9). Aktivacija stanica prirodne imunosti u transplantacijskoj reakciji temelji se na prepoznavanju molekularnih obrazaca povezanih s oštećenjem (DAMP) s pomoću posebnih receptora koji prepoznaju navedene obrasce (10). Tradicionalno se imunosupresija u transplantaciji temelji na inhibiciji stečene imunosti, međutim, novije spoznaje govore o važnosti smanjenja odgovora prirodne imunosti. Inhibicijom limfocita T nastaju neželjeni učinci u smislu oštećenja organa i sklonosti infekcijama i malignim bolestima. Novije spoznaje govore u prilog tome kako je za uspješnu transplantaciju, odnosno za dobru funkciju presatka, potrebno smanjivanje poslijetransplantacijskoga upalnog odgovora (9).

Kronična upala nakon transplantacije organa ima ključnu ulogu u nastanku poslijetransplantacijskih komplikacija, povezuje se s gubitkom presatka, ali i s povećanim mortalitetom bolesnika nakon transplantacije (11). Poslijetransplantacijska upala jedinstveni je oblik oštećenja tkiva koji karakterizira snažni upalni odgovor kojemu doprinose stanice prirodne i stečene imunosti podrijetla donora i primatelja. U transplantaciji organa posebno su

važni molekularni obrasci koji se oslobađaju iz oštećenih stanica, a koje smo u prethodnom dijelu nazvali DAMP (10). DAMP molekule posebno su važne u imunološkoj reakciji primatelja protiv presatka.

Organi za transplantaciju izloženi su različitim oblicima oštećenja – prvo nastaje moždana smrt darivatelja, zatim u postupku eksplantacije uslijedi ishemija koja dovodi do nekroze i različitih oblika programirane smrti stanica (4, 12). Pri implantaciji organa i uspostavi cirkulacije uslijedi reperfuzijsko oštećenje, a konačno, kada se uspostavi funkcija organa, dolazi do kroničnog oštećenja organa koje je posljedica alogenoga imunogenog odgovora, ali i neimunoloških oblika oštećenja organa vezanih uz hipertenziju, infekciju, albuminuriju ili pak šećernu bolest (slika 1.).

Postoje uvjerljivi dokazi da se tijekom transplantacije organa oslobađaju DAMP molekule. Primjerice, tijekom eksplantacije i reimplantacije presatka dolazi do ishemijsko-reperfuzijske ozljede (engl. *ischemic-reperfusion injury*, IRI) organa i oslobađanja DAMP molekula. Moždana smrt dovodi do povećanoga intrakranijalnog tlaka i ishemije moždanoga debla. Oslobađaju se kateholamini koji dovode do sustavne vazokonstrikcije i smanjenja protoka krvi u organima. Kateholamini nakon moždane smrti dovode do usmjeravanja metabolizma prema anaerobnome metabolizmu te dovode do aktivacije endotela. U moždanoj smrti dolazi do sustavnoga upalnog odgovora koji je uzrokovan velikom proizvodnjom upalnih citokina (IL-6, IL-1 b, IL-8, TNF-a).

U slučaju transplantacije od osobe umrle nakon moždane smrti, moždana smrt dovodi do nakupljanja DAMP molekula u eksplantiranom organu. Moždana smrt dovodi do snažne proizvodnje DAMP molekula pri čemu, primjerice, mitohondrijska DNA ima posebnu ulogu u nastanku ranije opisanoga upalnog odgovora (13).

Klinička važnost opisanih opažanja potkrijepljena su dokazima koji proizlaze iz činjenice da transplantacije s HLA (engl. *human leukocyte antigen*) nepodudarnih živih darivatelja kod kojih nema moždane smrti i imaju kratku hladnu ishemiju imaju bolje dugoročne rezultate nego organi dobiveni od darivatelja nakon moždane smrti i s produljenom hladnom ishemijom (14). Ta razlika posljedica je duljeg trajanja hladne ishemije tako da dulje trajanje hladne ishemije povećava rizik akutnog odbacivanja presatka. Nadalje, svaki sat dulje hladne ishemije povećava rizik akutnog odbacivanja, ranoga gubitka funkcije presatka te povećava mortalitet nakon transplantacije. Oštećenje presatka nastaje i kao posljedica alogenoga imunogenog odgovora posredovanog limfocitima T i B. Citotoksični limfociti T i aloantitijela kao dio odgovora imunološkog sustava na aloantigene dovode do oštećenja presatka i oslobađanja DAMP-a. Istraživanja su pokazala kako u stanjima akutnog odbacivanja dolazi

do nakupljanja DAMP-a u presađenom organu. U skladu s navedenim, moguće je da u tijeku imunološkog odgovora na alopresadak dolazi do oštećenja što rezultira oslobađanjem DAMP molekula koje dodatno aktiviraju imunološki odgovor protiv presađenog organa (krug pozitivne povratne sprege). Neki autori smatraju kako trajno stvaranje DAMP molekula tijekom životnog vijeka presađenog organa možda predstavlja važni mehanizam kojim se aloreaktivnost održava nakon transplantacije organa (15).

Većina DAMP molekula šalje signal u stanicu putem receptora sličnih Toll-u (engl. *Toll like receptors*, TLR) (3). TLR su glavni stanični receptori koji prepoznaju molekularne obrasce vezane uz patogene ili endogene molekule koje stanice oslobađaju u stanjima stresa. Signal putem TLR-a aktivira kaskadu unutarstaničnih kinaza i u konačnici dolazi do aktivacije transkripcijskog čimbenika NF- κ B koji regulira izražaj gena odgovornih za upalu. Ovisno o signalu koji aktivira TLR i adaptornom proteinu, aktivacija putem TLR-a može dovesti do proizvodnje upalnih citokina, novačenja neutrofila, povećanog izražaja kostimulacijskih molekula i MHC (engl. *major histocompatibility complex*) na stanicama koji predočavaju antigene. Dakle, u slučaju transplantacije organa aktivacija putem TLR-a potiče aloimuni odgovor na više načina (3).

Osim TLR, imamo čitav niz drugih PRR (engl. *pattern recognition receptors*) kao što su NOD-u slični receptori (engl. *NOD like receptors*, NLRs); RIG-u I-slični receptori (engl. *retinoic acid-inducible gene-I (RIG-I)-like receptors*, RLRs); protein odsutan u melanomu 2 (engl. *absent in melanoma 2*, AIM2) (3).

Također, postoje i ne-PRR kao što su receptori za završne glikacijske proizvode (RAGE), zatim receptori povezani s G proteinima kao što su formilni peptidni receptori i P2Y receptori koji mogu detektirati izvanstaničnu ATP i izazvati sterilnu upalu te potaknuti aloantigeni imunogeni odgovor i odbacivanje presatka.

Signalizacija koja prepoznaje oštećenje povećava imunogeničnost presatka povećavajući predočavanje donor specifičnih aloantigena i izražaj kostimulacijskih molekula, istovremeno povećava proizvodnju citokina, novačenje i usmjerava diferencijaciju izvršnih limfocita T.

DAMP molekule možemo podijeliti na one koje su unutarstaničnog i izvanstaničnog podrijetla, a u tablici 1. prikazane su neke od najvažnijih u transplantaciji organa (3).

U tijeku su kliničke studije kojima se pokušava blokirati TLR aktivacijski put. Razvijena su humanizirana anti-TLR4 antitijela koja interferiraju s dimerizacijom TLR4 te na taj način blokiraju aktivaciju vezivanjem LPS-a (lipopolisaharidi). Humanizirano antitijelo protiv TLR2 trenutno je u fazi II kliničkog istraživanja, a ideja je da se na taj način blokira IRI nakon transplantacije bubrega.

TABLICA 1. Tablica 1. DAMP molekule koje imaju ulogu u transplantaciji organa

DAMP KOJI SE OSLOBAĐA IZ UNUTARSTANIČNOG PROSTORA		
DAMP	RECEPTOR	ULOGA U TRANSPLANTACIJSKOJ REAKCIJI
HMGB1	TLR4/RAGE	pobuda upalnog odgovora, aktivacija antigen predočnih stanica
Histoni	TLR2/TLR4/TLR9	upalni odgovor u stanicama prirodne imunosti
ATP	P1, P2X, P2Y	novačenje upalnih stanica, aktivacija inflammasoma, opuštanje upalnih citokina, pobuda alogene imunosti
Proteini toplinskog šoka (HSP)	TLR2/4, CD40, CD91, LOX-1	upalni odgovor
mtDNA/DNA	TLR9	aktivacija makrofaga i neutrofila, aktivacija inflammasoma, proizvodnja proupalnih citokina
S100 protein	TLR2/TLR4/RAGE	aktivacija makrofaga, aktivacija upale
DAMP KOJI NASTAJE U IZVANSTANIČNOM PROSTORU		
Haptoglobin	TLR	
Hijalouronan	TLR2/4, CD44	aktivacija makrofaga i proizvodnja upalnih citokina
Fibronectin	TLR4	
Heparan sulfate	TLR4	

DAMP – engl. *damage-associated molecular patterns*; HSP – engl. *heat shock proteins*

Ligand za TLR2 je HMGB1, a dobro je poznato kako se HMGB1 oslobađa nakon IRI koja nastaje nakon kadaverične transplantacije bubrega, suprotno tome ne izlučuje se u slučaju transplantacije sa živog darivatelja (16).

Razvitkom lijekova koji blokiraju TLR put čija aktivacija nastaje kao posljedica IRI može se inhibirati alogeni imunosni odgovor, međutim, istovremeno postoji opasnost od blokade imunološkog odgovora na mikrobne uzročnike zaraznih bolesti. Pretpostavka je kako bi se ti lijekovi davali u vrlo kratkom razdoblju u samom početku transplantacije te bi blokirali upalni odgovor nastao kao posljedica IRI i na taj bi se način inhibirala imunogeničnost presatka (17).

Osim toga, ishemija organa dovodi do metaboličkih promjena u presatku. Mijeloidne stanice u hipoksiji povećavaju izražaj hipoksija-inducibilnog čimbenika 1a (engl. *hypoxia-induced factor-1 alpha*, HIF-1a) koji je vrlo važan u nastanku lokalne upale. HIF1a se veže za HIF1b i translocira se u jezgru kao transkripcijski čimbenik koji aktivira niz gena koji dovode do aktivacije upale, novačenja i aktivacije makrofaga (18).

Originalni koncept funkcije DAMP molekula u transplantaciji organa je da te molekule aktiviraju upalnu reakciju koja ima za cilj uklanjanje oštećenog tkiva, a nakon čega uslijede signali koji potiču procese cijeljenja tkiva. Prema tome, na početku transplantacije moždana smrt, a zatim ishemijsko-reperfuzijska ozljeda dovodi do aktivacije transkripcijskih čimbenika i metaboličkih procesa koji dovode

do nastanka upalnih DAMP molekula. U kasnijoj fazi uslijedi aktivacija putem tzv. reparativnih DAMP molekula, dolazi do aktivacije protuupalnih procesa i započinje procese cijeljenja (19). Među specijalizirane medijatore reparacije i cijeljenja spadaju derivati nezasićenih masnih kiselina koje proizvode različite stromalne stanice, ali i leukociti. Te molekule nazivamo imunoresolvini, a najvažniji su lipoksini, resolvini i protektini (5, 19).

Lipoksine secerniraju neutrofil i makrofagi nakon što se sintetiziraju iz arahidonske kiseline. Nakon oštećenja tkiva lipoksini imaju važnu ulogu u smislu ograničavanja upalnog odgovora i započinjanja procesa cijeljenja i to tako što uzrokuju inhibiciju infiltracije neutrofilima te izazivaju apoptozu neutrofila. Lipoksini inhibiraju aktivnost limfocita T i B. Vrlo se malo zna o ulozi lipoksina u transplantaciji iako u pokusnim modelima aktivacija lipoksina može imati povoljan ishod na transplantaciju bubrega i srca (20). Resolvini nastaju u neutrofilima iz eikozapentaenoične i dokozaheksaenoične kiseline, slično lipoksinima inhibiraju infiltraciju neutrofila i potiču njihovu apoptozu. Resolvini zbog regenerativnih aktivnosti mogu imati ulogu u smanjenju IRI nakon kirurškog zahvata (21). Resolvini usmjeravaju makrofage prema proizvodnji IL-4, IL-10 i usmjeravanju limfocita T u imunoregulacijske limfocite T (Treg) tako da na taj način mogu imati povoljan učinak na funkciju presatka. Međutim, o tome imamo vrlo malo podataka iz kliničkih istraživanja.

Dakle, možemo reći kako u tijeku procesa transplantacije dolazi do oštećenja organa i posljedičnog oslobađanja molekula povezanih s oštećenjem (DAMP). DAMP molekule aktiviraju stanice prirodene imunosti i upalni odgovor u oštećenom tkivu. Upala ima zadatak ukloniti oštećenje i započeti proces cijeljenja tkiva. Upala je složeni i dobro regulirani proces koji, ako se poremeti, dovodi do patoloških promjena koje nastaju kao rezultat snažne amplifikacije upalnog odgovora ili izostanka inhibicije nakon uklanjanja oštećenja. Postupak transplantacije organa dovodi do oštećenja presađenog organa i oslobađanja DAMP molekula. Primjerice, neposredno nakon transplantacije bubrega može nastati odgođena funkcija presađenog organa koja nastaje kao posljedica akutnoga upalnog odgovora koji je potaknut IRI i oslobađanjem DAMP molekula. Kakva je uloga DAMP-a u kroničnom odbacivanju presatka nije sasvim poznato, ali je dobro poznato da akutna odbacivanja presatka uzrokuju oslobađanje DAMP-a (19). Upalni mikrookoliš važan je u aktivaciji makrofaga i dendritičkih stanica koji izražajem kostimulacijskih molekula predočavaju aloantigene i aktiviraju T limfocite.

Kronična upala u bolesnika s transplantiranim solidnim organom

Završni stadij kronične bubrežne bolesti je ireverzibilno stanje koje značajno skraćuje životni vijek. Transplantacija bubrega metoda je izbora za nadomještanje bubrežne funkcije u bolesnika sa završnim stupnjem bubrežne bolesti. Transplantacija se zbog korisnih učinaka u smislu preživljavanja i bolje kvalitete života bolesnika smatra optimalnim načinom nadomještanja funkcije bubrega. Razvitkom imunosupresivnih lijekova, kirurških tehnika i novim spoznajama iz transplantacijske imunologije poboljšalo se preživljavanje primatelja i presatka posebno u kratkoročnom razdoblju nakon transplantacije. Posljedično tomu, vjerojatnost gubitka presatka bilo kojeg uzroka u prvoj godini nakon transplantacije smanjila se s 13,9 % u 1997. na 6,7 % u 2017. (22). Ipak, važno je istaknuti kako se 50 % presađenih organa izgubi 10 godina nakon transplantacije organa. Europski i američki transplantacijski registri pokazuju poboljšanje u kratkoročnom i dugoročnom preživljavanju presatka sve do 2000. godine. Međutim, posljednje desetljeće pokazuje usporavanje napretka u kratkoročnom i dugoročnom preživljavanju presatka i primatelja. Navedeno usporavanje preživljavanja presatka i primatelja rezultat je djelomice nedostatka inovacija u imunosupresiji, ali još više je posljedica činjenice kako smo sve manje restriktivni u odabiru darivatelja i primatelja što predstavlja glavni razlog ranoga gubitka presatka, ali i smrti primatelja u razdoblju nakon transplantacije (23). Svjedoci smo značajnog napretka u transplantaciji organa. Ipak, primatelji transplantiranog bubrega ne dijele očekiva-

ni životni vijek kao njihovi vršnjaci iste životne dobi. Primjerice, očekuje se da će zdravi dvadesetogodišnjak koji živi u Europi živjeti još 62 godine, međutim, ako ima transplantirani bubreg, tada će živjeti još 44 godine, a ako se liječi dijalizom, svega 22 godine. Razlika u očekivanome životnom vijeku najvećim je dijelom posljedica povećane incidencije srčano-žilnih bolesti u bolesnika s terminalnom fazom bubrežne bolesti. Procjenjuje se kako je rizik od kardiovaskularnih bolesti u bolesnika na hemodijalizi 10 – 20 puta veći u odnosu na opću populaciju. Uspješna transplantacija može značajno smanjiti rizik za srčano-žilne bolesti. Ipak, i dalje transplantirani bolesnici imaju godišnju stopu kardiovaskularnih događaja 3,5 – 5 %. U usporedbi sa svojim zdravim vršnjacima primatelji transplantiranog bubrega imaju 3 do 5 puta veći rizik od srčano-žilnih bolesti (24). Hipertenzija, pušenje duhana, dislipidemija i šećerna bolest dobro su poznati tradicionalni rizični čimbenici kardiovaskularnih bolesti. Osim navedenih, postoje tzv. netradicionalni rizični čimbenici koji su prisutni kod transplantiranih bolesnika, a koji doprinose nastanku kardiovaskularnih bolesti.

U uvodnom dijelu prikazano je kako se povišeni upalni biljezi (CRP) u općoj populaciji povezuju s neželjenim srčano-žilnim događajima. Prema tome, upala i kronična bubrežna bolest dva su glavna čimbenika koja se povezuju sa srčano-žilnim bolestima.

Lokalna upala prisutna je u biopsijama bubrežnog presatka, povezana je s fibrozom i tubulitisom, a navedene promjene uzrokuju smanjenje funkcije presađenog bubrega (25).

Smanjenje funkcije presađenog bubrega karakterizira smanjenje stope glomerularne filtracije, porast serumskoga kreatinina, albuminurija i arterijska hipertenzija. Snižena stopa glomerularne filtracije, albuminurija i arterijska hipertenzija predstavljaju neovisne rizične čimbenike za nastanak srčano-žilnih bolesti.

Povećana razina IL-6 i CRP-a povezana je s kardiovaskularnim događajima i općim mortalitetom u primatelja transplantiranog bubrega (26).

Osim toga, i IL-6 i hs-CRP povezani su s povećanim mortalitetom i gubitkom presatka zbog smrti bolesnika te s udvostručenjem razine kreatinina u serumu. Rezultati tih istraživanja ukazuju kako kronična upala ima važnu ulogu u patogenezi kronične disfunkcije presatka (26).

Smrt s funkcionirajućim presatkom vodeći je uzrok gubitka presatka u primatelja s transplantiranim bubregom, pri čemu su glavni uzroci smrti kardiovaskularne bolesti koje čine oko 1/3 svih uzroka smrti. Spektar kardiovaskularnih bolesti nakon transplantacije uključuje koronarnu bolest srca, zatajivanje srca, poremećaje ritma i plućnu hipertenziju. Lokalizirana upala krvnih žila važan je čimbenik u patogenezi ateroskleroze u transplantiranih bolesnika, pri čemu CRP može biti korisni marker upalnog procesa u stijenkama krvnih žila. Brojni podatci ukazuju

kako je povišeni CRP prediktor neželjenih kardiovaskularnih događaja u zdravoj populaciji, kod dijaliziranih bolesnika, ali i u bolesnika s transplantiranim organom (26).

Upala i oksidativni stres povezani su s vaskularnim bolestima, endotelnom disfunkcijom i bubrežnim bolestima, CRP je neovisno povezan s kardiovaskularnim bolestima i mortalitetom u primatelja bubrežnog presatka (26). Primatelji bubrežnog presatka imaju dodatni rizik aktivacije upale zbog oštećenjem izazvanog oslobađanja DAMP molekula (6). PORT studija je pokazala kako stopa akutnog odbacivanja povećava rizik za nastanak srčano-žilnih bolesti (27).

Upala je usko povezana s razvitkom šećerne bolesti u općoj populaciji, ali i kod primatelja solidnih organa. Švicarska prospektivna studija transplantiranih bolesnika utvrdila je povezanost novonastale šećerne bolesti nakon transplantacije organa (engl. *new-onset diabetes mellitus after transplantation*, NODAT) i polimorfizama 10 gena povezanih s upalom (28). NODAT je ozbiljna komplikacija nakon transplantacije koja se javlja kod 2 do 53 % transplantiranih bolesnika. Smatra se kako je NODAT povezan s povećanim trogodišnjim mortalitetom i kako značajno utječe na preživljavanje presatka. Debljina, starija životna dob, HCV infekcija, obiteljska anamneza šećerne bolesti povezuje se s nastankom NODAT-a. Imunosupresivni lijekovi kao što su kortikosteroidi i inhibitori kalcijneurina, posebno takrolimus, povezuju se s nastankom NODAT-a. Suprotno tome, mikofenolna kiselina uz svoj snažni imunosupresivni učinak ima i dobro poznata antiupalna svojstva te se povezuje sa smanjenim rizikom za NODAT. Nekoliko upalnih citokina kao što su TNF- α , IFN- γ i IL-6 izazivaju smanjeni izražaj transportera glukoze te inhibiraju signalizaciju putem inzulinskog receptora što uzrokuje inzulinsku rezistenciju (28).

Upala i fibroza presatka

Aktivacija imunološkog sustava tijekom moždane smrti i ishemijsko-reperfuzijske ozljede uzrokuje infiltraciju bubrega leukocitima, makrofagima i dendritičkim stanicama uzrokujući upalno oštećenje transplantiranog organa. Upala doprinosi razvitku specifične imunosti usmjerene prema aloantigenima. Nakon oštećenja slijedi fibroza koja predstavlja proces cijeljenja tkiva, a pokreće se u svrhu održavanja strukture i funkcije tkiva. Transplantirani organ stalno je izložen alogenome imunološkom odgovoru i kroničnom oštećenju. Kronično oštećenje tkiva može uzrokovati poremećeno fibroziranje tkiva koje dovodi do nagomilavanja izvanstaničnog matriksa. Nakupljanje izvanstaničnog matriksa dovodi do nastanka ožiljka koji remeti normalno funkcioniranje organa. Uznapredovala fibroza bubrega nastala zbog bilo kojeg uzroka predstavlja zajedničku manifestaciju različitih kroničnih bubrežnih bolesti, a u konačnici uzrokuje završnu fazu kronične bubrežne bolesti. Kronična

ozljeda transplantiranog organa predstavlja složeni proces upale kod koje dolazi do infiltracije organa upalnim stanicama i proizvodnje upalnih citokina. U takvom tkivu dolazi do aktivacije fibroblasta i mezangijskih stanica te u tubulima nastaje epitelno mezenhimalna tranzicija, zatim u endotelu nastaje endotelno mezenhimalna tranzicija, što sve zajedno dovodi do ekspanzije izvanstaničnog matriksa i fibroze bubrega (29).

Neutrofilni su stanice koje prve dolaze na mjesto oštećenja i imaju glavnu ulogu u uklanjanju oštećenih stanica, njihova uloga u procesu cijeljenja je kontradiktorna.

Makrofagi u organima nastaju iz monocita u cirkulaciji, u tkivima makrofazi imaju ulogu u održavanju tkivne homeostaze. Monociti iz periferne krvi infiltriraju presadak nakon transplantacije organa. Makrofazi imaju različite funkcije. Aktivirani makrofagi mogu se polarizirati u klasični M1 ili alternativni M2 fenotip. M1 makrofagi proizvode reaktivne kisikove vrste (engl. *reactive oxygen species*, ROS), dušikov oksid (NO) i upalne citokine (IL-6, IL-12, TNF- α), a svi navedeni produkti imaju ključnu ulogu u uklanjanju mrtvih stanica, mikroba i tumorskih stanica. Suprotno tome, M2 makrofagi imaju izražene receptore čistače (engl. *scavenger receptors*) i proizvode antiupalne citokine kao što su IL-10, TGF- β koji potiču utišavanje upale, započinjanje procesa cijeljenja i fibroze. M2 subpopulacija makrofaga pokazuje profibrotičke karakteristike.

U slučaju transplantiranog organa M2 makrofagi djeluju poput mača s dvije oštrice – s jedne strane potiskuju upalu, a s druge strane potiču nakupljanje izvanstaničnog matriksa i posljedičnu fibrozu. Izvanstanični matriks je dinamička struktura koja je stalno izložena procesima remodeliranja. Neravnoteža u izvanstaničnom matriksu uzrokovana različitim vanjskim i unutarnjim čimbenicima može uzrokovati dezorganizaciju matriksa i poremećenu funkciju. Fibroblasti su stanice koje su najviše zastupljene u vezivnom tkivu.

U stanjima homeostaze fibroblasti miruju, dok u stanjima bilo kojeg stresa ili podražaja fibroblasti se prilagođavaju na promjene u mikro okolišu i aktiviraju se u koordinaciji s djelovanjem upalnih citokina, posebno TGF- β 1, te se diferenciraju u miofibroblaste.

Miofibroblasti su terminalno diferencirane stanice koje nastaju kao odgovor na kroničnu upalu. Te stanice proizvode velike količine matriksa, ali istovremeno sadrže i kontraktilni aparat koji može djelovati na vlakna matriksa i usmjeravati ih u smislu cijeljenja rana.

Fibroza je stanje koje je zajedničko za brojna patološka stanja uključujući autoimunost, metaboličke poremećaje i odbacivanje presatka.

Fibroza tkiva je opasno stanje i patološka manifestacija karakterizirana ekscesivnom akumulacijom izvanstaničnog matriksa kao odgovor na akutnu ili kroničnu ozljedu.

Dodatno, intersticijska fibroza i tubularna atrofija (IF/TA) u bubrežnom korteksu nakon transplantacije bubrega ima izuzetno značenje u razvitku loše funkcije presatka i nastanku kronične bubrežne bolesti transplantata (29).

Klinička istraživanja koja se temelje na analizama bioptata bubrežnog presatka 12 mjeseci nakon transplantacije utvrdile su snažnu povezanost fibroze i broja CD206⁺ M2 makrofaga.

Smad-3 je unutarstanični signalni put koji je važan u diferencijaciji stanica i u proizvodnji TGF- β . U razvitku kroničnog dobacivanja presatka, smad-3 ovisna tranzicija makrofaga u miofibroblaste koja se događa u populaciji M2

makrofaga odgovorna je za intersticijsku fibrozu.

U procesu intersticijske fibroze i odbacivanja presatka, TGF- β koji proizvode makrofagi ima nesumnjivu ulogu, posebice u diferencijaciji makrofaga i miofibroblasta, međutim, kakva je uloga stečene imunosti, odnosno limfocita T, nije potpuno jasna. Th1 limfociti T, odnosno IFN- γ mogu poremetiti TGF/Smad signalni put. Suprotno tome, Th2 limfociti T potiču TGF- β posredovanu fibrozu proizvodnjom IL-4 i IL-13. Potrebna su daljnja istraživanja kako bi se utvrdila uloga stečene imunosti u fibrozi presatka (30).

LITERATURA

1. Furman D, Campisi J, Verdin E i sur. Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span. *Nat Med.* 2019 Dec;25(12):1822-1832. doi: 10.1038/s41591-019-0675-0.
2. Li D, Wu M. Pattern recognition receptors in health and diseases. *Signal Transduct Target Ther.* 2021 Aug 4;6(1):291. doi: 10.1038/s41392-021-00687-0.
3. Gong T, Liu L, Jiang W, Zhou R. DAMP-sensing receptors in sterile inflammation and inflammatory diseases. *Nat Rev Immunol.* 2020 Feb;20(2):95-112. doi: 10.1038/s41577-019-0215-7.
4. Bertheloot D, Latz E, Franklin BS. Necroptosis, pyroptosis and apoptosis: an intricate game of cell death. *Cell Mol Immunol.* 2021 May;18(5):1106-1121. doi: 10.1038/s41423-020-00630-3.
5. Pirault J, Bäck M. Lipoxin and Resolvin Receptors Transducing the Resolution of Inflammation in Cardiovascular Disease. *Front Pharmacol.* 2018 Nov 14;9:1273. doi: 10.3389/fphar.2018.01273.
6. Braza F, Brouard S, Chadban S, Goldstein DR. Role of TLRs and DAMPs in allograft inflammation and transplant outcomes. *Nat Rev Nephrol.* 2016 May;12(5):281-90. doi: 10.1038/nrneph.2016.41.
7. Franceschi C, Garagnani P, Parini P, Giuliani C, Santoro A. Inflammaging: a new immune-metabolic viewpoint for age-related diseases. *Nat Rev Endocrinol.* 2018 Oct;14(10):576-590. doi: 10.1038/s41574-018-0059-4.
8. Zindel J, Kubes P. DAMPs, PAMPs, and LAMPs in Immunity and Sterile Inflammation. *Annu Rev Pathol.* 2020 Jan 24;15:493-518. doi: 10.1146/annurev-pathmechdis-012419-032847.
9. Heldal TF, Åsberg A, Ueland T i sur. Systemic inflammation early after kidney transplantation is associated with long-term graft loss: a cohort study. *Front Immunol.* 2023 Oct 2;14:1253991. doi: 10.3389/fimmu.2023.1253991.
10. Land WG, Agostinis P, Gasser S, Garg AD, Linkermann A. Transplantation and Damage-Associated Molecular Patterns (DAMPs). *Am J Transplant.* 2016 Dec;16(12):3338-3361. doi: 10.1111/ajt.13963.
11. Dahle DO, Mjølten G, Oqvist B i sur. Inflammation-associated graft loss in renal transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant.* 2011 Nov;26(11):3756-61. doi: 10.1093/ndt/gfr163.
12. Lucas-Ruiz F, Peñín-Franch A, Pons JA i sur. Emerging Role of NLRP3 Inflammasome and Pyroptosis in Liver Transplantation. *Int J Mol Sci.* 2022 Nov 19;23(22):14396. doi: 10.3390/ijms232214396.
13. Taylor ME, Jaishankar D, Ho JW, Alam HB, Bharat A and Nadig SN. Mitochondrial responses to brain death in solid organ transplant. *Front Transplant.* 2023;2:1082227. doi: 10.3389/frtra.2023.1082227
14. Terasaki PI, Cecka JM, Gjertson DW, Takemoto S. High survival rates of kidney transplants from spousal and living unrelated donors. *N Engl J Med.* 1995 Aug 10;333(6):333-6. doi: 10.1056/NEJM199508103330601.
15. Todd JL, Palmer SM. Danger signal regulating the immune response to solid organ transplantation. *J Clin Invest.* 2017 Jun 30;127(7):2464-2472. doi: 10.1172/JCI90594.

16. Krüger B, Krick S, Dhillon N i sur. Donor Toll-like receptor 4 contributes to ischemia and reperfusion injury following human kidney transplantation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Mar 3;106(9):3390-5. doi: 10.1073/pnas.0810169106.
17. Thomson AW. MyD88 Inhibitors and the Continuing Challenge of TLR Antagonism. *Transplantation*. 2017 Feb;101(2):230-231. doi: 10.1097/TP.0000000000001565
18. Corrado C, Fontana S. Hypoxia and HIF Signaling: One Axis with Divergent Effects. *Int J Mol Sci*. 2020 Aug 5;21(16):5611. doi: 10.3390/ijms21165611.
19. Dwyer GK, Turnquist HR. Untangling Local Pro-Inflammatory, Reparative, and Regulatory Damage-Associated Molecular-Patterns (DAMPs) Pathways to Improve Transplant Outcomes. *Front Immunol*. 2021 Feb 23;12:611910. doi: 10.3389/fimmu.2021.611910.
20. Levy BD, Zhang QY, Bonnans C i sur. The endogenous pro-resolving mediators lipoxin A4 and resolvin E1 preserve organ function in allograft rejection. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2011 Jan-Feb;84(1-2):43-50. doi: 10.1016/j.plefa.2010.09.002.
21. Buckley CD, Gilroy DW, Serhan CN. Proresolving lipid mediators and mechanisms in the resolution of acute inflammation. *Immunity*. 2014 Mar 20;40(3):315-27. doi: 10.1016/j.immuni.2014.02.009.
22. Saran R, Robinson B, Abbott KC i sur. US Renal Data System 2018 Annual Data Report: Epidemiology of Kidney Disease in the United States. *Am J Kidney Dis*. 2019 Mar;73(3 Suppl 1):A7-A8. doi: 10.1053/j.ajkd.2019.01.001.
23. Pruett TL, Vece GR, Carrico RJ, Klassen DK. US deceased kidney transplantation: Estimated GFR, donor age and KDPI association with graft survival. *EClinicalMedicine*. 2021 Jun 23;37:100980. doi: 10.1016/j.eclinm.2021.100980.
24. Pippias M, Kramer A, Noordzij M i sur. The European Renal Association - European Dialysis and Transplant Association Registry Annual Report 2014: a summary. *Clin Kidney J*. 2017 Apr;10(2):154-169. doi: 10.1093/ckj/sfw135.
25. Mannon RB, Matas AJ, Grande J i sur; DeKAF Investigators. Inflammation in areas of tubular atrophy in kidney allograft biopsies: a potent predictor of allograft failure. *Am J Transplant*. 2010 Sep;10(9):2066-73. doi: 10.1111/j.1600-6143.2010.03240.x. PMC2951299.
26. Abedini S, Holme I, März W i sur; ALERT study group. Inflammation in renal transplantation. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2009 Jul;4(7):1246-54. doi: 10.2215/CJN.00930209.
27. Israni AK, Snyder JJ, Skeans MA i sur; PORT Investigators. Predicting coronary heart disease after kidney transplantation: Patient Outcomes in Renal Transplantation (PORT) Study. *Am J Transplant*. 2010 Feb;10(2):338-53. doi: 10.1111/j.1600-6143.2009.02949.x.
28. Quteineh L, Wójtowicz A, Bochud PY i sur; Swiss Transplant Cohort Study. Genetic immune and inflammatory markers associated with diabetes in solid organ transplant recipients. *Am J Transplant*. 2019 Jan;19(1):238-246. doi: 10.1111/ajt.14971.
29. Torres IB, Moreso F, Sarró E, Meseguer A, Serón D. The Interplay between inflammation and fibrosis in kidney transplantation. *Biomol Res Int*. 2014;2014:750602. doi: 10.1155/2014/750602.
30. Chen S, Saeed AFUH, Liu Q i sur. Macrophages in immunoregulation and therapeutics. *Signal Transduct Target Ther*. 2023 May 22;8(1):207. doi: 10.1038/s41392-023-01452-1.

**ADRESA ZA DOPISIVANJE:**

prof. dr. sc. Jerko Barbić, dr. med.
Zavod za nefrologiju, KBC Osijek
Ul. Josipa Huttlera 4, 31 000 Osijek
e-mail: jerko.barbic@kbco.hr

PRIMLJENO/RECEIVED:

1. veljače 2024./February 1, 2024

PRIHVAĆENO/ACCEPTED:

20. veljače 2024./February 20, 2024

