

Univerzita Karlova v Praze

2. lékařská fakulta

Studijní program: Fyziologie a patofyziologie člověka



MUDr. Mgr. Tomáš Rosík

Proteinurie a její vztah k přežívání transplantovaných ledvin u dětí

Association between proteinuria and graft survival in children after renal transplantation

Dizertační práce

Školitel: Prof. MUDr. Tomáš Seeman, CSc.

Praha, 2016

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem řádně uvedl a citoval všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 28. 2. 2016.

Tomáš Rosík

Podpis

Identifikační záznam:

ROSÍK, Tomáš. *Proteinurie a její vztah k přežívání transplantovaných ledvin u dětí. [Association between proteinuria and graft survival in children after renal transplantation].* Praha, 2016. 87 s., 5 příl. Dizertační práce (Ph.D.). Univerzita Karlova v Praze, 2. lékařská fakulta. Pediatriká klinika. Vedoucí práce Seeman Tomáš.

Klíčová slova:

Proteinurie, Transplantace ledviny, Dětská populace, Rejekce, Přežití štěpu, Biopsie, Fokálně-segmentální glomeruloskleróza, Rekurence.

Proteinuria, Kidney transplantation, Pediatric population, Rejection, Graft survival, Biopsy, Focal-segmental glomerulosclerosis, Recurrence.

OBSAH:

1. FYZIOLOGICKÉ A PATOFYZIOLOGICKÉ MECHANISMY PROTEINURIE PO TRANSPLANTACI LEDVINY	- 8 -
1.1. Úvod	- 8 -
1.2. FYZIOLOGICKÉ A STRUKTURÁLNÍ ASPEKTY GLOMERULÁRNÍ FILTRAČNÍ MEMBRÁNY VE VZTAHU K PROTEINURII	- 8 -
1.2.1. Vrstva glomerulárních endoteliálních buněk	- 8 -
1.2.2. Glomerulární bazální membrána	- 9 -
1.2.3. Štěrbínová membrána podocytů	- 9 -
1.2.3.1. Nefrin	- 10 -
1.2.3.2. Podocin	- 10 -
1.2.3.3. Neph1 a Neph2	- 11 -
1.2.3.4. CD2AP a NKP	- 11 -
1.2.3.5. Ostatní proteiny štěrbinové membrány	- 11 -
1.3. MĚŘENÍ PROTEINURIE	- 13 -
1.3.1. Skríníngové metody	- 13 -
1.3.1.1. Testační proužek k měření proteinů	- 13 -
1.3.1.2. Testační proužek k měření albuminu	- 13 -
1.3.2. Kvantitativní metody	- 14 -
1.3.2.1. Kvantitativní metody měření proteinů	- 14 -
1.3.2.2. Kvantitativní metody měření albuminu	- 14 -
1.4. PREVALENCE PATOLOGICKÉ PROTEINURIE U TRANSPLANTOVANÝCH PACIENTŮ	- 14 -
1.5. KLASIFIKACE PROTEINURIE	- 15 -
1.6. RIZIKOVÉ FAKTORY VZNIKU PROTEINURIE	- 16 -
1.7. PATOFYZIOLOGICKÉ MECHANISMY NEJČASTĚJŠÍCH RIZIKOVÝCH FAKTORŮ PROTEINURIE	- 17 -
1.7.1. Rekurence základního onemocnění	- 17 -
1.7.1.1. Rekurence fokálně-segmentální glomerulosklerózy	- 17 -
1.7.1.2. Rekurence membranózní nefropatie	- 18 -
1.7.1.3. Rekurence membrano-proliferativní glomerulonefritidy	- 19 -
1.7.1.4. Rekurence IgA nefropatie a Henoch-Schönleinovy purpury	- 19 -
1.7.1.5. Rekurence systémové lupusové nefritidy	- 20 -
1.7.1.6. Rekurence hemolyticko-uremického syndromu a trombotické trombocytopenické purpury	- 20 -
1.7.1.7. Rekurence ANCA asociované vaskulitidy	- 21 -
1.7.1.8. Rekurence Goodpastureova syndromu	- 21 -
1.7.2. Rejekce	- 21 -
1.7.3. Ischemicko-reperfúzní poškození	- 22 -
1.7.4. mTOR inhibitory	- 22 -
1.7.5. Hypertenze a obezita	- 23 -
1.7.6. Demografické faktory dárce a příjemce	- 24 -
1.8. PATOFYZIOLOGICKÝ MECHANISMUS VLIVU PROTEINURIE NA SELHÁNÍ FUNKCE ŠTĚPU	- 24 -
1.9. Vliv proteínurie na přežívání štěpů	- 26 -

1.10. VLIV PROTEINURIE NA PŘEŽÍVÁNÍ PACIENTŮ	- 27 -
1.11. HISTOLOGICKÉ ZMĚNY VE VZTAHU K PROTEINURII	- 28 -
1.12. LÉČBA PROTEINURIE.....	- 29 -
1.12.1. Léčba příčiny proteinurie	- 29 -
1.12.1.1. Plazmaferéza a imunoadsorpce	- 30 -
1.12.1.2. Calcineurinové inhibitory.....	- 30 -
1.12.1.3. Glukokortikoidy	- 31 -
1.12.1.4. Rituximab.....	- 31 -
1.12.1.5. Inhibitory systému renin-angiotenzin-aldosteron	- 31 -
1.12.1.6. Anti-CTLA4 protilátky	- 32 -
1.12.1.7. Anti-TNF α protilátky	- 32 -
1.12.1.8. Kyselina retinová.....	- 32 -
1.12.1.9. Galaktóza	- 32 -
1.12.2. Léčba proteinurie snížením krevního tlaku	- 33 -
1.12.3. Léky s přímým antiproteinurickým účinkem	- 35 -
2. CÍLE DIZERTAČNÍ PRÁCE A PRACOVNÍ HYPOTÉZA.....	- 37 -
2.1. STUDIE 1: PROTEINURIE 1 ROK PO TRANSPLANTACI LEDVINY JE ASOCIOVÁNA S PŘEŽÍVÁNÍM TRANSPLANTOVANÝCH ŠTĚPŮ U DĚTÍ	- 37 -
2.1.1. Cíle práce	- 37 -
2.1.2. Pracovní hypotéza.....	- 37 -
2.2. STUDIE 2: VČASNÁ LÉČBA REKURENCE FOKÁLNĚ-SEGMENTÁLNÍ GLOMERULOSKLERÓZY PO TRANSPLANTACI LEDVINY JE ASOCIOVÁNA S LEPŠÍMI VÝSLEDKY LÉČBY A LEPŠÍ PROGNÓZOU PŘEŽÍVÁNÍ ŠTĚPŮ	- 37 -
2.2.1. Cíle práce	- 37 -
2.2.2. Pracovní hypotéza.....	- 38 -
3. STUDIE 1: PROTEINURIE 1 ROK PO TRANSPLANTACI LEDVINY JE ASOCIOVÁNA S PŘEŽÍVÁNÍM TRANSPLANTOVANÝCH ŠTĚPŮ U DĚTÍ.....	- 39 -
3.1. ÚVOD	- 39 -
3.2. MATERIÁL A METODY.....	- 39 -
3.2.1. Charakteristika souboru.....	- 39 -
3.2.2. Laboratorní metody	- 40 -
3.2.3. Imunosuprese.....	- 41 -
3.2.4. Renální biopsie.....	- 41 -
3.2.4.1. Klasifikace Banff 2007:	- 41 -
3.2.5. Statistická analýza dat.....	- 43 -
3.3. VÝSLEDKY	- 43 -
3.3.1. Proteinurie	- 43 -
3.3.2. Charakteristiky dárce a příjemce	- 43 -

3.3.3. Přežívání štěpů.....	- 45 -
3.3.4. Rizikové faktory pro přežívání štěpů.....	- 46 -
3.3.5. Histologické nálezy.....	- 49 -
3.3.6. Přežívání pacientů.....	- 51 -
3.4. DISKUZE.....	- 51 -
3.4.1. Prevalence proteinurie.....	- 51 -
3.4.2. Rizikové faktory proteinurie.....	- 52 -
3.4.3. Rizikové faktory přežívání štěpů.....	- 52 -
3.4.4. Histologické nálezy.....	- 53 -
3.4.5. Proteinurie ve vztahu k přežívání pacientů.....	- 54 -
4. STUDIE 2: VČASNÁ LÉČBA REKURENCE FOKÁLNĚ-SEGMENTÁLNÍ GLOMERULOSKLERÓZY PO TRANSPLANTACI LEDVIN JE ASOCIOVÁNA S LEPŠÍ PROGNÓZOU PŘEŽÍVÁNÍ ŠTĚPU.....	- 55 -
4.1. ÚVOD.....	- 55 -
4.2. MATERIÁL A METODIKA.....	- 55 -
4.3. VÝSLEDKY.....	- 56 -
4.3.1. Základní charakteristiky souboru.....	- 56 -
4.3.1. Klinický průběh jednotlivých pacientů.....	- 56 -
4.3.1. Shrnutí výsledků v tabulkách.....	- 64 -
4.4. DISKUZE.....	- 65 -
4.4.1. Základní charakteristiky souboru.....	- 65 -
4.4.2. Bioptické nálezy.....	- 66 -
4.4.3. Úspěšnost léčby ve vztahu k časnosti zahájení léčby.....	- 66 -
4.4.4. Přežívání štěpů.....	- 67 -
5. ZÁVĚR.....	- 69 -
6. SOUHRN:.....	- 72 -
7. SUMMARY:.....	- 73 -
8. LITERATURA:.....	- 74 -

SEZNAM ZKRATEK:

ACE	Angiotenzin konvertující enzym
ANCA	Anti-Neutrophil Cytoplasm Antibody
ARB	Blokátor angiotenzinového receptoru
BKV	BK virus
CAN	Chronická nefropatie štěpu
CB/krea	Index celková bílkovina ke kreatininu v moči
CD2AP	Protein asociovaný s CD2
CNI	Inhibitory calcineurinových receptorů
DGF	Opožděná funkce štěpu (Delayed graft function)
FSGS	Fokálně-segmentální glomeruloskleróza
GFR	Glomerulární filtrace
HCV	Virus hepatitidy C
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HLA	Human Leucocyte Antigen
IgA	Imunoglobulin A
IGF-1	Insulin-like growth factor 1
IP 10	Interferonem indukovaný protein 10
LDL	Low Density Lipoprotein
Mig	Monokin indukovaný interferonem γ
MCP-1	Monocytární chemoatraktivní protein 1
mTOR	Mammalian target of rapamycin
NPHS2	Gen kódující podocin
PAF	Plateled activating factor
PDGF	Plateled-derived growth factor
TGF- β 1	Transforming growth factor β 1
TNF α	Tumor necrosis factor α
TRPC	Transient receptor potential cation
Tx	Transplantace
VEGF	Vaskulární endotelový růstový faktor
VLDL	Very Low Density Lipoprotein
WT1	Wilms Tumor 1 gen

1. Fyziologické a patofyziologické mechanismy proteinurie po transplantaci ledviny

1.1. Úvod

U zdravých jedinců jsou nízkomolekulární proteiny a malé množství albuminu filtrovány v glomerulu a hojně reabsorbovány v proximálním tubulu. Přesto i moč zdravých jedinců obsahuje malé množství bílkovin. Přibližně 40 až 80 mg bílkovin je každý den vylučováno močí [1].

Proteinurie je častou komplikací chronických onemocnění ledvin [2]. Vztah mezi zvyšující se proteinurií a progresí renálního onemocnění je všeobecně známý a proteinurie jako taková sama přispívá k poškození ledvin až do stádia chronického selhání ledvin. Podobně jako ve všeobecné populaci, je i u pacientů po transplantaci ledviny proteinurie nezávislým rizikovým faktorem pro zvýšenou kardiovaskulární mortalitu a morbiditu [3]. U řady studií na dospělých pacientech po transplantaci ledviny byla proteinurie asociována se sníženým přežíváním štepů i pacientů po transplantaci ledviny [4-8]. U dětí po transplantaci ledviny zatím takový vztah studován nebyl.

1.2. Fyziologické a strukturální aspekty glomerulární filtrační membrány ve vztahu k proteinurii

Mikroskopická struktura „glomerulární filtrační bariéry“ je složena ze tří různých vrstev: 1) vrstva glomerulárních endotelových buněk, 2) glomerulární bazální membrána, 3) viscerální vrstva buněk složená z podocytů. Přestože se všechny tři vrstvy podílejí na normální glomerulární filtrační funkci, vrstva podocytů je nejdůležitější z hlediska správné filtrační funkce glomerulu [9].

1.2.1. Vrstva glomerulárních endoteliálních buněk

Charakteristickým rysem endotelových buněk glomerulů jsou jejich fenestrace. Jsou to kulaté nebo oválné transcelulární otvory o průměru 70 – 100 nm. Podle nedávných studií u geneticky modifikovaných myší bylo zjištěno, že vaskulární endotelový růstový faktor VEGF produkovaný podocyty má klíčovou úlohu ve vývoji endotelu glomerulů a podílí se na

udržení jeho fenestrací [10]. Protože tyto otvory jsou dostatečně velké ve vztahu k velikosti albuminu, dochází k průchodu značného množství albuminu přes tuto vrstvu. Na povrchu endotelu glomerulů se nachází glykokalyx, který zabraňuje úniku albuminu. Glykokalyx obsahuje negativně nabitě sialoproteiny a proteoglykany [11]. V některých studiích byla proteinurie asociována s defekty v glykokalyx, což potvrzuje důležitost správné činnosti této struktury pro správnou funkci glomerulární filtrační membrány [12, 13].

1.2.2. Glomerulární bazální membrána

Glomerulární bazální membrána je acelulární matrix o tloušťce 300 až 350 nm, která poskytuje strukturální podporu stěně kapilár glomerulu. Hlavní komponenty této membrány jsou kolagen IV, proteoglykany, laminin a nidogen [14, 15]. U plodu je kolagen IV tvořen podjednotkami $\alpha 1$ a $\alpha 2$ v poměru 2:1. Tato forma je však v později nahrazena adultním typem kolagenu IV tvořeným podjednotkami $\alpha 3$, $\alpha 4$ a $\alpha 5$ v poměru 1:1:1 [15]. Kolagen IV se svými četnými příčnými spojeními řetězců způsobuje velkou pevnost glomerulární bazální membrány, ale pravděpodobně se nepodílí na selektivitě filtrovaných molekul ani podle velikosti ani podle náboje. Toto tvrzení je podpořeno zjištěním, že nález mutace kolagenu IV vede ke změně struktury glomerulární bazální membrány, která vede k hematurii, ale jen velmi mírné proteinurii [15, 16].

Elektronmikroskopické vyšetření bazální membrány identifikovala její aniontovou část, která je složena z heparan sulfátu a chondroitin sulfátu. Negativní náboj hraje důležitou úlohu při filtraci, protože enzymatické odstranění této části bazální membrány vede ke vzniku proteinurie [17, 18].

1.2.3. Štěrbinová membrána podocytů

Podocyty jsou největší buňky v glomerulu, jež mají dlouhé cytoplazmatické výběžky, které se rozdělují na jednotlivé prstovité výběžky zvané pedikly. Podocyty jsou ukotveny k bazální membráně glomerulů pomocí transmembránových buněčných receptorů jako je $\alpha\beta$ -dystroglycan a intergrinů, $\alpha\beta$ heterodimerních proteinů, které jsou obecně zodpovědné za vazbu epitelových buněk k bazální membráně, přičemž v glomerulech je nejvíce zastoupen $\alpha 3\beta 1$ integrin, který je vázán k aktinu cytoskeletu buněk [9]. V podocytech je velké množství

mikrotubulů a mikrofilament, jejichž množství je největší v prstovitých výběžcích. Za normálních okolností jsou vzdálenosti mezi prstovitými výběžky 25 až 60 nm. Tato mezera je propojena tenkou membránou zvanou štěrbinová membrána (angl. slight diaphragm) [9].

Podocyty a štěrbinová membrána hrají důležitou úlohu v glomerulární filtraci. Proteiny této štěrbinové membrány tvoří komplex, jenž přispívá ke struktuře štěrbinové membrány a váže membránu k intracelulárnímu aktinu cytoskeletu podocytů. Většina těchto proteinů je nezbytná pro její funkci. Není proto překvapující, že mutace těchto specifických genů vede ke vzniku proteinurie [19].

1.2.3.1. Nefrin

Nefrin byl prvním proteinem štěrbinové membrány, který byl identifikován. Mutace genu pro tento protein vede ke kongenitálnímu nefrotickému syndromu finského typu (gen NPHS1) [20]. Jde o protein, který je v ledvinách exprimován pouze na podocytech [21]. Inaktivace tohoto genu vede u pokusných myší k masivní proteinurii, vymizení štěrbinové membrány a časně smrti [22]. Nefrin má krátkou intracelulární část, transmembránovou část a extracelulární část, jejíž délka dosahuje cca 35 nm, a která tvoří filtrační strukturu štěrbinové membrány [23]. Fosforylace tyrosinu intracelulární části nefrinové molekuly Src kinázou zahajuje signalizační kaskádu a podporuje anti-apoptotické signály. U myší, kterým chyběla tato kináza, docházelo též ke vzniku těžké proteinurie [24].

1.2.3.2. Podocin

Podocin je další protein, jenž se nachází výhradně na podocytech ve štěrbinové membráně [25]. Mutace genu pro podocin (gen NPHS2) vede k autozomálně recesivnímu nefrotickému syndromu, který se může manifestovat v kojeneckém ale i pozdějším dětském věku [26]. Podocin vytváří vlásenkovou strukturu uloženou ve štěrbinové membráně, přičemž obě koncové části jsou uloženy intracelulárně v podocytech. Podocin interaguje s intracelulárními doménami nefrinu a proteinu Neph1 a s proteinem asociovaným s CD2 (CD2AP) [27]. U myší s nefunkčním genem pro podocin dochází k těžké proteinurii ihned po porodu, která vede ke smrti během několika dnů [28].

1.2.3.3. Neph1 a Neph2

Neph1 a Neph2 jsou proteiny strukturálně podobné nefrinu, které jsou lokalizovány ve štěrbinové membráně a vytvářejí heterodimery s nefrinem [29]. Po fosforylaci se tyto proteiny podílí na intracelulární signalizační kaskádě [30].

1.2.3.4. CD2AP a NKP

CD2AP (protein asociovaný s CD2) a NKP jsou vazebné proteiny, které pojí štěrbinovou membránu k aktinovému cytoskeletu podocytů. CD2AP přímo interaguje s aktinem a synaptopodinem cytoskeletu podocytů [9]. Navíc tento protein interaguje s intracelulárními doménami nefrinu a podocinu a podílí se též na endocytóze [31]. U myši s nefunkčním genem pro CD2AP dochází k rozvoji nefrotického syndromu ve věku 6 – 7 týdnů [32]. Mutace genu pro CD2AP též způsobuje fokálně-segmentální glomerulosklerózu [33].

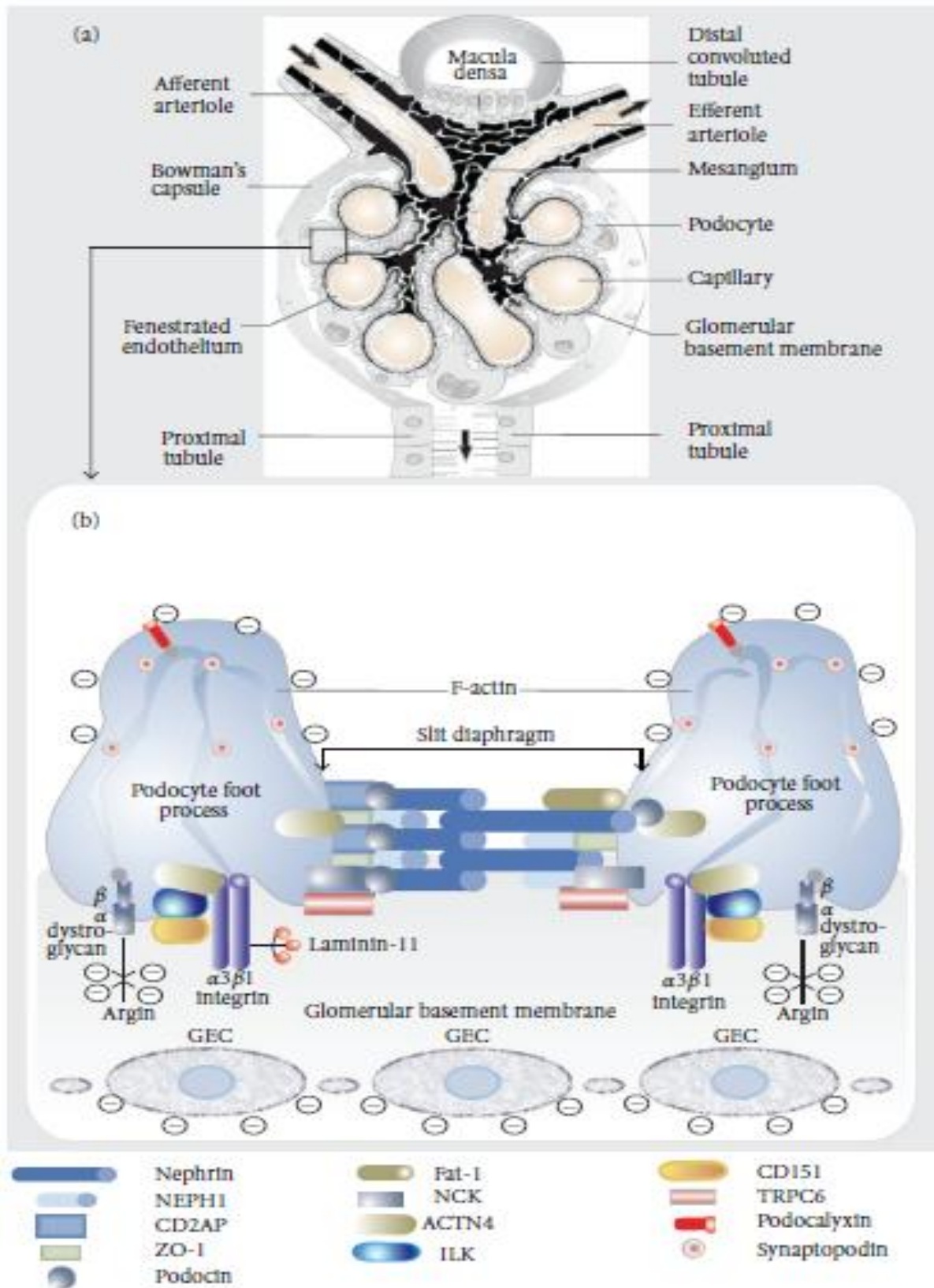
1.2.3.5. Ostatní proteiny štěrbinové membrány

ZO-1 (zonula occludens 1) je intracelulární protein spojený s tight junction epitelových buněk, nachází se však i ve štěrbinové membráně glomerulu, kde interaguje s Neph proteiny, avšak jeho role zůstává zatím neobjasněna [34].

TRPC6 (transient receptor potential cation 6) je protein regulující vstup Ca^{2+} do buněk a je aktivován buď deplecí Ca^{2+} v buňce nebo aktivací receptorového procesu [35]. Tento protein je lokalizován na povrchu výběžků podocytů, kde interaguje s nefrinem a podocinem, ne však s CD2AP [9]. Mutace v genu pro TRPC6 vede k autozomálně dominantní formě fokálně-segmentální glomerulosklerózy [36].

FAT1 a FAT2 jsou velké transmembránové proteiny štěrbinové membrány [37]. Absence FAT1 proteinu vede ke ztrátě štěrbinové membrány a vzniku těžké proteinurie, dále k okulárním defektům a časnému perinatálnímu úmrtí. Mutace genu pro protein FAT2 vede pouze k proteinurii [38].

Obrázek 1: Schéma komponent filtrační bariéry: (a) ilustrace všech faktorů podílejících se na normálním filtračním procesu; (b) molekulární struktura podocyty a štěrbinové membrány.



Zkratky: ACTN4: α -actinin-4; CD2AP: CD2-asociovaný protein; GEC: glomerulární endotelová buňka; ILK: integrin-vázaná kináza; ZO-1: tight junction protein ZO-1; CD151: tetraspanin CD151; TRPC6: transient receptor potential cation channel 6; NCK: Protein adaptor NCK.

Převzato z: Toblli JE, Bevione P, Di Gennaro F, Madalena L, Cao G, Angerosa M (2012) Understanding the mechanisms of proteinuria: therapeutic implications. International journal of nephrology 2012:546039 [9].

1.3. Měření proteinurie

1.3.1. Skriningové metody

1.3.1.1. Testační proužek k měření proteinů

Celulózový povrch s bromotetrafenolem s pH 3 způsobuje barevnou změnu po kontaktu s proteiny, přičemž intenzita zbarvení koreluje s koncentrací proteinů. Použití škály k určení intenzity zbarvení redukuje velkou variabilitu interpretace vyšetření a možnost chyb. Obvykle změna 1+ a více odpovídá koncentraci 300 mg/l, není však možné detekovat koncentrace menší než 300 mg/l. Navíc falešná negativita je poměrně častá [39]. Senzitivita a specifická je velmi variabilní, proto je ve všech doporučených postupech pozitivní výsledek na základě testačního proužku nutno vždy verifikovat pomocí kvantitativních metod [40]. Existují i speciální proužky, které stanovují též kreatinin a tím umožňují odhadnout protein/kreatininový index [41].

1.3.1.2. Testační proužek k měření albuminu

Celulózový povrch impregnovaný tetrabromosulfoftaleinem je schopný detekovat i malé množství albuminu o koncentraci 30 – 40 mg/l v moči. Existují též semikvantitativní metody, které měří též kreatinin pomocí peroxidázové aktivity, a umožňují odhadnout

albumin/kreatininový index v rámci tří kategorií: < 3,4; 3,4 – 33,9; >33,9 mg/mmol kreatininu [41].

1.3.2. Kvantitativní metody

1.3.2.1. Kvantitativní metody měření proteinů

K měření proteinů v moči je možno využít více metod, nejčastěji je však využívána turbidimetrická metoda nebo metoda využívající benzethonium, která je založena na reakci proteinů s trichloroctovou kyselinou nebo na barevné reakci s pyrogallol molybdátem. U jednotlivých metod je udávána variabilní senzitivita a specificita [41].

1.3.2.2. Kvantitativní metody měření albuminu

Ke kvantitativnímu stanovení koncentrace albuminu se používají imunoturbidimetrické a nefelometrické metody, přičemž tyto metody jsou schopné detekovat koncentraci albuminu 10 mg/l. V poslední době se uplatňuje i kapalinová chromatografie, které je schopná detekovat neimunoreaktivní albumin [41].

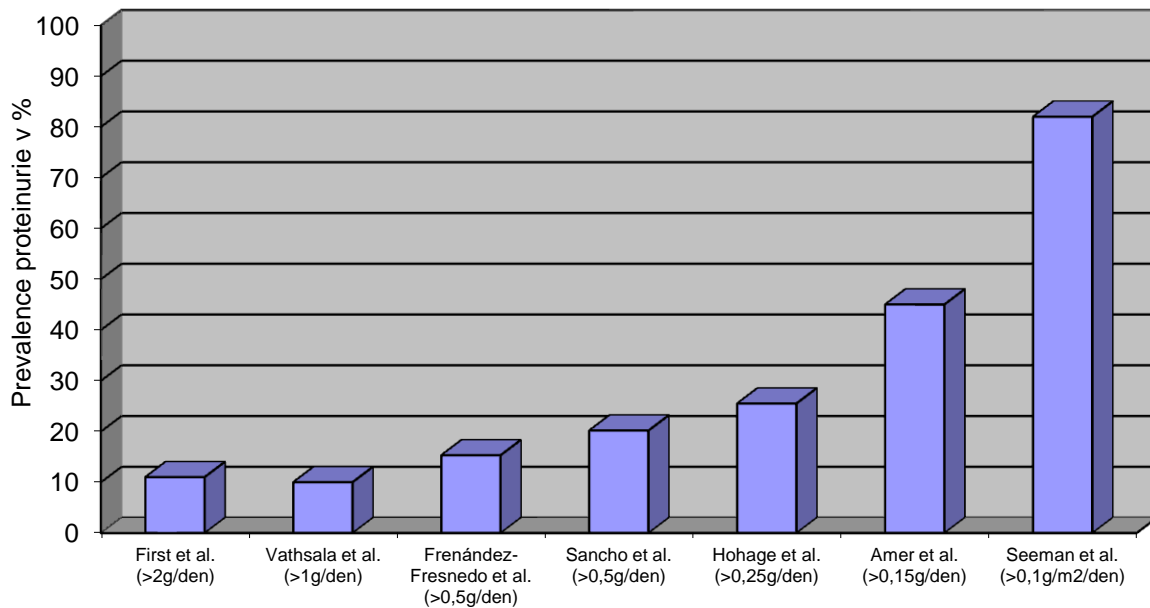
1.4. Prevalence patologické proteinurie u transplantovaných pacientů

Proteinurie je u pacientů po transplantaci ledviny relativně častou komplikací. Její prevalence se v jednotlivých studiích velmi různí v závislosti na hodnotě definující patologickou proteinurii. Obecně se prevalence patologické proteinurie pohybuje od 7 % do 45 % všech transplantovaných pacientů. Při prahové hodnotě v rozmezí 2 až 3 g/den je prevalence konzistentní v rozmezí jen od 12 % do 13 %. Při snížení prahu na 1 g/den se prevalence zvyšuje na 19 % (v rozmezí 7 % až 40 %) [4, 42-46], při hodnotě prahu 0,5 g/den je to 22 % (v rozmezí od 13 % do 36 %) [3, 5, 7]. Pokud je práh pro proteinurii stanoven těsně nad normálním limitem > 0,2 g/den, pohybuje se prevalence od 31 % do 36 % [47, 48].

U dětí po transplantaci ledviny byla prevalence proteinurie ve dvou studiích 47-82 % při hodnotě prahu 0,096 mg/m²/den [49, 50]. Tato vyšší prevalence proteinurie oproti studiím u dospělých pacientů je dána nižším prahem pro definici patologické proteinurie u dětí. Při

hodnotě 0,960 mg/m²/den (což odpovídá hodnotě 2 g/den u dospělých) byla prevalence jen 12 % [49].

Obrázek 2: Prevalence proteinurie u pacientů po transplantaci ledviny v závislosti na hodnotě definující patologickou proteinurií.



Legenda: V grafu je vždy uveden hlavní autor práce a hodnota definující patologickou proteinurií.

1.5. Klasifikace proteinurie

Proteinurii po transplantaci ledviny můžeme dělit podle doby výskytu po transplantaci (časná a pozdní), podle délky trvání (přechodná a perzistentní), podle kvality (glomerulární, tubulární a smíšená), množství (mírná a nefrotická) a příčiny (rekurence základního onemocnění ve štěpu, toxicita imunosupresiv, akutní a chronická rejekce, hypertenze) [51].

Zvýšená exkrece nízkomolekulárních globulinů je senzitivním markerem některých typů tubulointersticiálních onemocnění. Naopak zvýšená exkrece albuminu je senzitivním markerem glomerulopatií, jako jsou glomerulonefritidy nebo poškození ledvin při diabetu a hypertenzi [52]. U dospělých pacientů po transplantaci ledviny se nejčastěji vyskytuje proteinurie tubulárního původu [6, 53, 54]. Teppo et al. se své studii zabývali výskytem mikroalbuminurie a tubulárního markeru alfa-1-mikroglobulinu v moči. Zjistili vysoce

zvýšenou koncentraci alfa-1-mikroglobulinu dokonce i u normoalbuminurických pacientů, konkrétně 10x zvýšený index alfa-1-mikroalbumin/kreatinin oproti zdravým kontrolám, přičemž tento index dále roste paralelně s vzestupem albuminurie. U pacientů s tímto indexem vyšším než 5 mg/mmol byly častěji nalezeny histologické změny, snížená funkce ledvin a častější výskyt akutní rejekce oproti pacientům s indexem nižším než 5 mg/mmol [54]. Schaub et al. ve své studii zkoumali koncentraci albuminu a alfa-1-mikroglobulinu ve vztahu k histologickým nálezům. Jak index albumin/kreatinin tak i index alfa-1-mikroglobulin/kreatinin byly statisticky významně zvýšeny u pacientů s histologickým nálezem tubulitidy oproti pacientům s normálním histologickým nálezem. Zvýšená hodnota alfa-1-mikroglobulinu korelovala nejen s výskytem tubulární atrofie a intersticiální fibrózy, ale i s nižším přežíváním štěpů [53].

U dětí byl charakter proteinurie zkoumán pouze v jedné studii. Ve shodě se studiemi u dospělých pacientů byl zjištěn převažující tubulární typ proteinurie až u 80 % všech pacientů s patologickou proteinurií, zatímco pouze 20% pacientů mělo převažující glomerulární typ proteinurie. Děti s histologicky prokázanou chronickou nefropatií štěpu (CAN) měly signifikantně vyšší albuminurii ve srovnání s dětmi bez CAN, přičemž hodnota alfa-1-mikroglobulinu se mezi oběma skupinami nelišila. Hodnota celkové proteinurie v této studii korelovala s hodnotou albuminurie, jakož i s hodnotou alfa-1-mikroglobulinu v moči. To odpovídá předpokladu, že proteinurie je obvykle smíšeného typu s častějším výskytem tubulární proteinurie [50].

1.6. Rizikové faktory vzniku proteinurie

V řadě studií byly definovány rizikové faktory pro vznik proteinurie u pacientů po transplantaci ledviny. Fernández-Fresnedo et al. prokázali jako rizikové faktory primární onemocnění dárce, HCV pozitivitu příjemce, věk dárce, příčinu smrti dárce, opožděnou funkci štěpu a epizodu akutní rejekce [4]. Naopak Amer et al. ve své studii popsali vysokou prevalenci proteinurie ve vztahu k ženskému pohlaví dárce, mužskému pohlaví příjemce, akutní rejekci v anamnéze, terapii sirolimem, hladině sérového kreatininu, poklesu úrovně glomerulární filtrace nebo zvýšenému systolickému a diastolickému krevnímu tlaku [7]. V jiné studii Halimi et al. našli korelaci proteinurie s věkem dárce, kardiovaskulárním onemocněním dárce, časem teplé ischémie, časem studené ischémie, hodnotou sérového kreatininu, ale naopak nebyla potvrzena korelace s opožděnou funkcí štěpu [43]. Sancho et

al. uvádějí jako rizikové faktory pro vznik proteinurie pohlaví dárce a příjemce, zejména u starších dárců. Jako další rizikový faktor také uvádějí nadváhu (body mass index > 25). Nebyla však potvrzena asociace mezi epizodou akutní rejekce a přítomností proteinurie. Z dalších faktorů je v této studii uváděna vyšší hladina sérového kreatininu, vyšší úroveň systolického tlaku a dále imunologické parametry, zvláště HLA senzibilizace [5].

Rizikové faktory vzniku proteinurie byly u dětí zkoumány pouze v jediné průřezové studii. Nebyla nalezena statisticky významná korelace mezi rozvojem proteinurie po transplantaci ledviny a věkem dárce, časem studené ischémie, mezi kadaverózním dárcem oproti živému dárci nebo mezi léčbou sirolimem oproti jiným imunosupresivům [50].

1.7. Patofyziologické mechanismy nejčastějších rizikových faktorů proteinurie

1.7.1. Rekurence základního onemocnění

1.7.1.1. Rekurence fokálně-segmentální glomerulosklerózy

Fokálně segmentální glomeruloskleróza (FSGS) patří mezi nejčastější příčiny rekurence primárního onemocnění ledvin po transplantaci ledvin u dětí [55]. Z patofyziologického hlediska rozlišujeme pět forem FSGS: 1. idiopatická (primární), u níž není zatím objasněna patofyziologické příčina, 2. geneticky podmíněná, 3. adaptivní, 4. asociovaná s virovou infekcí, 5. způsobená léky [56]. U primární FSGS jsou předpokládáným patofyziologickým mechanismem imunitní a cytokinové abnormality, které vedou k poškození podocytů [57]. Na mechanismu účinku se podílí předpokládaný (ale dosud neobjevený) faktor permeability (angl. permeability factor), který zvyšuje permeabilitu glomerulární filtrační membrány. Předpokládá se také vliv dysfunkce T-lymfocytů a imunologických cirkulujících faktorů (např. cytokiny, lymfokiny, růstové faktory a složky komplementu) [58]. U geneticky podmíněné formy FSGS byla nalezena kauzální souvislost u více než 20 genů nacházejících se jak v jaderném tak mitochondriálním genomu, přičemž tyto geny kódují řadu molekul obsažených jak ve šterbinové membráně glomerulu tak v aktinovém cytoskeletonu podocytů, jenž je rozhodující pro jejich správnou funkci. Adaptivní forma FSGS vzniká při nesouladu mezi fyziologickou náloží (z části závislé na velikosti těla – např. při morbidní obezetě, ale též na ostatních faktorech krevního průtoku) a filtračním

povrchu glomerulů (alespoň z části závislé na počtu nefronů). Tento nesoulad vede ke stresu podocytů následovaný oddělením podocytů od bazální membrány (detachment) a jejich ztrátě. FSGS asociovaná s virovou infekcí zahrnuje především parovirus B19 a HIV. Je způsobena jak přímou infekcí podocyty virem a cirkulujícími virovými proteiny tak i jako následek zánětlivých cytokinů uvolněných z jiných infikovaných tkání, jelikož tyto cytokiny interagují s podocytovými receptory. Léky způsobená FSGS zahrnuje léky, které působí přímo na činnost podocytů (pamidronát, interferon alfa), ale též i léky, které způsobují poškození intersticia tubulů ledviny (lithium, cyklosporin, tenofovir) [57].

Výskyt rekurence FSGS po transplantaci ledviny je udáván mezi 20 – 40 % a je asociován se zhoršeným přežíváním štěpu. Při druhé transplantaci ledviny u pacientů, u kterých první transplantovaná ledvina selhala z důvodu rekurence, dochází k rekurenci této formy FSGS až u 60 – 100 % pacientů [59-65].

Rekurence se projeví těžkou nefrotickou proteinurií většinou již několik hodin či dnů po transplantaci [55]. Léčba rekurence primární fokálně-segmentální glomerulosklerózy bude uvedena v kapitole o léčbě proteinurie.

1.7.1.2. Rekurence membranózní nefropatie.

Membranózní nefropatie se dělí na primární a sekundární. Z patofyziologického hlediska se u primární formy podílí na vzniku onemocnění protilátky proti receptoru pro M-*typ fosfolipázy A2* [66]. K rekurenci primární membranózní nefropatie po transplantaci ledvin dochází v 7 – 44 % a rekurence tohoto onemocnění je asociována se sníženým přežíváním štěpu [67-70]. Ke vzniku rekurence dochází časně po transplantaci, většinou do 3 dnů po transplantaci, rekurence se klinicky projeví patologickou proteinurií, i když při provedených protokolárních renálních biopsiích byly zjištěny histologické známky rekurence membranózní nefropatie ještě bez vzestupu proteinurie [71]. Na druhou stranu může po transplantaci dojít ke vzniku *de novo* membranózní nefropatie, proto může být diagnosticky obtížné rozlišit rekurenci membranózní glomerulonefritidy od *de novo* membranózní glomerulonefritidy [72-74]. Oproti rekurenci membranózní glomerulonefritidy dochází ke vzniku *de novo* membranózní glomerulonefritidy většinou až později po transplantaci ledviny [75].

1.7.1.3. Rekurence membrano-proliferativní glomerulonefritidy.

Membrano-proliferativní glomerulonefritida se z patofyziologického hlediska dělí na typ 1 asociovaný s imunokomplexy (histologicky s depozity C3 složky komplementu a imunoglobulíny) a typ 2 asociovaný s dysregulací alternativní kaskády komplementu (histologicky jen s depozity C3 složky komplementu) [76]. Celkově je rekurence tohoto onemocnění po transplantaci ledviny udávána mezi 27 – 65 % a je asociována se špatným přežíváním štěpu [77]. Výskyt rekurence však závisí na typu membrano-proliferativní glomerulonefritidy, kdy u typu 2 rekurence dosahuje téměř 100% [77]. V prevenci vzniku rekurence je doporučováno podávání čerstvé mražené plazmy před a po transplantaci [78]. V léčbě se pak uplatňuje plazmaferéza a nověji léčba eculizumabem (monoklonální protilátkou proti komplementovému faktoru C5a) [79-81]. Ze sekundárních příčin membrano-proliferativní glomerulonefritidy je udávána nejčastěji hepatitida C, přičemž podíl rekurence po transplantaci ledviny u tohoto typu není znám, vzhledem k limitovanému množství publikovaných prací. V léčbě se pak uplatňují antivirotika a interferon, který však zvyšuje riziko rejekce, proto je tato léčba komplikovaná a kontroverzní [82, 83].

1.7.1.4. Rekurence IgA nefropatie a Henoch-Schönleinovy purpury

IgA nefropatie a Henoch-Schönleinova purpura jsou považovány za systémová autoimunitní onemocnění, ve kterých hrají centrální úlohu B lymfocyty produkující imunoglobulin A [84]. Výskyt rekurence po transplantaci ledviny je udáván v širokém rozmezí 9 – 60 % [85]. Jako rizikové faktory pro rekurenci je uváděn nízký věk příjemce a rychle progredující IgA nefropatie s tvorbou srpků před transplantací ledviny [86, 87]. K rekurenci může dojít v časném potransplantačním období, ale většinou dochází k rekurenci až za několik let po transplantaci. Klinicky se rekurence projeví hematurií a mírnou proteinurií. Vliv rekurence na přežívání štěpů nebyl zatím zcela zhodnocen, v některých studiích však nebyl nalezen rozdíl mezi přežíváním štěpů mezi pacienty s primárním onemocněním IgA nefropatií oproti jiným základním onemocněním, naopak byly identifikovány některé podtypy HLA (HLA-B8 a HLA-DR3) asociované se sníženým přežíváním štěpů u pacientů s primárním onemocněním IgA nefropatií [88]. Léčba rekurence je podobná léčbě základního onemocnění. Nebylo prokázáno, že by jiná speciální imunosupresivní léčba vedla k lepším výsledkům [89].

1.7.1.5. Rekurence systémové lupusové nefritidy

Rekurence lupusové nefritidy se klinicky projevuje proteinurií a hematurií, přičemž nejčastějšími histologickým nálezem je typ I a II dle ISN klasifikace [90]. U pacientů s primárním onemocněním lupusovou nefritidou je udáváno zvýšené riziko trombotických komplikací [91]. Je proto doporučován screening antifosfolipidových protilátek a pokud jsou přítomny, je nutná prevence antikoagulancii v peritransplantačním a postransplantačním období [92]. Rekurence lupusové nefritidy po transplantaci ledviny byla nalezena až u 50 % histologických nálezů z protokolárních biopsií [93, 94]. Rekurence vede ke sníženému přežívání štěpů, nicméně nejčastější příčinou selhání štěpu je v této skupině rejekce [95, 96]. Rizikovými faktory pro rekurenci jsou ženské pohlaví, mladší věk příjemce, afro-americký původ, přítomnost antifosfolipidových protilátek a transplantace od živého dárce [92, 96, 97]. V léčbě se uplatňují klasická schémata pro léčbu primární lupusové nefritidy, naopak intenzifikace imunosupresivní léčby je potřeba pouze ojediněle [71].

1.7.1.6. Rekurence hemolyticko-uremického syndromu a trombotické trombocytopenické purpury

Trombotická mikroangiopatie je častým histologickým nálezem u biopsií prováděných po transplantaci ledviny. Může vzniknout *de novo*, kdy je často primárním spouštěčem imunosupresivní terapie (zejm. kalcineurinové inhibitory) s výskytem u 4 – 15 % transplantovaných pacientů, nebo může jít o rekurenci primárního onemocnění s rizikem rekurence 4 – 60 % [98]. U hemolyticko-uremického syndromu riziko rekurence záleží na typu tohoto onemocnění. U typického hemolyticko-uremického syndromu asociovaného s infekcí enterohemoragické *Escherichia Coli* nedochází k rekurenci tohoto primárního onemocnění. Naopak u atypického hemolyticko-uremického syndromu je riziko rekurence udáváno kolem 60 %, ačkoliv ve výskytu je udávána široká variabilita, což je dáno velkou heterogenitou tohoto onemocnění [99]. Genetická analýza je nezbytná k určení míry rizika rekurence. Zatímco u pacientů s mutací faktoru H dochází k rekurenci až v 90 % případů, naopak u pacientů s mutací proteinu MCP je riziko rekurence téměř nulové [100]. U trombotické trombocytopenické purpury je udáváno velmi nízké riziko rekurence tohoto onemocnění po transplantaci ledviny [101].

1.7.1.7. Rekurence ANCA asociované vaskulitidy

Pro tento typ vaskulitidy je charakteristická pozitivita ANCA protilátek a histologicky nekróza glomerulů s tvorbou srpků [102]. Riziko rekurence ANCA asociované vaskulitidy po transplantaci ledviny je udáváno kolem 9 % [103]. Rekurence se klinicky projeví proteinurií, hematurií a snížením funkce štěpu a může k ní dojít jak časně po transplantaci v řádu několika týdnů tak později v průběhu několika let. Rekurence neovlivňuje přežití štěpů. Zatím nebyly identifikovány žádné rizikové faktory pro vznik rekurence [104]. Naopak byla zjištěna zvýšená mortalita pacientů, u kterých došlo k transplantaci ledviny do 1 roku po remisi ANCA asociované vaskulitidy [105]. V léčbě se uplatňují vysokodávkované kortikosteroidy, cyklofosfamid, plazmaferéza a rituximab [106].

1.7.1.8. Rekurence Goodpastureova syndromu

Rekurence Goodpastureova syndromu po transplantaci ledviny je velmi vzácná. Předpokladem však je negativita anti-GBM protilátek alespoň 12 měsíců před transplantací ledviny [107]. Doba nástupu rekurence je velmi variabilní. Léčba rekurence zahrnuje plazmaferézu, vysokodávkované kortikosteroidy a cyklofosfamid [108].

1.7.2. Rejekce

Leukocytární infiltrace je základním charakteristickým rysem celulární rejekce, zvláště v kombinaci s poškozením cévního endotelu a dalších buněk. Ačkoliv infiltrace leukocyty může být indukována složkami komplementu, uplatňují se zde také leukotrieny, PAF (platelet activating factor) a další chemotaktické cytokiny zvané též chemokiny. Studie na zvířecích modelech ukazují, že blokáda chemokinů vazbou na chemokinové receptory na mononukleárních lymfocytech může suprimovat rozvoj akutní i chronické rejekce. Interakce mezi chemokiny a chemokinovými receptory hrají základní roli v rozvoji rejekce [109]. Během rozvoje akutní rejekce byla prokázána přítomnost celé řady chemokinů a jejich receptorů. Mezi nejdůležitější patří CXCR3 receptor, což je chemokinový receptor pro interferonem indukovaný protein 10 (IP 10), dále monokin indukovaný interferonem γ (Mig) a interferonem indukovaný T-cell α chemoatraktant (I-TAC). U myši s chyběním genů kódujících tyto proteiny byl nástup akutní rejekce signifikantně pomalejší (60 dnů versus 7

dnů). Také terapie protilátkami anti-CXCR3 zabraňuje nástupu akutní rejekce na zvířecích modelech [110]. V případě chronické rejekce je navíc pozorován přímý efekt chemokinů na proliferaci a aktivaci buněk hladkých svalů a dalších nehemopoetických buněk [109]. V mechanismu se uplatňuje zvýšená produkce adhezivních molekul, jako např. intracelulární adhezivní molekula 1 (ICAM-1), adhezivní molekula vaskulárních buněk 1 (VCAM-1), interleukin 1 (IL-1), tumor necrosis factor α (TNF- α), interferon γ (INF- γ), monocytární chemoatraktivní protein 1 (MCP-1), insulin-like growth factor 1 (IGF-1), plateled-derived growth factor (PDGF) a transforming growth factor β 1 (TGF- β 1) [111].

1.7.3. Ischemicko-reperfúzní poškození

Dalším významným rizikovým faktorem v časném potransplantačním stadiu je ischemicko-reperfúzní poškození štěpu. V těchto případech bývá také signifikantně zvýšená četnost akutní a chronické rejekce jako následek zvýšené aktivity zánětlivých buněk ve štěpu. V patofyziologii se uplatňuje infiltrace štěpu neutrofilními leukocyty za účasti endoteliální produkce adhezivních proteinů, zejména P- a E-selektinu [112]. Z dalších mediátorů je to zejména interleukin 8 (IL-8) a monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1). Během pokračujícího ischemicko-reperfúzního poškození se uplatňují i makrofágy za účasti celé řady chemokinů, zejména monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1). Kromě těchto mechanismů vede také oxidační stres a aktivace nukleárního faktoru κ B (NF- κ B) k endoteliální produkci interferonem indukovaného proteinu 10 (IP 10), který se uplatňuje při vzniku rejekce [109].

1.7.4. mTOR inhibitory

Jedním z rizikových faktorů pro vznik proteinurie po transplantaci ledviny je uváděna léčba mTOR inhibitory. Tzv. mammalian target of rapamycin (mTOR) inhibitory (např. sirolimus a everolimus) jsou relativně nová účinná imunosupresiva, která jsou však spojena se signifikantně vyšším výskytem proteinurie oproti klasickým imunosupresivům jako jsou např. inhibitory calcineurinových receptorů (CNI) [113]. Z předpokládaných mechanismů odpovědných za vznik proteinurie se spekulovalo o hemodynamickém efektu při změně terapie z CNI na mTOR inhibitory, protože anti-proteinurický efekt CNI je alespoň z části

způsobený zvýšeným odporem v aferentní arteriole a následné redukcí filtračního tlaku v glomerulu [114]. V jiných studiích však bylo zvýšení proteinurie pozorováno i při konverzi jiných imunosupresiv na sirolimus [115]. V mechanismu proteinurie při terapii mTOR inhibitory se taky uplatňuje vaskulární endoteliální růstový faktor (VEGF), protože mTOR inhibice je spojena s redukcí VEGF sekrecí a blokádu signální cesty VEGF a takto porušená rovnováha hladin VEGF v podocytech vede k proteinurii [116]. Jako další mechanismus působení mTOR inhibitorů na vznik proteinurie byla popsána též inhibice zpětného vychytávání albuminu v buňkách proximálních tubulů ledvin [117].

1.7.5. Hypertenze a obezita

Hypertenze je častou komplikací po transplantaci ledviny jak u dospělých tak i u dětí. Příčina je multifaktoriální, zahrnující chronickou rejekci štěpu, obezitu, primární onemocnění ledvin před transplantací, endokrinní faktory, stenózu renální arterie transplantovaného štěpu a imunosupresivní léčbu (zejména kortikoidy a cyklosporin A) [118]. Kromě zvýšeného rizika kardiovaskulárních chorob je hypertenze považována za nezávislý rizikový faktor pro funkci štěpu [119]. Na zvířecích modelech s chronickou nefropatií bylo prokázána souvislost mezi systémovou hypertenzí a zvýšeným intraglomerulárním tlakem. Snížení systémového tlaku pak vedlo ke zpomalení progresu renálního postižení [120]. V patofyziologických mechanismech při vzniku proteinurie se opět uplatňují zánětlivé buňky, zejména makrofágy a T-lymfocyty spolu s angiotenzinem II. V dalším průběhu dochází k uvolňování cytokinů, např. interleukinů IL-6 a IL-17, které způsobují vaskulární dysfunkci v ledvinách a vedou k dalšímu prohlubování hypertenze [121].

Obezita je rizikovým faktorem pro vznik hypertenze i pro poškození ledvin. Dysfunkce adipocytů u obézních pacientů vede ke vzniku inzulínové rezistence a dysregulaci renin-angiotenzin-aldosteronového systému. Strukturální změny v ledvinách v souvislosti s aktivací angiotenzinu II jsou klíčové z hlediska rozvoje hypertenze u obézních pacientů. Také vzájemná souhra mezi genetickými a enviromentálními faktory může přispívat k patofyziologii hypertenze u obézních pacientů. Endoteliální dysfunkce a arteriální tuhost jsou časnou manifestací vaskulárního poškození a předcházejí vzniku prehypertenze a hypertenze. Metabolické změny v adipocytech vedou ke změněné sekreci bioaktivních molekul a hormonů, jako např. angiotenzinogenu, aldosteron-stimulujícího faktoru, dipeptil

peptidázy 4, leptinu, tumor necrosis factor α a interleukinu 6. Tyto faktory přispívají ke vzniku inzulinové rezistence a hypertenze [122].

1.7.6. Demografické faktory dárce a příjemce

Proteinurie je častěji pozorována u fyzicky malých dárců nebo dárců s menší funkcí ledvin (starší dárce nebo dárce ženského pohlaví) a u příjemců mužského pohlaví s velkým body mass indexem (BMI). Ukazuje se, že nepoměr mezi dárce a příjemcem je rizikovým faktorem pro vznik proteinurie. Jako potenciální mechanismus je v tomto případě zvažována kompenzatorní hyperfiltrace v glomerulech, která způsobuje proteinurii a postupně vede k selhávání funkce štěpu [123].

1.8. Patofyziologický mechanismus vlivu proteinurie na selhání funkce štěpu

Patologická proteinurie je častým příznakem onemocnění ledvin. Proteinurie samotná je však taky významným rizikovým faktorem pro rozvoj chronické renální insuficience i pro zvýšený výskyt kardiovaskulárních chorob [41]. Dokonce i pacientů s relativně normální glomerulární filtrací nám proteinurie pomáhá identifikovat vysoce rizikovou skupinu pacientů, u které v budoucnu dojde k renální insuficienci [124]. Při progresi chronické renální insuficience je další pokles renálních funkcí způsoben změnami v hemodynamice. Když je funkční renální parenchym redukován, dochází v rámci kompenzace stavu k hypertrofii zbývajících funkčních nefronů s průvodním zvýšením průtoku krve glomerulem. Tonus aferentní arterioly klesá více než tonus eferentní arterioly a tím se zvyšuje hydrostatický tlak v glomerulárních kapilárách (intraglomerulární hypertenze) a množství ultrafiltrátu. Tyto změny zvyšují filtrační kapacitu zbývajících funkčních nefronů a minimalizují funkční deficit způsobený ztrátou některých nefronů. Z dlouhodobého hlediska však tyto změny vedou k dalšímu úbytku funkčních nefronů, které vyústí v chronické selhání ledvin. I když je primárně postižen glomerulus, v dalším průběhu dochází také k poškození tubulů a intersticia [125].

Za normálních okolností jsou v glomerulu filtrovány jen nízkomolekulární proteiny. Při postižení glomerulů je tato bariéra poškozena a větší sérové proteiny, jako např. albumin, se dostávají do tubulárního prostoru. Tyto proteiny pak reagují s mezangiem nebo buňkami tubulů a způsobují další poškození glomerulů a intersticia. Hypotéza, že proteinurie samotná

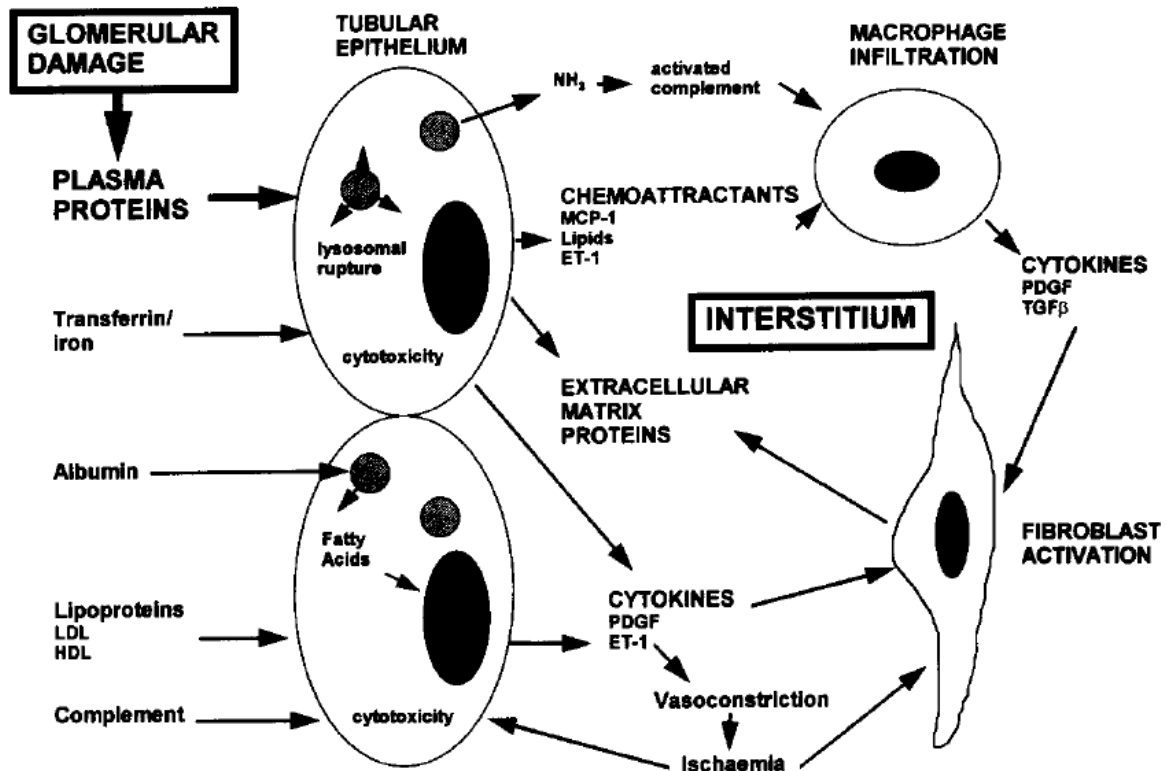
je nezávislým faktorem progresu renálního poškození, je posilována pozorováním, že stupeň proteinurie koreluje s rychlostí progresu renálního onemocnění [126]. Proteinurie vede k poškození ledvin dvěma způsoby. Prvním je poškození mezangia jako důsledek nadbytku vysokomolekulárních proteinů v mezangiu, druhým faktorem je pak indukce dysfunkce proximálních tubulů jako důsledek abnormálního množství a typu proteinů přítomných na lumenální straně buněk proximálních tubulů.

V případě akumulace sérových proteinů v mezangiu je pozorována proliferace mezangiálních buněk, zvýšená produkce mezangiální matrix a poté glomeruloskleróza. V mezangiu jsou často nacházeny lipoproteiny, jako např. apolipoprotein B (součást LDL a VLDL) a apolipoprotein A (součást lipoproteinu A) [127]. In vitro byly pozorovány interakce LDL s mezangiálními buňkami, které stimulují produkci onkogenů c-fos a c-jun a způsobují buněčnou proliferaci. LDL navíc podporuje produkci proteinu extracelulární matrix fibronektinu mezangiálními buňkami a rovněž indukuje produkci monocytárního chemoatraktivního proteinu 1 (MCP-1) a růstového faktoru destiček (PDGF). Navíc LDL podporuje řadu buněčných pochodů, které vedou k aktivaci makrofágů, které hrají klíčovou roli při poškození mezangia [128].

Druhým patofyziologickým mechanismem je efekt proteinů na buňky tubulů. Proteiny přítomné ve zvýšené míře v proximálním tubulu jsou reabsorbovány buňkami proximálních tubulů endocytózou. Je známo, že vysokomolekulární proteiny jsou metabolizovány v buňkách proximálního tubulu, který pak může být poškozen negativními účinky těchto proteinů. Poškození tubulů při proteinurii je způsobeno jednak množstvím proteinů v proximálním tubulu a jednak přítomností specifických biologicky aktivních proteinů, které se normálně v proximálním tubulu nenacházejí [129]. Buňky proximálních tubulů patří embryologicky mezi buňky mezenchymu, podobně jako fibroblasty a buňky imunitního systému. Není proto překvapující jejich role v zánětlivém procesu a jizvení, včetně produkce proteinů matrix, prozánětlivých cytokinů a chemotaktických substancí. Z těchto látek se uplatňuje především interleukin-6 (IL 6), granulocyt/makrofág kolonie stimulující faktor (GM-CSF), růstový faktor destiček B (PDGF-B), monocytární chemoatraktivní protein 1 (MCP-1) a v neposlední řadě také složky komplementu, zejména chemoatraktant C5a nebo lýzu buněk způsobující komplex C5b-9. Také transferin je považován za mediátor tubulárního poškození. Při průchodu ledvinovým tubulem se moč stává kyselou, což způsobuje uvolnění železa z transferinu. Volný železnatý iont působí cytotoxicky a může vyvolat poškození buněk tubulů. V neposlední řadě je třeba zmínit, že proteinurie svými účinky může způsobit

prohloubení původního patologického procesu, jako je například ischemické poškození ledvin. Bylo prokázáno, že po experimentálním ischemickém poškození ledvin další aplikace nízkomolekulárních proteinů způsobila rozvoj akutní tubulární nekrózy [130].

Obrázek 3: Mechanismus vzniku intersticiálního zánětu a jizvení při proteinurii.



Převzato z: Burton C, Harris KP (1996) The role of proteinuria in the progression of chronic renal failure. American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation 27:765-775 [130].

1.9. Vliv proteinurie na přežívání štěpů

V časném potransplantačním období je poměrně častým nálezem proteinurie, která většinou rychle ustupuje. Tato časná a přechodná (tranzientní) proteinurie může souviset se základním onemocněním ledvin vzhledem k ještě zachovalé produkci moče nativními ledvinami. Na druhou stranu perzistentní proteinurie, nastupující v rozmezí 3 měsíců až jednoho roku po transplantaci, byla v mnoha studiích potvrzena jako významný negativní prognostický faktor přežívání štěpů. Yildiz et al. prokázali snížené přežívání štěpů po 5 letech

po transplantaci u pacientů s perzistentní proteinurií (57 % oproti 87 % u pacientů s pouze dočasnou proteinurií) [8]. Sancho et al. uvádějí výrazně horší 5leté přežívání štěpů u pacientů s perzistentní proteinurií $> 0,5$ g/den oproti skupině pacientů s proteinurií $< 0,5$ g/den (69 % oproti 93 %) [5]. Amer et al. prokázali, že i velmi vysoká proteinurie časně po transplantaci se během prvních 3-4 týdnů snižuje a pokles pokračuje během celého prvního roku. Nicméně nízká úroveň proteinurie (obvykle $< 0,5$ g/den) může u těchto pacientů přetrvávat. Naopak proteinurie vyšší než 1,5 g/den nebo vzestup proteinurie o 0,5 g/den v prvním roce nemá souvislost s exkrecí moče z nativních ledvin a téměř vždy bývá asociována s *de novo* glomerulární patologií ve štěpu a je také asociována se zvýšeným rizikem ztráty štěpu. Riziko ztráty štěpu se zvyšuje o 27 % s každým zvýšením proteinurie o 1 g/den [7]. Fernández-Fresnedo et al. rozdělili pacienty podle stupně proteinurie 1 rok po transplantaci do tří skupin ($< 0,5$ g/den, 0,5 – 1 g/den, > 1 g/den). Bylo zjištěno statisticky významně snížené přežívání štěpů u pacientů s proteinurií $> 0,5$ g/den oproti pacientům s proteinurií $< 0,5$ g/den. Statisticky významně snížené přežívání bylo také ve skupině > 1 g/den proti skupině s proteinurií 0,5 – 1 g/den [4]. Studie, ve které se Halimi et al. zabývali vlivem albuminurie na přežívání štěpu, prokázala, že patologická albuminurie je silným rizikovým faktorem ztráty štěpu oproti populaci bez albuminurie. Albuminurie zůstala silným rizikovým faktorem dokonce i u pacientů bez prokazatelné celkové patologické proteinurie [6]. Park et al. ve studii prokázali, že u pacientů s proteinurií vyšší než 1 g/den pokleslo 5leté přežívání štěpů oproti skupině pacientů s proteinurií < 1 g/den (69,4 % oproti 86,5 %) [45].

U dětských pacientů nebyla zatím žádná studie o vlivu proteinurie na přežívání štěpů publikována.

1.10. Vliv proteinurie na přežívání pacientů

U pacientů s chronickým onemocněním ledvin je kardiovaskulární onemocnění častou komplikací zvyšující celkovou morbiditu i mortalitu pacientů [41]. Albuminurie je nejen prediktorem poškození ledvin, ale též markerem kardiovaskulárního rizika, a to jak u diabetických pacientů, tak i u pacientů bez diabetu. Redukce albuminurie pak vede i k redukcí renálního i kardiovaskulárního rizika [131].

Stejně jako v obecné populaci je i po transplantaci ledviny proteinurie asociována se sníženým přežíváním pacientů. Relativní riziko úmrtí u pacientů s proteinurií po transplantaci ledviny je přibližně dvojnásobné oproti pacientům bez proteinurie. Fontan et al. popisují

zvýšené riziko úmrtí jen u pacientů s proteinurií vyšší než 2 g/den. Roodnat et al. uvádějí zvýšené riziko o 16 % s každým zvýšením proteinurie o 1 g/den [132]. Fernández-Fresnedo et al. popisují signifikantně vyšší přežívání pacientů ve skupině pacientů s proteinurií < 0,5 g/den oproti skupině pacientů s proteinurií 0,5 – 1 g/den a > 1 g/den, nebyl však prokázán statisticky významný rozdíl v přežívání pacientů mezi skupinami 0,5 – 1 g/den a > 1 g/den [4]. Halimi et al. ve své studii uvádějí, že albuminurie byla prediktivní z hlediska smrti pacienta oproti skupině pacientů bez albuminurie. Albuminurie zůstala asociována se zvýšeným výskytem úmrtí pacienta, i když byla analýza provedena odděleně u pacientů s normální a se sníženou funkcí ledvin nebo též u pacientů s celkovou proteinurií a bez ní. Albuminurie byla také prediktorem kardiovaskulárních úmrtí [6].

1.11. Histologické změny ve vztahu k proteinurii

Několik studií se zabývalo histologickými nálezy u transplantovaných pacientů s proteinurií. Frekvence histologických nálezů se různí mezi studii a závisí na hodnotě proteinurie, při které byly biopsie prováděny. Yakupoglu et al. prováděli biopsie u pacientů s proteinurií vyšší než 3 g/den. U 66 % vzorků bylo nalezeno glomerulární poškození zahrnující rekurenci glomerulonefritidy, *de novo* glomerulonefritidy a nedefinované glomerulonefritidy. Naopak Vathsala et al. našli pouze 12 % pacientů s glomerulární lézí, když prahová hodnota proteinurie k provedení biopsie byla snížena na 1 g/den. Některé studie, ale zdaleka ne všechny, ukazují korelaci mezi histologickým nálezem a stupněm proteinurie. Amer et al. uvádějí, že průměrná proteinurie byla signifikantně vyšší u pacientů s glomerulárním postižením oproti těm s akutní rejekcí, intersticiální fibrózou a atrofií nebo jinými histologickými diagnózami. U pacientů s proteinurií vyšší než 1,5 g/den mělo glomerulární patologii 80 % vyšetřovaných pacientů. Nicméně stupeň proteinurie nemůže být určující pro to, zda se jedná o glomerulární patologii nebo jiný typ poškození štěpu. Ačkoliv glomerulární postižení (nejčastěji glomerulonefritida) je poměrně častým nálezem po transplantaci ledviny, nálezy specifické pro transplantaci jsou častější. Prevalence nefropatie štěpu (nespecifická intersticiální fibróza a tubulární atrofie) kolísá mezi 8 % a 54 %. Transplantační glomerulopatie (specifická jednotka definovaná jako glomerulární a peritubulární duplikace bazální membrány, často asociovaná s donor-specifickými protilátkami) se vyskytuje od 0 % do 39 % [132]. V další studii Amer et al. byla provedena protokolární biopsie štěpu u pacientů jeden rok po transplantaci ledviny spolu s údajem o proteinurii. Ve výsledcích mělo 30 %

pacientů normální nález při biopsii, akutní subklinickou rejeckci 6 % pacientů, nefropatii štěpu (fibróz/atrofie) 44 % pacientů, glomerulární patologii 9 % pacientů a jiné nálezy (BKV nefropatie, arteriolární hyalinóza, arterioskleróza, rekurence sickle-cell nefropatie, intersticiální nefritida, akutní tubulární nekróza) 10 %. U pacientů s proteinurií vyšší než 1500 mg/den byl výskyt glomerulárního poškození až 80 %, ale naopak jen velmi zřídka (jen u cca 1 %) byla nalezena nefropatie štěpu (fibróza/atrofie) [7]. Ve studii Peddi et al. byla provedena biopsie u všech pacientů s proteinurií větší než 2 g/den nebo při vzestupu kreatininu o 20 %. Chronická rejeckce a transplantační glomerulopatie byla nalezena u 41 % pacientů, rekurentní nebo *de novo* glomerulonefritida u 30 % pacientů, chronická cyklosporinová toxicita u 16 % pacientů [133].

1.12. Léčba proteinurie

V léčbě proteinurie by měly být vždy zvažovány základní tři způsoby léčby proteinurie: 1) léčba příčiny proteinurie; 2) nespecifická léčba snížením krevního tlaku a 3) specifická léčba proteinurie [123].

1.12.1. Léčba příčiny proteinurie

Vzhledem k zaměření práce zde bude popsána léčba rekurence primární fokálně-segmentální glomerulosklerózy jako základního onemocnění způsobujícího proteinurii.

V léčbě rekurence primární fokálně-segmentální glomerulosklerózy se uplatňuje řada postupů, přičemž léčba není zcela standardizovaná. Publikovaná sdělení jsou většinou založena na nekontrolovaných prospektivních studiích s malým počtem pacientů a limitovanou dobou sledování [134-142]. Ve srovnání s řadou studií, které se zabývají patofyziologickou podstatou fokálně-segmentální glomerulosklerózy, je léčba této choroby vzhledem k nedostatku velkých studií zatím z velké části experimentální [57].

1.12.1.1. Plazmaferéza a imunoadsorpce

Již na zvířecích modelech byla prokázána potenciální existence cirkulujících permeabilních faktorů v patogenezi fokálně-segmentální glomerulosklerózy. Není proto překvapující, že již v roce 1985 byla publikována první práce o úspěšné léčbě této choroby pomocí plazmaferézy [143]. Od tohoto prvního sdělení byla publikována řada sérií pacientů léčených plazmaferézou. Systematickému analýzou těchto sdělení byla prokázána úspěšnost léčby rekurence fokálně-segmentální glomerulosklerózy pomocí plazmaferézy u 70 % dětských pacientů a 63 % dospělých pacientů [55]. Většina těchto studií však byla retrospektivních, nekontrolovaných a s krátkou dobou sledování. Navíc je interpretace retrospektivních výsledků komplikována publikačním bias, kdy jsou publikovány jen úspěšné výsledky léčby a ve většině případů byla navíc léčba kombinována s ostatními léčebnými metodami [57]. Pradhan et al. ve své studii prokázali, že časné zahájení léčby plazmaferézou již 1 den po nástupu proteinurie při rekurenci fokálně-segmentální glomerulosklerózy vedlo k rychlé remisi a zachování dobré funkce štěpu [144]. Imunoadsorpce s proteinem A je též efektivní v léčbě rekurence primární fokálně-segmentální glomerulosklerózy jako alternativa plazmaferézy [145, 146], i když data jsou stále jen omezená. I přes nedostatek kontrolovaných studií je léčba rekurence FSGS pomocí plazmaferézy a imunoadsorpcí zůstává nejčastějším terapeutickým přístupem při léčbě rekurence FSGS.

1.12.1.2. Calcineurinové inhibitory

Několik studií podporuje hypotézu, že calcineurinové inhibitory jsou účinné v prevenci i léčbě rekurence FSGS pomocí svého inhibičního vlivu na T lymfocyty [57]. Je však třeba zmínit i antiproteinurický efekt cyklosporinu, který je způsoben inhibicí defosforylace synaptopodinu, což je protein důležitý pro stabilizaci aktinového cytoskeletu v podocytech [147]. Ačkoliv použití standardního dávkování používaného po transplantaci ledviny nevede k redukci proteinurie při rekurenci FSGS, naopak vysokodávkované režimy calcineurinových inhibitorů byly spojeny s úspěšnou léčbou FSGS [134, 139, 140, 148]. U dospělých pacientů byla tato léčba úspěšně kombinována i dalším imunosupresivem tacrolimem, plazmaferézami a glukokortikoidy [149].

1.12.1.3. Glukokortikoidy

Je známo, že receptor pro glukokortikoidy se nachází na podocytech. Účinek glukokortikoidů na podocyty spočívá jednak v jejich antiapoptotické aktivitě [150], ale též v jejich vlivu na stabilizaci aktinového cytoskeletu [147]. Není proto překvapující, že tento efekt je často terapeuticky využíván, zejména v kombinaci s calcineurinovým inhibitorem cyklosporinem A a plazmaferézou/imunoadsorpcí.

1.12.1.4. Rituximab

Rituximab je chimerická monoklonální protilátka proti CD20 antigenu na povrchu B-lymfocytů, který byl v roce 1997 schválen pro léčbu refrakterního non-Hodgkinova lymfomu. V roce 2006 byla poprvé popsána úspěšná léčba rekurence FSGS po transplantaci ledviny pomocí 6 dávek rituximabu, který byl podáván z důvodu potransplantačního lymfoproliferativního onemocnění [151]. Jako mechanismus účinku je uváděn pokles cirkulujících faktorů v souvislosti s působením rituximabu na B-lymfocyty. Navíc byla prokázána přímá vazba rituximabu na jiné molekuly než CD20, jako například SMPDL-3b, což je protein ovlivňující remodelaci aktinu a je exprimován v lidských podocytech [152]. Přehled publikovaných případů rekurence FSGS léčených rituximabem udává kompletní nebo alespoň parciální remisi u 64 % pacientů. Lepších výsledků bylo dosaženo u pacientů s normální hladinou albuminu, nižším věkem při transplantaci a menším počtem dávek rituximabu [153]. Kombinovaná léčba plazmaferézou společně s podáváním rituximabu může zlepšit účinnost léčby [154].

1.12.1.5. Inhibitory systému renin-angiotenzin-aldosteron

Ačkoliv je experimentálně i klinicky prokázána aktivace renin-angiotenzin-aldosteronového systému v progresi fokálně-segmentální glomerulosklerózy, pouze malé množství studií se zabývá tímto typem léčby. Freiburger et al. ve své studii popisují úspěšné dosažení remise rekurence fokálně-segmentální glomerulosklerózy pomocí intenzifikovaného režimu inhibice renin-angiotenzin-aldosteronového systému, který zahrnoval ACE inhibitor, antagonistu receptoru pro angiotenzin II a inhibitor reninu, přičemž předchozí léčba plazmaferézou vedla pouze k dočasné remisi [155].

1.12.1.6. Anti-CTLA4 protilátky

Kostimulační molekula B7.1 je normálně exprimována na povrchu antigen-prezentujících buněk a B-lymfocytů. Tato kostimulační molekula však byla také nalezena na povrchu podocytů, a její upregulace souvisí s proteinurií. Význam této molekuly na povrchu podocytů však není zatím jednoznačně objasněn. Zatím nebyla publikována studie, která by jasně prokazovala úspěšnost léčby rekurence FSGS blokadou této kostimulační molekuly.

1.12.1.7. Anti-TNF α protilátky

Při nefrotickém syndromu byla nalezena ve zvýšené míře mRNA tumor necrosis faktoru α (TNF α) v makrofázích [156]. Navíc byly detekovány vysoké hladiny mRNA TNF α v mononukleárních buňkách u pacientů s FSGS [157]. Terapie anti-TNF α protilátkami byla již klinicky testována u dětí s rekurencí FSGS rezistentní ke standardní terapii, přičemž bylo sice dosaženo jen přechodné kompletní remise, ale každý relaps byl též úspěšně léčen anti-TNF α protilátkami [158].

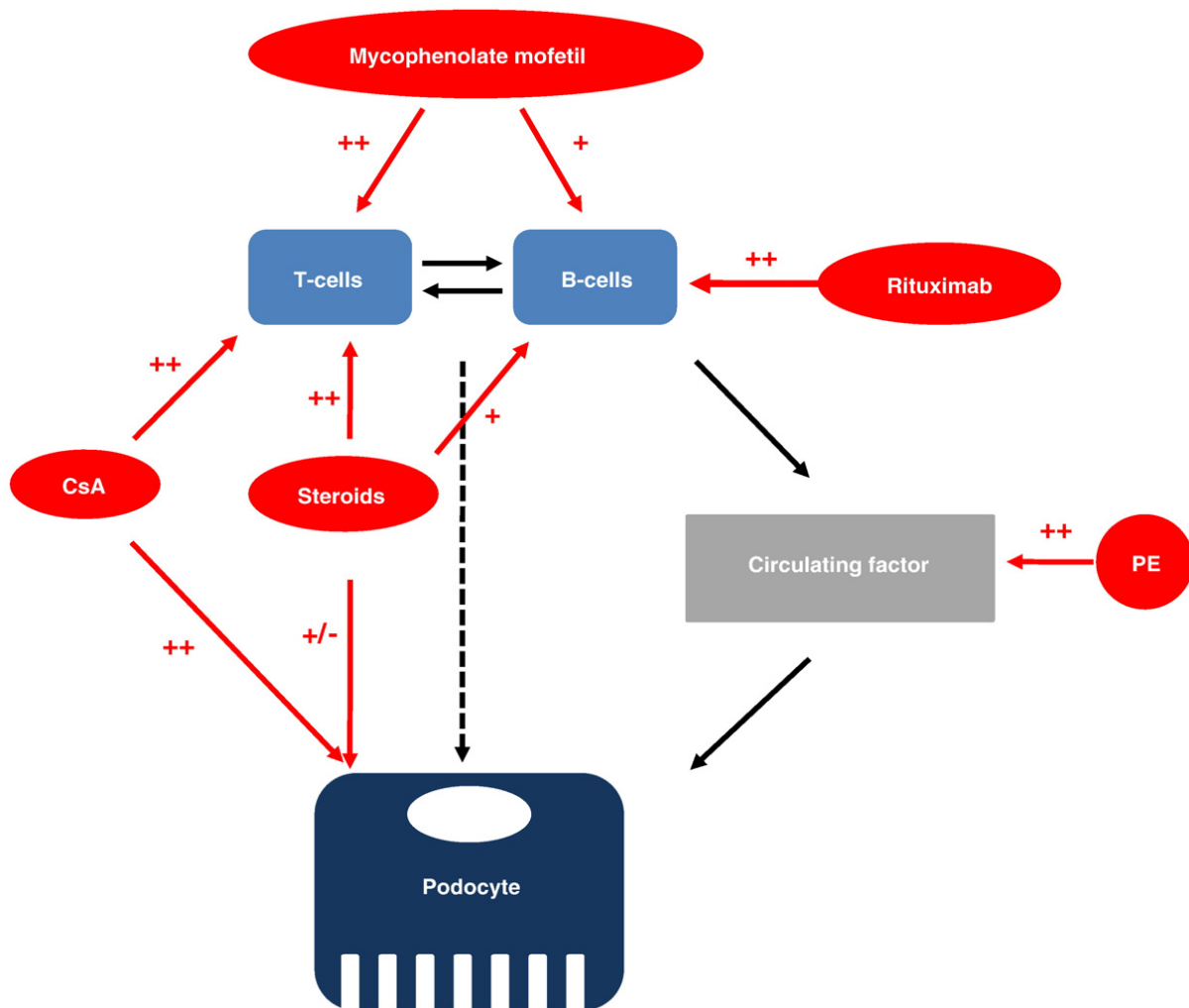
1.12.1.8. Kyselina retinová

U rekurence FSGS s kolapsem glomerulů dochází k proliferaci podocytů. Kyselina retinová vede k redukci proliferace podocytů a redukci proteinurie a byla úspěšně použita při léčbě rekurence tohoto typu FSGS [159].

1.12.1.9. Galaktóza

Ve studii Savin et al. byla prokázána vysoká afinita blíže neurčeného cirkulujícího faktoru ke galaktóze [160]. Ve dvou studiích byla skutečně prokázána signifikantní redukce proteinurie při rekurenci FSGS po podávání galaktózy společně s dalšími typy léčby [160, 161]. Výhodou léčby galaktózou je její excelentní bezpečnost.

Obrázek 4: Schéma teoretických možností v léčbě rekurence fokálně-segmentální glomerulosklerózy.



Převzato z: Canaud G, Martinez F, Noel LH, Mamzer MF, Niaudet P, Legendre C (2010) Therapeutic approach to focal and segmental glomerulosclerosis recurrence in kidney transplant recipients. *Transplant Rev (Orlando)* 24:121-128 [162].

1.12.2. Léčba proteinurie snížením krevního tlaku

Při zvýšeném arteriálním krevním tlaku je za normálních okolností v ledvině aktivován autoregulační mechanismus, který spočívá ve vazokonstrikci preglomerulárních cév, čímž dochází ke snížení krevního tlaku ze systémového oběhu do glomerulárních kapilár a glomerulární hydrostatický tlak zůstává relativně stabilní i při zvýšeném systémovém arteriálním krevním tlaku [163]. Tento autoregulační mechanismus poskytuje primární ochranu ledvin proti poškozením vysokým arteriálním krevním tlakem [164, 165]. Selhání

tohoto autoregulačního mechanismu potom vede ke zvýšenému hydrostatickému glomerulárnímu tlaku (intraglomerulární hypertenzi), hyperfiltraci, proteinurii a poškození glomerulů [166]. Pokud je překročen horní limit pro autoregulační mechanismus, dochází k poškození glomerulů dokonce i v případě, že autoregulační mechanismus není poškozen [163]. Naopak pokud je autoregulační mechanismus poškozen již před vzestupem arteriálního krevního tlaku, jako například u diabetiků nebo u pacientů s chronickým renálním onemocněním, dochází k poškození glomerulů již při nižších hodnotách arteriálního krevního tlaku [163].

Patogeneze hypertenzního poškození glomerulů je multifaktoriální, kdy se uplatňují jak extracelulární patologické mechanismy, tak intracelulární mechanismy. Klíčová je role sympatického nervového systému, který je aktivován u pacientů s renálním onemocněním, dokonce v časných stádiích s normální nebo jen lehce sníženou renální funkcí [167]. Paralelně s aktivací sympatického systému dochází k aktivaci renin-angiotenzin-aldosteronového systému [168]. Prostřednictvím mediátorů dochází prostřednictvím aktivace sympatického nervového systému, renin-angiotenzin-aldosteronového systému a endoteliálního systému (zahrnujícího endotelin 1) k progresi renálního poškození glomerulu [169-171].

Proteinurie, která je tvořena převážně albuminem, je průvodním příznakem hypertenzního poškození, ale také se sama podílí na poškození glomerulů [172]. K poklesu proteinurie dochází při zahájení antihypertenzní terapie a tato léčba též zpomaluje progresi renálního poškození ledvin [173].

Zmíněné patofyziologické mechanismy renálního poškození s přítomností proteinurie vedou k racionálnímu předpokladu terapeutické intervence s cílem snížit arteriální tlak a tím k redukci proteinurie. Proto jsou antihypertenziva doporučována jak k redukci arteriálního krevního tlaku, tak k redukci proteinurie u hypertoniců [172-174].

Z léků k redukci hypertenze jsou používány zejména ACE inhibitory a blokátory receptoru pro angiotenzin, které mají též přímý antiproteinurický efekt (viz níže). Z dalších léků jsou to beta-ablokátoary, centrální sympatolytika, blokátory kalciového kanálu, léky s přímým vazodilatačním účinkem a diuretika. Pro dosažení optimálního účinku je často nutná kombinovaná antihypertenzní terapie. Většina pacientů s nekomplikovanou hypertenzí vyžaduje ke snížení krevního tlaku na optimální hodnoty často dvojkombinaci antihypertenziv, u pacientů s diabetem nebo chronickým renálním onemocněním je potřeba k dosažení cílové hodnoty krevního tlaku často kombinace tří a více antihypertenziv [172-175].

1.12.3. Léky s přímým antiproteinurickým účinkem

Mezi léky se specifickým účinkem na proteinurii řadíme ACE inhibitory spolu s blokátory angiotenzinového receptoru (ARB).

Antiproteinurický účinek ACE inhibitorů a blokátorů angiotenzinových receptorů byl prokázán v řadě studií. Například Barama et al. publikovali malou prospektivní studii o lisinoprilu u pacientů po transplantaci ledviny s proteinurií, kdy došlo po tříměsíčním podávání k signifikantnímu poklesu proteinurie z 2,98 g/den na 2,06 g/den. Po ukončení podávání lisinoprilu se vrátila hodnota proteinurie na původní úroveň [176]. Lufft et al. zkoumali faktory ovlivňující interindividuální variabilitu u pacientů s proteinurií po transplantaci ledviny léčených ACE inhibitorem fosinoprilem. Tato studie prokázala negativní korelaci mezi preexistující histologickou patologií štěpu a odpovědí na terapii ACE inhibitorem. Stupeň chronického morfologického poškození v době zahájení terapie ACE inhibitorem tedy ovlivňuje odpověď na tuto léčbu. Při zkoumání vlivu ARB u pacientů s těžkou proteinurií (≥ 6 g/den) bylo po jeho dvouměsíčním podávání prokázáno signifikantní snížení proteinurie (tj. $> 50\%$ redukce) u 10 z 16 pacientů [177]. Ve studii Heinze et al. zahrnující 2031 pacientů po transplantaci ledviny byl prokázán vliv ACE inhibitoru nebo ARB na přežívání štěpů. 10leté přežívání štěpu bylo 74 % ve skupině pacientů léčených ACE inhibitorem nebo ARB oproti 51 % ve skupině bez této léčby, respektive 41 % u pacientů, kteří nebyli léčeni ani jinými antihypertenzivy. Tato studie prokázala 45 % redukci rizika selhání štěpu a 43 % redukci rizika úmrtí pacienta [176]. V další randomizované studii Halimi et al. hodnotili vliv různých antihypertenzních léčiv, tj. amlodipinu samotného, enalaprilu samotného a kombinace amlodipin + enalapril na hodnotu albuminurie. Po 6 měsících byl pokles albuminurie ve skupině amlodipin + enalapril podobný jako ve skupině samotného enalaprilu (-65 % vs. -60 %), ale signifikantně vyšší než pokles albuminurie ve skupině samotného amlodipinu (-65 % vs. -29 %). Zároveň byla také vyšetřována hodnota kreatininu a kreatininové clearance. Hodnota sérového kreatininu a kreatininové clearance zůstala nezměněna po 6 měsících terapie ve skupině amlodipin + enalapril. Naopak ve skupině léčené samotným enalaprilem došlo k vzestupu sérového kreatininu o 9 ± 12 $\mu\text{mol/l}$, ale hodnota clearance zůstala nezměněna, zatímco ve skupině léčené pouze amlodipinem bylo pozorováno signifikantní zvýšení kreatininové clearance o 15 ± 31 ml/min spolu se signifikantním poklesem sérového kreatininu o 5 ± 13 $\mu\text{mol/l}$ [6].

U dětí byla publikována jedna prospektivní 6měsíční studie s ramiprilem, kde u 92 % dětí došlo k poklesu perzistující proteinurie po transplantaci ledviny. Medián poklesu

proteinurie byl 23 %, což bylo méně než uváděné studie účinku ramiprilu na proteinurii u dětí s proteinurickými nefropatiemi nativních ledvin [178]. Tato diskrepance může být vysvětlena nižší cílovou dávkou ramiprilu v této studii (pouze 1,8 mg/m²/den) oproti předchozím studiím. Antiproteinurický efekt byl pozorován dokonce bez ovlivnění hodnoty krevního tlaku. Z toho vyplývá, že mechanismus antiproteinurického a renoprotektivního účinku je komplexní a skládá se nejen z prosté redukce krevního tlaku, ale i nehemodynamického efektu na úrovni glomerulární filtrační bariéry [179].

V mechanismu účinku ACE inhibitoru se uplatňuje jak snížení systémového krevního tlaku, tak i snížení intraglomerulárního tlaku. Vlivem ACE inhibitoru však může dojít k poklesu glomerulární filtrace při současné stenóze renální arterie nebo k exacerbaci renální tubulární acidózy 4. typu [180].

Blokátory angiotenzinového receptoru představují relativně novou skupinu léků, které mají obdobné účinky jako ACE inhibitory, ovšem bez nežádoucích účinků způsobených inhibicí degradace bradykininu [180]. Navíc nejnovější data dokazují snížení fibrózy indukované transforming growth faktorem β 1 (TGF- β 1) při léčbě ARB [181]. Některými autory byl zpochybňován příznivý hemodynamický účinek ARB vzhledem k tomu, že tento účinek byl přisuzován bradykininu s následným uvolňováním oxidu dusnatého. Nyní se však ukazuje, že bradykinin hraje jen minoritní roli ve snížení intraglomerulárního tlaku [182]. Některé práce dále popisují sníženou koncentraci hemoglobinu jako nežádoucí účinek u pacientů léčených ABR [183].

2. Cíle dizertační práce a pracovní hypotéza

2.1. Studie 1: Proteinurie 1 rok po transplantaci ledviny je asociována s přežíváním transplantovaných štěpů u dětí

2.1.1. Cíle práce

1. Zhodnocení vztahu proteinurie 1 rok po transplantaci ledviny a přežívání štěpů i pacientů v průběhu dalšího sledování po transplantaci ledviny.
2. Analýza charakteristik dárce a příjemce, identifikace rizikových faktorů pro vznik proteinurie.
3. Analýza rizikových faktorů pro přežívání štěpů.
4. Analýza histologických nálezů biopsií provedených během sledování pacientů po transplantaci ledviny.
5. Analýza histologických nálezů biopsií u pacientů, u kterých došlo k selhání štěpu.

2.1.2. Pracovní hypotéza

Patologická proteinurie 1 rok po transplantaci ledviny u dětí je asociována se zhoršeným přežíváním štěpů i pacientů.

2.2. Studie 2: Včasná léčba rekurence fokálně-segmentální glomerulosklerózy po transplantaci ledviny je asociována s lepšími výsledky léčby a lepší prognózou přežívání štěpů

2.2.1. Cíle práce

1. Analýza dat dětských pacientů transplantovaných v období mezi roky 2001 až 2010, u kterých došlo k rekurenci idiopatické fokálně-segmentální glomerulosklerózy.
2. Analýza úspěšnosti léčby rekurence idiopatické fokálně-segmentální glomerulosklerózy ve vztahu k časovému intervalu mezi diagnózou rekurence fokálně-

segmentální glomerulosklerózy charakterizovanou vzestupem proteinurie a zahájením léčby plazmaferézou/imunoadsorpcí.

3. Analýza přežití štěpů ve vztahu k nástupu remise při léčbě fokálně-segmentální glomerulosklerózy plazmaferézou/imunoadsorpcí.

2.2.2. Pracovní hypotéza

Včasné zahájení léčby rekurence idiopatické fokálně-segmentální glomerulosklerózy má vliv na úspěšnost léčby a snižuje riziko selhání štěpu.

3. Studie 1: Proteinurie 1 rok po transplantaci ledviny je asociována s přežíváním transplantovaných štěpů u dětí.

3.1. Úvod

Proteinurie je častou komplikací chronického onemocnění ledvin, přičemž míra proteinurie má vliv na progresi renálního onemocnění [2]. U dospělých pacientů byla popsána závislost mezi mírou proteinurie a sníženým přežíváním transplantovaných štěpů i pacientů [4-8]. Naopak u dětí tato souvislost mezi proteinurií a přežíváním transplantovaných štěpů a pacientů studována zatím nebyla.

3.2. Materiál a metody

3.2.1. Charakteristika souboru

Do této studie bylo zahrnuto všech 91 dětských pacientů transplantovaných ve Fakultní nemocnici v Motole od ledna 1997 do prosince 2007. Vstupní kritéria byla:

1. funkční štěp 1 rok po transplantaci ledviny
2. dostupnost dat v dokumentaci (charakteristiky dárce a příjemce, proteinurie, krevním tlak, typ imunosuprese, funkce štěpu, antihypertenzní léčba, přítomnost rejekce, selhání štěpu, úmrtí pacienta, výsledek renální biopsie u bioptovaných pacientů)
3. nepřítomnost rekurence fokálně-segmentální glomerulosklerózy ve štěpu.

16 pacientů bylo ze studie vyloučeno (4 pro selhání štěpu během prvního roku po transplantaci, 10 pacientů pro nedostupnost kompletních dat a 2 pacienti pro rekurenci fokálně-segmentální glomerulosklerózy ve štěpu). Finální soubor obsahoval 75 pacientů (40 chlapců), u 74 pacientů byl transplantován štěp od zesnulého dárce, 70 pacientů podstoupilo první transplantaci ledviny, 5 pacientů retransplantaci ledviny.

Podle primárního onemocnění ledvin vedoucího k selhání renální funkce byli pacienti rozděleni do 4 skupin:

1. kongenitální onemocnění ledvin a močového traktu (congenital anomaly of the kidney and urinary tract, CAKUT) a vrozené a dědičné nemoci ledvin (n=57),

2. glomerulonefritidy (chronická fokálně-endoproliferativní glomerulonefritida, difúzní mezangioproliferativní glomerulonefritida, IgA nefropatie, Henoch-Schönleinova purpura, Wegenerova granulomatóza) (n=6),
3. idiopatická fokálně-segmentální glomeruloskleróza (n=2),
4. ostatní onemocnění (hemolyticko-uremický syndrom, chronická tubulointerstiální nefritida, antifosfolipidový syndrom) (n=10).

Před transplantací ledviny bylo 36 pacientů na hemodialýze, 32 pacientů na peritoneální dialýze, 5 pacientů bylo léčeno oběma typy dialýzy a 2 pacienti nebyli dialyzováni vůbec (preemptivní transplantace). Průměrný čas na dialýze byl 356 ± 273 dnů (od 0 do 1621 dnů). Průměrný věk příjemce v době transplantace byl $12,1 \pm 4,2$ roků (od 2,1 do 18 roků), průměrný věk dárce byl $30,6 \pm 13$ roků (od 7 do 57 roků). Průměrná délka sledování po transplantaci ledviny byla $5,5 \pm 2,8$ roků (od 1,6 do 12,9 roků).

3.2.2. Laboratorní metody

Proteinurie byla vyšetřována v jednorázovém vzorku moči a byla vyjádřena jako poměr celkové bílkoviny ke kreatininu v moči. Ke stanovení množství bílkoviny v moči byla použita turbidimetrická metoda. Ke stanovení kreatininu v moči byla použita Jaffé metoda nebo enzymatická kolorimetrická metoda se sarkozinem.

Příležitostný krevní tlak byl měřen při ambulantních kontrolách rtuťovým sfygmomanometrem podle doporučených postupů pro měření krevního tlaku u dětí [184]. Hypertenze byla definována jako hodnota příležitostně změřeného systolického nebo diastolického krevního tlaku ≥ 95 . percentilem pro zdravé děti dle věku a výšky bez ohledu na antihypertenzní terapii.

Sérový kreatinin byl měřen Jaffé metodou nebo enzymatickou kalorimetrickou metodou se sarkozinem. Funkce štěpu vyjádřená jako odhadnutá hodnota glomerulární filtrace byla kalkulována dle Schwartzovy rovnice pro kreatinin měřený Jaffého metodou [185] nebo dle nové Schwartzovy rovnice pro kreatinin měřený enzymatickou metodou [186].

3.2.3. Imunosuprese

Pacienti po transplantaci ledviny byli léčeni kombinací imunosupresiv obsahující kortikosteroidy, cyklosporin A nebo tacrolimus a azathioprin nebo mykofenolát mofetil. Akutní rejekce potvrzená vždy renální biopsií (53 biopsií u 51 pacientů) byla léčena vysokodávkovanými pulzy methylprednisolonu, pacienti s kortikorezistentní akutní rejekcí byli léčeni antithymocytárním globulinem (ATG) (n=13). U 33 pacientů byla podána indukční terapie s antithymocytárním globulinem, basiliximabem nebo daclizumabem. Na konci sledování bylo 67 pacientů léčeno kortikosteroidy, 13 pacientů cyklosporinem A, 50 pacientů tacrolimem, 13 pacientů azathioprinem, 56 pacientů mykofenolát mofetilem a 13 pacientů sirolimem.

3.2.4. Renální biopsie

Renální biopsie byla prováděna pouze u pacientů s poklesem renální funkce a to k diagnostickým účelům. Všechny provedené biopsie byly hodnoceny dvěma nezávislými patology. K hodnocení byla použita světelná mikroskopie, elektronová mikroskopie a imunoflorescenční metody. Hodnoceny byly též biopsie všech selhaných štěpů během sledování po transplantaci ledviny. Všechny biopsie byly aktuálně překlasifikovány podle klasifikace Banff 2007 [187]. Do analýzy byla od každého pacienta vždy zahrnuta pouze nejrecentnější biopsie, v jednom histologickém preparátu mohlo být identifikováno více kategorií dle Banff 2007 klasifikace, přičemž byly vždy porovnávány četnosti příslušné histologické kategorie mezi skupinou bez patologické proteinurie a skupinou s patologickou proteinurií. Ke statistické analýze byl použit Fisherův test.

3.2.4.1. Klasifikace Banff 2007:

1. Normální nález
2. Změny zprostředkované protilátkami (mohou být přítomny současně s 3, 4, 5 a 6). Dle přítomnosti cirkulujících donor-specifických protilátek (DSA), C4d depozit a histologie štěpu:
 - 2a) C4d depozita bez morfologického průkazu aktivní rejekce. C4d pozitivní, přítomnost cirkulujících donor-specifických protilátek (DSA), bez známek akutní nebo chronické rejekce.

- 2b) Akutní rejekce zprostředkovaná protilátkami. C4d pozitivní, přítomnost cirkulujících donor-specifických protilátek (DSA), morfologický průkaz akutního poškození tkáně.
- I. ATN-like minimální zánět
 - II. Zánětlivé elementy v kapilárách a/nebo trombózy
 - III. Transmurální arteritida
- 2c) Chronická aktivní rejekce zprostředkovaná protilátkami. C4d depozita, přítomnost cirkulujících donor-specifických protilátek (DSA), morfologický průkaz chronického poškození tkáně, jako dvojité kontury GBM a/nebo vrstvení bazálních membrán peritubulárních kapilár a/nebo intersticiální fibróza/tubulární atrofie a/nebo fibrózní ztlustění intimy arterií.
3. Hraniční změny (angl. borderline changes). Pouze podezření na akutní rejekci zprostředkovanou lymfocyty T (může být přítomno současně s 2, 5 a 6). Tato kategorie se užívá, když není přítomna intimální arteritida, ale jsou ložiska tubulitidy s minimální celulizací v intersticiu. Nebo obráceně, když je intersticiální zánět s mírnou tubulitidou.
4. Rejekce zprostředkovaná T lymfocyty (může být přítomna současně s 2, 5 a 6)
- 4a) Akutní rejekce zprostředkovaná T lymfocyty
- IA. Případy se zánětem v intersticiu > 25 % a středně těžké tubulitidy
 - IB. Případy se zánětem v intersticiu > 25 % a těžké tubulitidy
 - IIA. Případy s mírnou až střední arteritidou
 - IIB. Případy s těžkou arteritidou a stenózou > 25 % lumina
 - III. Případy s transmurální arteritidou
- 4b) Chronická rejekce zprostředkovaná T lymfocyty
- Chronická allograftová arteriopatie (arteriální intimální fibróza s mononukleární celulizací ve fibróze a s formací neointimy).
5. Intersticiální fibróza a tubulární atrofie bez průkazu jiné specifické etiologie. Může zahrnovat nespecifické vaskulární změny a glomerulární sklerózu, ale stupeň změn je určován dle postižení intersticia.
- I. Mírná intersticiální fibróza a tubulární atrofie (< 25 % kůry)
 - II. Střední intersticiální fibróza a tubulární atrofie (26-50 % kůry)
 - III. Těžká intersticiální fibróza a tubulární atrofie (> 50 % kůry)
6. Ostatní. Změny, které nejsou považovány za rejekční (mohou být přítomny současně s 2, 3, 4 a 5).

3.2.5. Statistická analýza dat

Statistická analýza dat byla provedena prostřednictvím SPSS software (SPSS Inc., Chicago, IL). p -hodnota $< 0,05$ byla považována za statisticky významnou. Základní charakteristiky souboru rozdělené podle proteinurie 1 rok po transplantaci ledviny byly analyzovány pomocí Mann-Whitney testu pro metrická data a pomocí chi-kvadrát testu pro kategorická data. Coxova regresní analýza byla použita pro analýzu vztahu proměnných k přežití štěpu, byla vždy provedena jak univariální analýza, tak poté multivariální analýza. Ke znázornění křivky přežití byla použita Kaplan-Mayerova křivka. Analýza četnosti histologických nálezů v proteinurické a non-proteinurické skupině dle proteinurie 1 rok po transplantaci ledvin byla provedena pomocí Fisherova testu.

3.3. Výsledky

3.3.1. Proteinurie

Patologická proteinurie definovaná jako protein/kreatininový index > 30 mg/mmol 1 rok po transplantaci ledviny byla detekována u 26 (35 %) pacientů. Průměrná proteinurie 1 rok po transplantaci u všech pacientů byla 32,17 mg/mmol (6,32 - 182,22). Průměrná proteinurie ve skupině s protein/kreatininovým indexem ≤ 30 mg/mmol 1 rok po transplantaci ledviny byla 17,52 mg/mmol (6,32 - 26,58). Průměrná proteinurie ve skupině s protein/kreatininovým indexem > 30 mg/mmol 1 rok po transplantaci ledviny byla 59,77 mg/mmol (30,77 - 188,22).

3.3.2. Charakteristiky dárce a příjemce

U věku dárce, typu primárního ledvinného onemocnění, čase na dialýze, čase studené ischemie, přítomnosti akutní kortikosenzitivní rejeckce, akutní kortikorezistentní rejeckce, chronické rejeckce, hodnoty glomerulární filtrace, přítomnosti hypertenze a typu imunosupresivní terapie nebyl nalezen statisticky významný rozdíl mezi skupinou s patologickou proteinurií a bez patologické proteinurie. Naopak ve skupině s patologickou proteinurií byl zjištěn statisticky významně vyšší počet žen jako příjemců a statisticky vyšší

počet pacientů léčených ACE inhibitory. Výsledky analýzy charakteristik dárce a příjemce ve skupině s patologickou proteinurií a bez patologické proteinurie jsou shrnuty v tabulce 1.

Tabulka 1: Charakteristiky dárce a příjemce dle proteinurie v 1 roce po transplantaci ledviny.

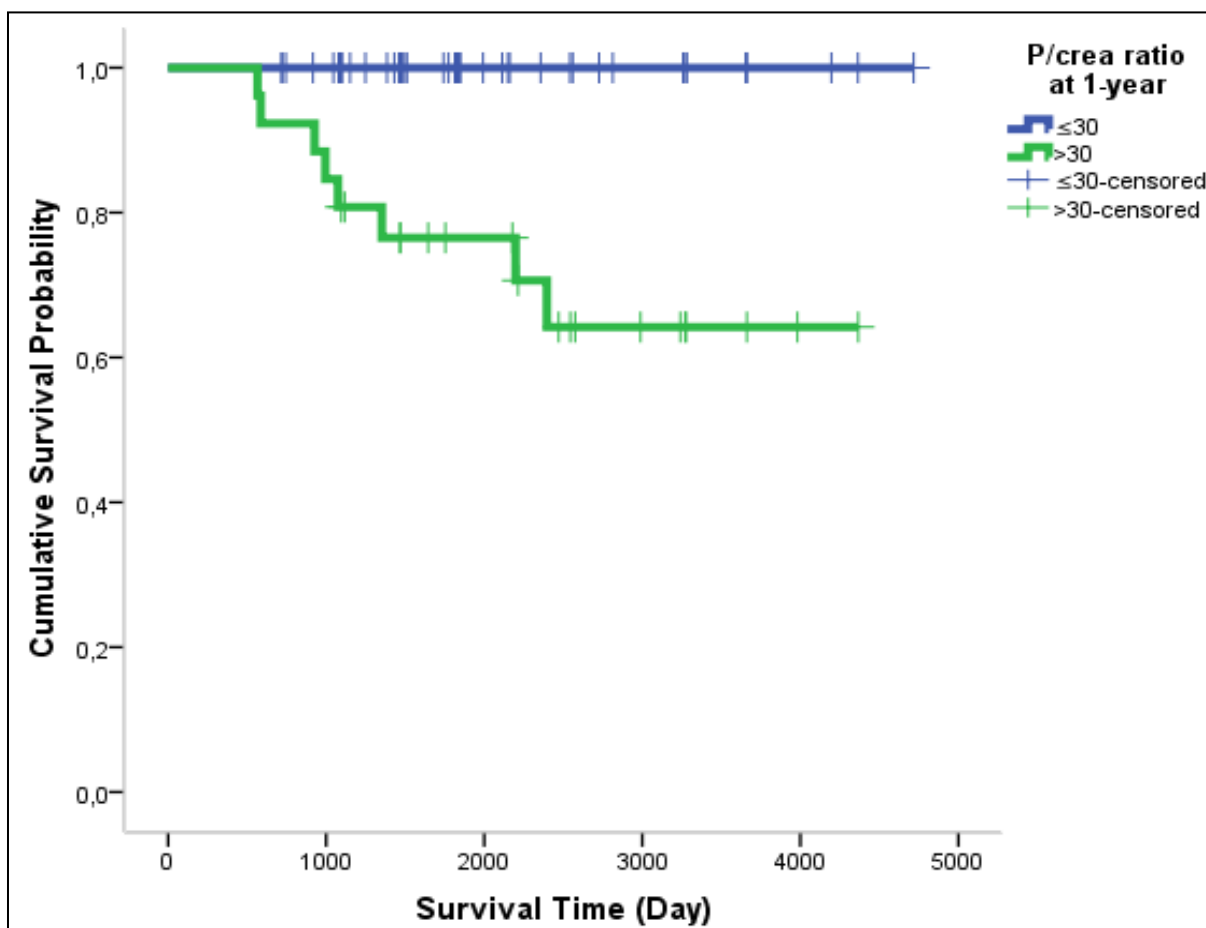
Charakteristiky dárce a příjemce	Protein/kreatininový index		p-value
	≤ 30 (N=49)	> 30 (N=26)	
Věk dárce (roky)	29,7 ± 12,8	32,1 ± 13,3	0,453
Mužské pohlaví příjemce	65,3%	30,8%	0,004
Primární onemocnění ledvin*	81,6%	65,4%	0,117
Čas na dialýze před transplantací (dny)	337,6 ± 288,6	392,0 ± 243,2	0,415
Čas studené ischemie (hodiny)	18,2 ± 4,6	18,3 ± 3,2	0,876
Přítomnost DGF (opožděné funkce štěpu)	12,2%	7,7%	0,706
Přítomnost akutní rejekce v prvním roce	30,6%	38,5%	0,493
Přítomnost kortikorezistentní rejekce v prvním roce	2,0%	11,5%	0,117
Přítomnost chronické rejekce v prvním roce	4,1%	11,5%	0,334
GFR v prvním roce (ml/min/1,73m ²)	68,7 ± 16,9	62,4 ± 21,7	0,167
Hypertenze v prvním roce	83,7%	84,6%	1,000
Léčba ACE inhibitory v prvním roce	24,5%	50,0%	0,026
První vs. retransplantace (% první Tx)	93,9%	92,3%	1,000
Léčba cyklosporinem A v prvním roce	28,6%	42,3%	0,230
Léčba tacrolimem v prvním roce	71,4%	57,7%	0,230
Léčba azathioprinem v prvním roce	46,9%	50,0%	0,801
Léčba mykofenolátem v prvním roce	51,0%	38,5%	0,300

Legenda: * – 2 skupiny: kongenitální a dědičné nemoci versus ostatní primární onemocnění ledvin, GFR – glomerulární filtrace, ACE – angiotenzin konvertující enzym, DGF (Delayed graft function) – opožděný nástup funkce štěpu.

3.3.3. Přežívání štěpů

5leté přežití štěpů po transplantaci ledviny ve skupině s patologickou proteinurií v 1 roce po transplantaci ledviny bylo signifikantně nižší oproti skupině bez patologické proteinurie (77 % vs. 100%, $p < 0,001$). Během celého sledování po prvním roce po transplantaci ledviny neselhal žádný štěp ze 49 pacientů bez patologické proteinurie. Naopak ve skupině 26 pacientů s patologickou proteinurií došlo k selhání štěpu u 8 pacientů. Graficky jsou výsledky znázorněny v Kaplan-Meierově grafu přežívání pacientů, obrázek 5.

Obrázek 5: Kaplan-Meierův graf přežívání pacientů po transplantaci ledviny podle hodnoty proteinurie v prvním roce.



3.3.4. Rizikové faktory pro přežívání štěpů

Pomocí univariální Coxovy regresní analýzy byly v prvním roce po transplantaci ledviny identifikovány tyto rizikové faktory pro pozdější selhání štěpu: přítomnost akutní kortikosenzitivní i kortikorezistentní rejeckce, velikost proteinurie, snížená renální funkce vyjádřená GFR. Výsledky jsou shrnuty v tabulce 2.

Tabulka 2: Rizikové faktory selhání štěpu v prvním roce po transplantaci ledviny (univariální analýza).

Rok	Rizikové faktory pro ztrátu štěpu	Referenční kategorie	HR (95% CI) (Hazard Ratio)	p-value
1 rok	Věk příjemce (roky)		1,04 (0,87-1,26)	0,654
	Pohlaví příjemce	muž	3,60 (0,72-17,86)	0,117
	Věk dárce (roky)		1,01 (0,96-1,06)	0,759
	Opožděná funkce štěpu (DGF)	ne	1,97 (0,24-16,28)	0,530
	Akutní rejeckce	ne	22,83 (2,81-185,64)	0,003
	Kortikorezistentní rejeckce	ne	5,49 (1,31-23,07)	0,020
	Hypertenze	ne	0,55 (0,11-2,75)	0,468
	Léčba ACE inhibitory	ne	3,43 (0,82-14,38)	0,092
	Proteinurie (mg/mmol)		1,013 (1,001-1,025)	0,031
	GFR (ml/min/1.73m²)		0,95 (0,90-0,99)	0,025
	Imunosuprese cyclosporinem A	ne	2,77 (0,65-11,81)	0,168
	Imunosuprese tacrolimem	ne	0,36 (0,08-1,54)	0,168
	Imunosuprese azathioprinem	ne	0,91 (0,22-3,67)	0,890
Imunosuprese mycophenolátem	ne	0,91 (0,21-3,94)	0,902	

Legenda: GFR –glomerulární filtrace, ACE – angiotenzin konvertující enzym.

Pomocí multivariální regresní analýzy byly v prvním roce po transplantaci ledviny identifikovány tyto rizikové faktory pro budoucí selhání štěpu: přítomnost akutní rejeckce a velikost proteinurie v prvním roce. Vzestup proteinurie o každých 10 mg/mmol kreatininu byl asociován s rizikem selhání štěpu o 17 % vyšším. Výsledky jsou shrnuty v tabulce 3.

Tabulka 3: Rizikové faktory selhání štěpu v prvním roce po transplantaci ledviny (multivariantní analýza).

Rok	Rizikové faktory pro ztrátu štěpu	Referenční kategorie	HR (95% CI) (Hazard Ratio)	p-value
1	Proteinurie (mg/mmol)		1,017 (1,001-1,033)	0,038
	GFR (ml/min/1.73m ²)		0,96 (0,93-1,00)	0,057
	Akutní kortikosenzitivní rejekce	ne	16,63 (1,79-154,33)	0,013
	Akutní kortikorezistentní rejekce	ne	2,29 (0,41-12,81)	0,346

Legenda: GFR – glomerulární filtrace.

Pomocí univariantní Coxovy regresní analýzy byly během sledování po prvním roce po transplantaci ledviny identifikovány tyto rizikové faktory pro pozdější selhání štěpu: snížená glomerulární filtrace ve 3. a 4. roce po transplantaci ledviny, v posledním roce sledování přítomnost akutní kortikorezistentní rejekce a chronické rejekce a snížená renální funkce.

Tabulka 4: Rizikové faktory selhání štěpu po prvním roce po transplantaci ledviny (univariantní analýza).

Rok	Rizikové faktory pro ztrátu štěpu	Referenční kategorie	HR (95% CI) (Hazard Ratio)	p-value
3	Proteinurie (mg/mmol)		1,004 (0,970-1,039)	0,827
	GFR (ml/min/1.73m²)		0,87 (0,80-0,96)	0,005
4	Proteinurie (mg/mmol)		1,061 (0,982-1,147)	0,133
	GFR (ml/min/1.73m²)		0,88 (0,79-0,98)	0,022
Poslední	Proteinurie (mg/mmol)		1.001 (0.999-1.003)	0.101
	GFR (ml/min/1.73m²)		0.93 (0.89-0.97)	0.001
	Akutní kortikosenzitivní rejekce	ne	3.95 (0.94-16.57)	0.060
	Akutní kortikorezistentní rejekce	ne	7.80 (1.57-38.82)	0.012
	Chronická rejekce	ne	5.03 (1.01-25.02)	0.049
	Hypertenze	ne	0.26 (0.03-2.14)	0.212

	Léčba ACE inhibitory	ne	0.55 (0.13-2.32)	0.419
	Imunosuprese cyclosporinem A	ne	1.52 (0.31-7.57)	0.606
	Imunosuprese tacrolimem	ne	1.09 (0.26-4.66)	0.906
	Imunosuprese azathioprinem	ne	1.09 (0.13-8.88)	0.938
	Imunosuprese mycophenolátem	ne	0.61 (0.14-2.56)	0.496
	Imunosuprese sirolimem	ne	0.45 (0.05-3.74)	0.460

Legenda: GFR – glomerulární filtrace, ACE – angiotenzin konvertující enzym.

Pomocí multivariantní regresní analýzy byly během sledování po prvním roce po transplantaci ledviny identifikovány tyto rizikové faktory pro budoucí selhání štěpu: glomerulární filtrace ve 3. roce po transplantaci, přítomnost akutní kortikorezistentní rejeckce, přítomnost chronické rejeckce a snížená glomerulární filtrace v posledním roce sledování. Výsledky jsou shrnuty v tabulce 5.

Tabulka 5: Rizikové faktory selhání štěpu během sledování po prvním roce po transplantaci ledviny (multivariantní analýza).

Rok	Rizikové faktory pro ztrátu štěpu	Referenční kategorie	HR (95% CI) (Hazard Ratio)	p-value
3	Proteinurie (mg/mmol)		0,990 (0,941-1,042)	0,706
	GFR (ml/min/1.73m²)		0,87 (0,78-0,97)	0,009
4	Proteinurie (mg/mmol)		1,208 (0,899-1,622)	0,210
	GFR (ml/min/1.73m ²)		0,74 (0,48-1,14)	0,172
Poslední	Proteinurie(mg/mmol)		0,999 (0,996-1,003)	0,705
	GFR (ml/min/1.73m²)		0,88 (0,81-0,95)	0,002
	Kortikorezistentní rejeckce	ne	46,71 (3,61-604,87)	0,003
	Chronická rejeckce	ne	49,58 (3,10-793,15)	0,006

Legenda: GFR – glomerulární filtrace.

3.3.5. Histologické nálezy

Během sledování po prvním roce po transplantaci ledviny byla provedena minimálně jedna renální biopsie u 34 (45 %) pacientů (19 pacientů ve skupině bez patologické proteinurie v prvním roce po transplantaci, 15 pacientů ve skupině s patologickou proteinurií v prvním roce po transplantaci). Ve skupině bez patologické proteinurie byl popsán normální histologický nálezu u 2 pacientů (8 %), hraniční změny u 4 pacientů (16 %), akutní rejekce u 4 pacientů (16 %), chronická rejekce u 6 pacientů (24 %), ostatní nálezy (nefrotoxicita imunosupresiv, BKV nefropatie, potransplantační lymfoproliferativní onemocnění, *de novo* glomerulonefritida) u 9 pacientů (36 %). Ve skupině s patologickou proteinurií byl popsán normální histologický nálezu u 2 pacientů (9 %), protilátkami zprostředkovaná akutní rejekce u 1 pacienta (5 %), hraniční změny u 1 pacienta (5 %), akutní rejekce u 4 pacientů (19 %), chronická rejekce u 10 pacientů (48 %), ostatní nálezy (nefrotoxicita imunosupresiv, rekurence tubulointersticiální nefritidy, *de novo* glomerulonefritida) u 3 pacientů (14 %). Nebyl nalezen statisticky významný rozdíl v četnosti jednotlivých histologických kategorií mezi skupinou s patologickou proteinurií a bez patologické proteinurie. Výsledky jsou shrnuty v tabulce 6 a graficky znázorněny na obrázku 6.

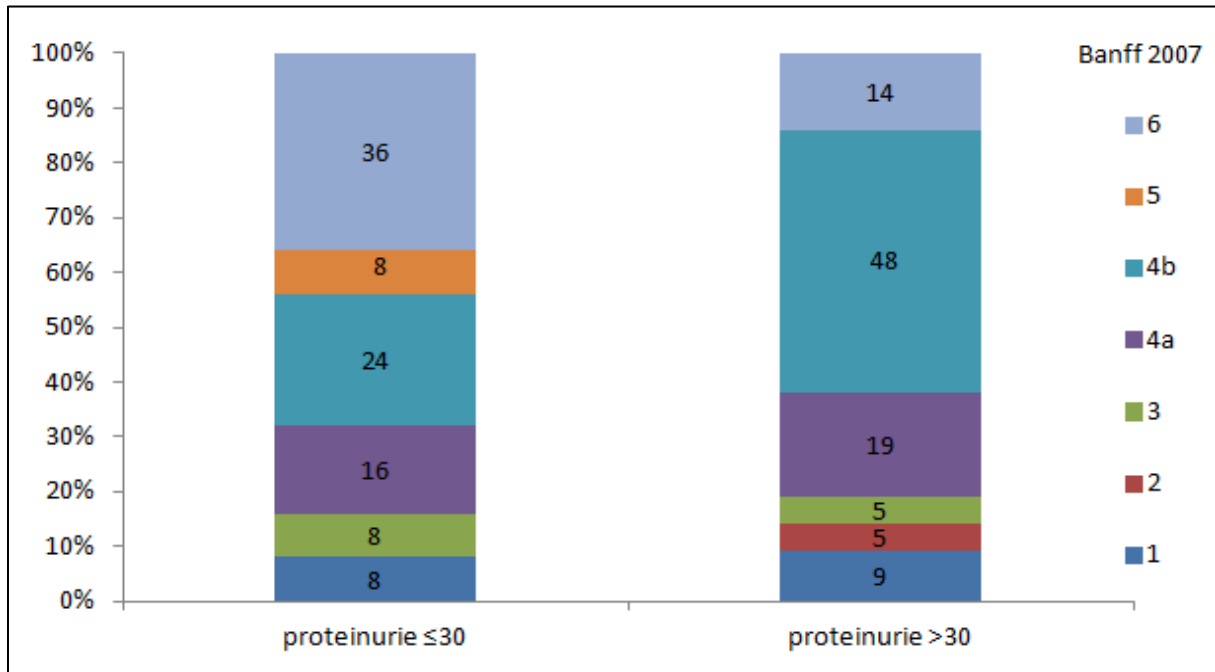
Tabulka 6: Histologické nálezy renálních biopsií provedených během sledování klasifikované dle Banff 2007 klasifikace rozdělené podle proteinurie v prvním roce po transplantaci ledviny.

Banff 2007	Proteinurie \leq 30 mg/mmol kreatininu N=25	Proteinurie $>$ 30 mg/mmol kreatininu N=21	p-value
1	2 (8 %)	2 (9 %)	0,760
2b	0 (0 %)	1 (5 %)	0,457
3	2 (8 %)	1 (5 %)	0,567
4a	4 (16 %)	4 (19 %)	0,746
4b	6 (24 %)	10 (48 %)	0,086
5	2 (8 %)	0 (0 %)	0,290
6	9 (36 %)	3 (14 %)	0,090

Legenda: Banff 2007: 1 = normální histologie, 2b = akutní rejekce zprostředkovaná protilátkami, 3 = hraniční změny, 4a = akutní rejekce zprostředkovaná T lymfocyty, 4b =

chronická rejekce zprostředkovaná T lymfocyty, 5 = intersticiální fibróza a tubulární atrofie, 6 = ostatní změny nerejekční povahy.

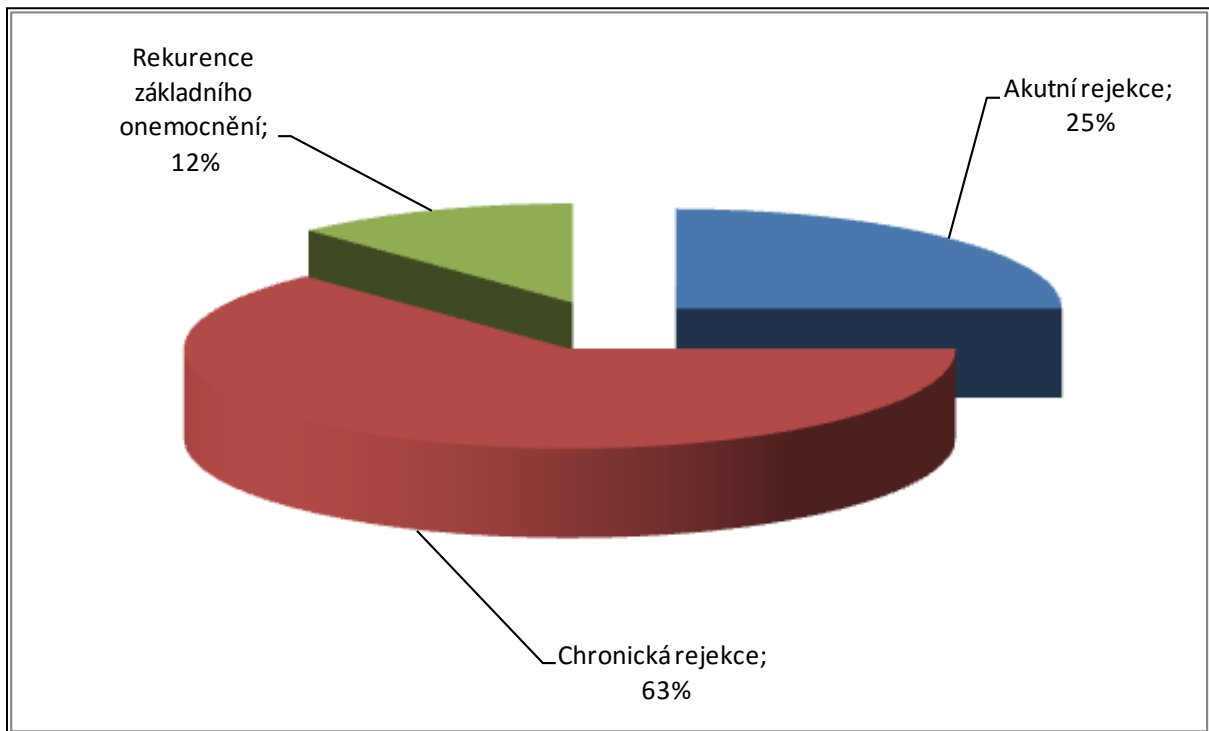
Obrázek 6: Histologické nálezy renálních biopsií provedených během sledování klasifikované dle Banff 2007 klasifikace rozdělené podle proteinurie v prvním roce po transplantaci ledviny.



Legenda: Banff 2007: 1 = normální histologie, 2b = akutní rejekce zprostředkovaná protilátkami, 3 = hraniční změny, 4a = akutní rejekce zprostředkovaná T lymfocyty, 4b = chronická rejekce zprostředkovaná T lymfocyty, 5 = intersticiální fibróza a tubulární atrofie, 6 = ostatní změny nerejekční povahy.

Při analýze histologických výsledků 8 štěpů selhaných během sledování byla nalezena chronická rejekce u 5 pacientů (63 %), akutní rejekce u 2 pacientů (25 %), rekurence primárního onemocnění ledvin (tubulointersticiální glomerulonefritidy) u 1 pacienta (12 %). Výsledky jsou graficky znázorněny na obrázku 7.

Obrázek 7: Histologické nálezy u štěpů selhaných během sledování.



3.3.6. Přežívání pacientů

Při analýze přežívání pacientů nebyl nalezen statisticky významný rozdíl v 5letém přežívání mezi skupinou s patologickou proteinurií a bez patologické proteinurie (100 % vs. 98%; $p = 0,463$). Během sledování zemřel pouze 1 pacient s funkčním štěpem, a to ve skupině bez patologické proteinurie, přičemž příčina úmrtí nesouvisela s proteinurií, jednalo se o potransplantační lymfoproliferativní onemocnění.

3.4. Diskuze

3.4.1. Prevalence proteinurie

Prevalence patologické proteinurie po transplantaci ledvin se u studií na dospělých pacientech pohybovala v rozmezí od 7 % do 45 %, přičemž alespoň z části byla tato variabilita dána rozdílnou definicí prahové hodnoty definující patologickou proteinurii [51,

132]. V průřezové studii Seeman et al. byla prokázána patologická proteinurie po transplantaci ledviny definovaná indexem bílkovina/kreatinin v moči > 22 mg/mmol u 47 % dětských pacientů [50]. V naší studii byla prevalence patologické proteinurie definovaná protein/kreatininovým indexem v moči > 30 mg/mmol 35 %.

3.4.2. Rizikové faktory proteinurie

V řadě studií na dospělých pacientech byly identifikovány různé rizikové faktory pro vznik proteinurie. Amer et al. ve své studii uvádí jako rizikové faktory vysoký systolický a diastolický tlak a hodnotu sérového kreatininu, stejně tak jako ženské pohlaví dárce, mužské pohlaví příjemce a přítomnost akutní rejeckce [7]. Ve studii Halimi et al. byly identifikovány jako rizikové faktory věk dárce, kardiovaskulární příčina úmrtí u dárce, čas teplé i studené ischemie hodnota sérového kreatininu, naopak nebyla prokázána proteinurie jako rizikový faktor [6]. Sancho et al. ve své studii prokázali, že opožděný nástup funkce štěpu, vysoký systolický krevní tlak, body mass index a hodnota sérového kreatininu jsou rizikovými faktory pro proteinurii, naopak nebyla prokázána souvislost akutní rejeckce se vznikem proteinurie [5]. Fontan ve své studii popisuje jako rizikové faktory pro vznik proteinurie opožděnou funkci štěpu, věk dárce, HLA senzibilizace a akutní rejeckci [188]. Amer i Letavernier ve svých studiích popisují asociaci proteinurie s léčbou sirolimem [7, 189]. Amer et al. uvádí asociaci mezi proteinurií s ženským pohlavím dárce a mužským pohlavím příjemce, ovšem tato asociace byla pouze slabá [7]. Ve studii Sancho uvádí, že ženské pohlaví příjemce bylo asociováno s výskytem proteinurie [5]. V průřezové studii u dětských pacientů Seeman et al. popsali asociaci mezi proteinurií a hypertenzí nebo přítomností akutní rejeckce [49]. V naší studii jsme identifikovali statisticky významně zvýšený výskyt patologické proteinurie u příjemců ženského pohlaví a u pacientů léčených ACE inhibitory. U pacientů léčených ACE inhibitory není tato asociace překvapující, protože se využívá jejich terapeutického efektu ke snížení proteinurie.

3.4.3. Rizikové faktory přežívání štěpů

Patologická proteinurie je významným rizikovým faktorem pro rozvoj chronické renální insuficience i pro zvýšený výskyt kardiovaskulárních chorob [41].

Z patofyziologických mechanismů vedoucích k poškození ledviny je uváděna abnormální filtrace proteinů přes glomerulární bazální membránu, kdy se dostává velké množství proteinů do kontaktu s mezangiálními buňkami. Následně je pak pozorována proliferace mezangiálních buněk, zvýšená produkce mezangiální matrix a poté glomeruloskleróza. V mezangiu jsou často nacházeny lipoproteiny, jako např. apolipoprotein B (součást LDL a VLDL) a apolipoprotein A (součást lipoproteinu A) [127]. Velké množství proteinů se též dostává do tubulů, kde má vliv na tubulární buňky. Tyto proteiny jsou metabolizovány v buňkách proximálního tubulu, který pak může být poškozen negativními účinky těchto proteinů. Poškození tubulů při proteinurii je způsobeno jednak množstvím proteinů v proximálním tubulu a jednak přítomností specifických biologicky aktivních proteinů, které se normálně v proximálním tubulu nenacházejí [129]. V naší studii jsme prokázali, že dokonce relativně mírná patologická proteinurie vyjádřená indexem CB/krea > 30 mg/mmol po transplantaci ledviny u dětí vede ke sníženému přežívání štěpů a tato asociace je nezávislá na dalších rizikových faktorech pro přežívání štěpů, jako například funkce štěpu nebo akutní kortikosenzitivní a kortikorezistentní rejekce. Tyto výsledky jsou ve shodě se studiiemi u dospělých pacientů [4, 5, 7, 8, 43, 45, 46, 48, 133, 190-194]. Je proto nutné vyvinout maximální úsilí k redukci proteinurie po transplantaci ledviny, nejlépe léčebným využitím vlivu ACE inhibitorů nebo blokátorů angiotenzinového receptoru, protože tato strategie může hypoteticky zlepšit dlouhodobé přežívání štěpů [51]. Z dalších rizikových faktorů byla potvrzena přítomnost akutní rejekce v prvním roce jako nezávislý rizikový faktor pro selhání štěpu a tato asociace byla dokonce významnější než uvádějí studie u dospělých pacientů [4, 7, 43, 47, 192]. Během dalšího sledování byla nalezena signifikantní asociace mezi sníženou funkcí štěpu (vyjádřenou poklesem glomerulární filtrace) nebo přítomností chronické rejekce a selháním štěpu. Tato asociace není překvapující neboť chronická rejekce a snížená funkce štěpu jsou hlavními prediktory selhání štěpu [195].

3.4.4. Histologické nálezy

Řada studií se zabývala histologickými nálezy u dospělých pacientů po transplantaci ledviny s proteinurií. First et al. ve své studii uvádějí u proteinurických pacientů nález transplantační glomerulopatie, rekurence glomerulonefritidy, de novo glomerulonefritida, chronická rejekce, trombóza renální žíly a refluxová nefropatie [196]. Ve studii Vathsala et al. byla nejčastějším histologickým nálezem u pacientů s perzistentní proteinurií chronická

rejekce, transplantační glomerulopatie, akutní rejekce, glomerulonefritida a nespecifická intersticiální fibróza [46]. Glomerulonefritida a chronická rejekce byla nejčastějším histologickým nálezem ve studii Kim et al. [44]. Také Park et al. uvádějí chronickou rejekci jako nejčastější histologickou diagnózu u pacientů s perzistentní proteinurií [45]. Podobně i Peddi et al. popisují chronickou rejekci a transplantační glomerulopatii jako nejčastější příčinu perzistující proteinurii [133]. Ve shodě s těmito studiemi byla i v naší studii chronická rejekce nejčastějším histologickým nálezem u pacientů s patologickou proteinurií. U štěpů selhaných během sledování byla chronická rejekce též nejčastějším histologickým nálezem, což je ve shodě s nálezy popisovaných u dospělých pacientů po transplantaci ledviny [4].

3.4.5. Proteinurie ve vztahu k přežívání pacientů

U dospělých pacientů byla patologické proteinurie nejen prediktorem sníženého přežívání štěpu, ale též sníženého přežívání pacientů po transplantaci ledviny [4, 6, 48, 191, 192, 194]. V kontrastu s těmito výsledky u dospělých pacientů však naše studie neprokázala asociaci mezi patologickou proteinurií a sníženým přežíváním pacientů, jelikož došlo během sledování k úmrtí pouze jednoho pacienta s funkčním štěpem, a to ve skupině bez patologické proteinurie v 1 roce po transplantaci, přičemž příčina úmrtí nesouvisela s proteinurií (posttransplantační lymfoproliferativní onemocnění). Je však třeba uvést, že doba sledování v naší studii byla limitovaná vzhledem k předávání pacientů po dovršení 19 let do péče nefrologů pro dospělé pacienty.

4. Studie 2: Včasná léčba rekurence fokálně-segmentální glomerulosklerózy po transplantaci ledvin je asociována s lepší prognózou přežívání štěpu

4.1. Úvod

Primární fokálně-segmentální glomeruloskleróza (FSGS) je glomerulární onemocnění charakterizované nefrotickou proteinurií a progresivním selháváním funkce ledvin. Patofyziologické mechanismy tohoto onemocnění nejsou úplně objasněny, v recentních studiích jsou uváděny cirkulující permeabilní faktory, jejichž přítomnost vede ke vzniku proteinurie a poškození ledvin. Rekurence FSGS je též častým problémem po transplantaci ledviny, výskyt je udáván mezi 30 – 40 %. Pokud se nepodaří terapeuticky zvládnout nefrotickou proteinurii, je prognóza štěpu velmi špatná. Jako rizikové faktory rekurence FSGS jsou udávány nízký věk pacientů v době stanovení diagnózy FSGS, rychlá progresse tohoto onemocnění do konečného stádia onemocnění ledvin a nález mesangiální proliferace při renální biopsii. Mezi nejčastější typy léčby rekurence FSGS patří plazmaferéza, imunoadsorpce, vysokodávkované kortikosteroidy, cyklosporin A, cyklofosfamid a rituximab. V této retrospektivní studii je prezentováno 5 pacientů s diagnózou primární FSGS a rekurencí nefrotické proteinurie po transplantaci ledviny, kteří byli léčeni plazmaferézami nebo imunoadsorpcí, přičemž je sledován vztah mezi časností zahájení léčby po nástupu nefrotické proteinurie po transplantaci ledviny a výsledkem léčby, charakterizované vymizení nefrotické proteinurie, z dlouhodobého hlediska pak eventuálním selhání štěpu.

4.2. Materiál a metodika

Retrospektivně byla analyzována data všech dětských pacientů transplantovaných v transplantačním centru Fakultní nemocnice v Motole v období 2001 až 2010, u kterých došlo k rekurenci FSGS. U pacientů byla analyzována data o proteinurii, funkci štěpu, intervalu mezi nástupem proteinurie a zahájením plazmaferézy/imunoadsorpce, úspěšnost léčby vyjádřená poklesem proteinurie, doba mezi zahájením léčby a nástupem remise, přítomnost relapsů a funkce štěpu na konci sledování.

Kompletní remise byla definována jako pokles proteinurie pod 1 g/den, parciální remise byla definována jako pokles proteinurie pod 3 g/den a absence otoků. Index protein/kreatinin v moči nebyl dostupný u všech vzorků.

Plazmaferéza byla prováděna s přístrojem Fresenius Hemo Care Com. Tec, imunoadsorpce byla prováděna dvěma kapslemi obsahující staphylokokový protein A a přístrojem Citem 10 Excorim.

4.3. Výsledky

4.3.1. Základní charakteristiky souboru

V období let 2001 až 2010 byla ledvina transplantována 11 dětem se základní diagnózou fokálně-segmentální glomerulosklerózy (4 děti s geneticky podmíněnou FSGS, 7 dětí bez prokázané genetické příčiny). K rekurenci došlo u 5 z těchto 11 pacientů, přičemž všichni pacienti byli ze skupiny bez geneticky prokázané příčiny FSGS. Výskyt rekurence FSGS v našem souboru tedy byl 45 % ze všech pacientů se základním onemocněním FSGS a 71% z pacientů bez prokázané genetické příčiny FSGS.

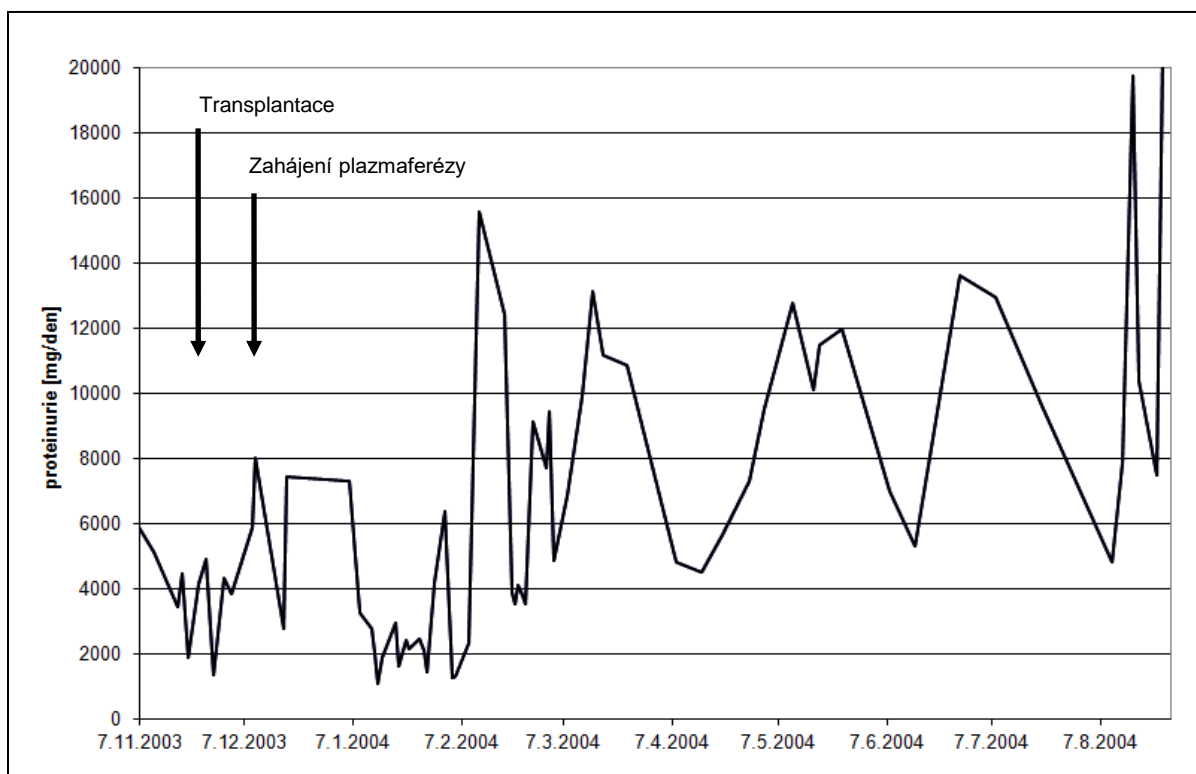
Plazmaferézy a imunoadsorpce byly u pacientů prováděny dle protokolu: 0,8 až 2,0 objemy plazmy při plazmaferézách, 0,9 až 3,0 objemů plazmy při imunoadsorpcích. Intenzifikovaný režim plazmaferézy/imunoadsorpce během relapsů zahrnoval obvykle 7 – 20 procedur s intervalem maximálně dva dny mezi sezeními. Žádný pacient nebyl léčen plazmaferézami nebo imunoadsorpcí před transplantací ledviny.

4.3.1. Klinický průběh jednotlivých pacientů

Pacient 1 byl chlapec, u kterého se manifestoval kortikorezistentní nefrotický syndrom ve věku 8,8 let, přičemž iniciální proteinurie byla až 6 g/den. Při provedené renální biopsii byla diagnostikována FSGS. Genetické vyšetření NPHS2 a WT1 genu bylo negativní. Ve věku 10,8 let byla zahájena hemodialýza a ve věku 10,9 let byla zahájena peritoneální dialýza. Vzhledem k přetrvávající těžké nefrotické proteinurii až 40 g/den byla provedena embolizace obou ledvin. Ve věku 11,9 let byla provedena transplantace ledviny od kadaverózního dárce. Primární imunosuprese zahrnovala kortikosteroidy, tacrolimus a azathioprin. Třetí den po transplantaci ledviny došlo k rozvoji těžké proteinurie. 14. den po transplantaci ledviny byla provedena renální biopsie, kde nebyly popsány známky fokálně-segmentální glomerulosklerózy. Plazmaferéza byla zahájena 17. den po transplantaci ledviny, bylo

provedeno celkem 20 plazmaferéz, přičemž interval mezi jednotlivými plazmaferézami byl maximálně 2 dny. Navzdory léčbě plazmaferézou (více než 60 plazmaferéz s intervalem maximálně 7 – 10 dnů) a imunosupresivní léčbě došlo k postupnému zhoršování renálních funkcí při přetrvávající těžké nefrotické proteinurii. 1 rok po transplantaci ledviny došlo k selhání funkce štěpu, byla indikována grafektomie a znovu zahájena peritoneální dialýza. Vývoj proteinurie je graficky znázorněn na obrázku 8.

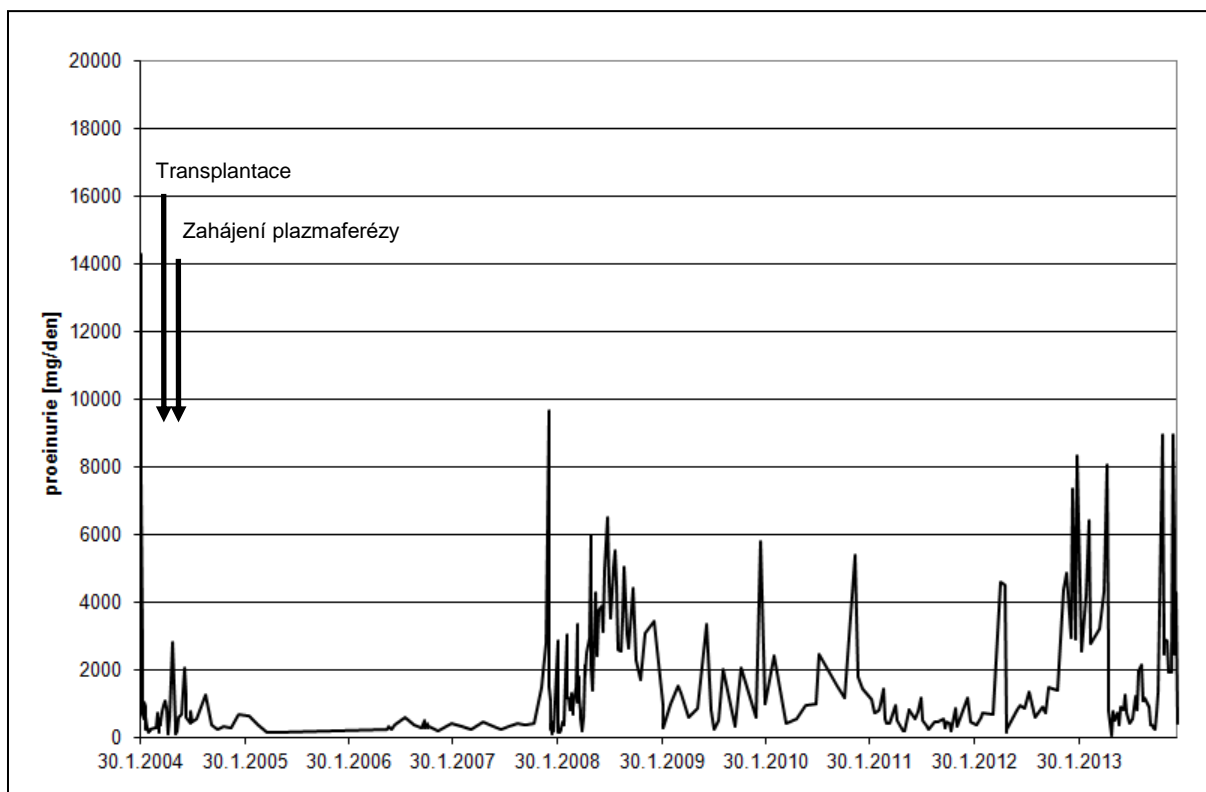
Obrázek 8: Vývoj proteinurie v čase u pacienta 1.



Pacient 2 byla dívka, u které byla diagnostikována fokálně-segmentální glomeruloskleróza při renální biopsii ve věku 13 let. Genetické vyšetření mutací genu NPHS2 a WT1 bylo negativní. K rozvoji chronického selhání ledvin a zahájení peritoneální dialýzy došlo ve věku 2,7 roku. Pro těžkou proteinurii byla provedena bilaterální nefrektomie. Po 7 měsících na peritoneální dialýze byla pacientce transplantována ledvina od kadaverózního dárce. Primární imunosuprese zahrnovala tacrolimus, kortikosteroidy a mykofenolát mofetil. První den po transplantaci došlo k rozvoji těžké nefrotické proteinurie až 13 g/den. K zahájení plazmaferézy došlo 4. den po transplantaci ledviny. Po jednom měsíci terapie plazmaferézou

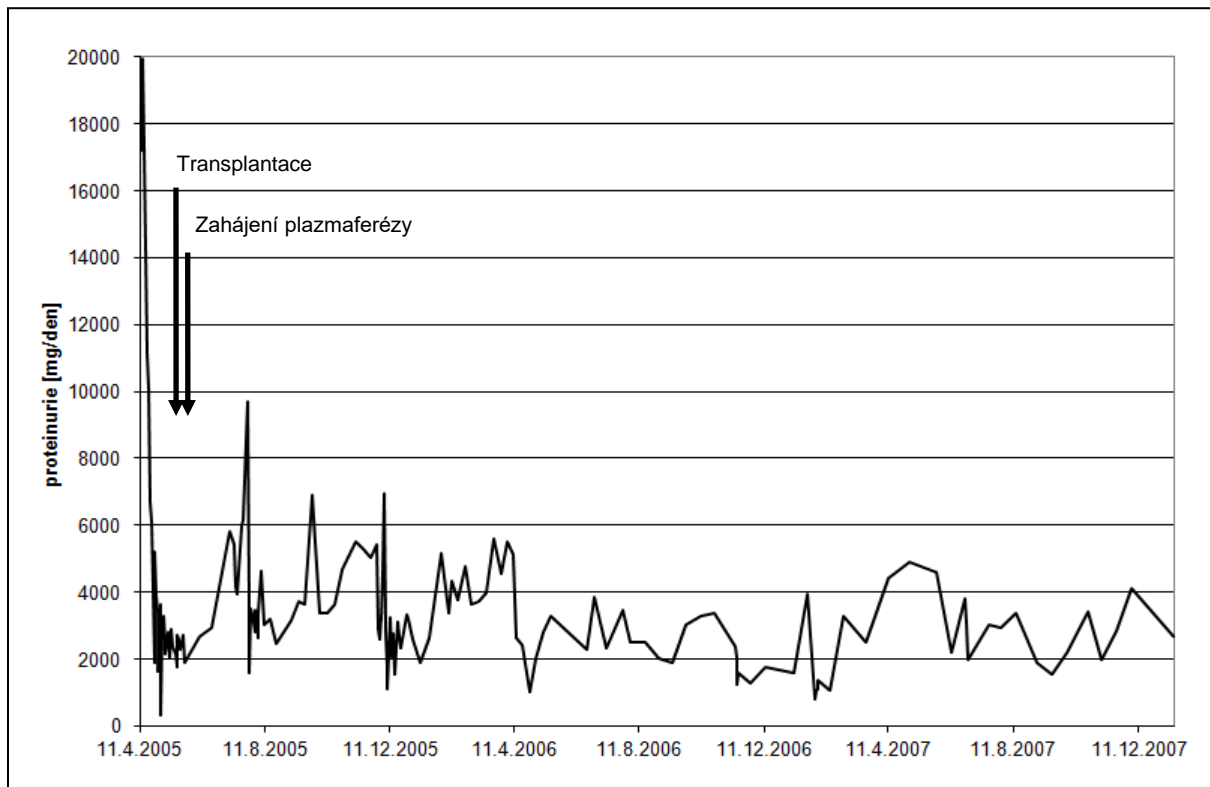
s maximálním intervalem 2 dnů mezi sezeními došlo k parciální remisi nefrotické proteinurie. Plazmaferéza byla poté ukončena po 20 sezeních. Po dvou měsících došlo opět k relapsu těžké proteinurie s maximální hodnotou 5,8 g/den. Tento relaps byl úspěšně léčen opět sérií plazmaferéz, přičemž interval mezi sezeními byl maximálně 2 dny. Po dosažení parciální remise (3,3 g/den) bylo pokračováno v režimu chronické plazmaferézy s frekvencí sezení 1x týdně. 4 měsíce po transplantaci ledviny byla provedena renální biopsie, kde byla popsána nefrotoxicita cyklosporinem a splnutí výběžků podocytů v elektronové mikroskopii, nebyly však popsány jasné známky fokálně-segmentální glomerulosklerózy. Z důvodu těžké hypoproteinémie byla 7 měsíců po transplantaci ledviny terapie plazmaferézou změněna na imunoabsorpci. Po 5 měsících došlo k opět relapsu těžké proteinurie s maximální hodnotou proteinurie 5,8 g/den. Tento relaps byl léčen intenzivním režimem imunoabsorpce, po kterém došlo k poklesu proteinurie na 2,4 g/den. 1 rok po transplantaci ledviny měla pacientka stále dobrou funkci štěpu (kreatinin 75 $\mu\text{mol/l}$) a proteinurií 3,0 g/den, byla klinicky bez otoků a byla léčena v chronickém režimu imunoabsorpcí s frekvencí sezení 1x týdně. Aktuálně je pacientka 2,8 roku po transplantaci ledviny s hodnotou sérového kreatininu 120-135 $\mu\text{mol/l}$ a proteinurií 2,5-3,0 g/den. Vývoj proteinurie je graficky vyjádřen na obrázku 9.

Obrázek 9: Vývoj proteinurie v čase u pacienta 2.



Pacient 3 byla dívka, u které byla při renální biopsii diagnostikována fokálně-segmentální glomeruloskleróza ve věku 9,1 let. Genetické vyšetření mutací NPHS2 a WT1 genu bylo negativní. Ve věku 12,3 roky došlo u dívky k chronické renální insuficienci a byla zahájena hemodialýza. Byla provedena bilaterální nefrektomie. Po 10 měsících byla provedena transplantace ledviny od kadaverózního dárce. Imunosupresivní terapie zahrnovala kortikosteroidy, tacrolimus a azathioprin. Druhý den po transplantaci ledviny došlo k rozvoji těžké nefrotické proteinurie až 14 g/den. Pátý den po transplantaci ledviny byla zahájena plazmaferéza. Během 3 týdnů bylo provedeno iniciálních 12 plazmaferéz s intervalem mezi sezeními maximálně 2 dny a bylo dosaženo kompletní remise (proteinurie 0,2 g/den). V první provedené biopsii 14 dnů po transplantaci ledviny byly nalezeny známky cyklosporinové nefrotoxicity a kompletní splynutí výběžků podocytů na elektronové mikroskopii. Druhá biopsie byla provedena 3 měsíce po transplantaci ledviny s nálezem akutní rejekce Banff 1b, nebyly však nalezeny histologické známky fokálně-segmentální glomerulosklerózy. Akutní rejekce byla u pacientky léčena pulzy kortikoidů. Poté byla pacientka převedena na chronický režim plazmaferéz (1 sezení týdně po dobu jednoho měsíce, poté 1 sezení měsíčně po dobu 1 roku). Pak byla pacientka převedena na režim imunoadsorpce s frekvencí sezení 1x měsíčně. 2,8 roku po transplantaci byla pacientka z technických důvodů převedena zpět na režim plazmaferéz. Během chronické léčby plazmaferézami a imunoadsorpcí prodělala pacientka několik relapsů těžké proteinurie (1,5 – 9 g/den), všechny tyto relapsy byly léčeny intenzifikovaným režimem plazmaferéz/imunoadsorpcí. U pacientky bylo díky léčbě dosaženo dlouhodobé remise, hodnota sérového kreatininu se po 8,5 letech po transplantaci ledviny pohybovala v rozmezí 120 – 130 $\mu\text{mol/l}$ a 9,7 roků po transplantaci ledviny byla hodnota sérového kreatininu 180 – 230 $\mu\text{mol/l}$ a hodnota proteinurie 0,3 – 0,8 g/den. Vývoj proteinurie je graficky vyjádřen na obrázku 10.

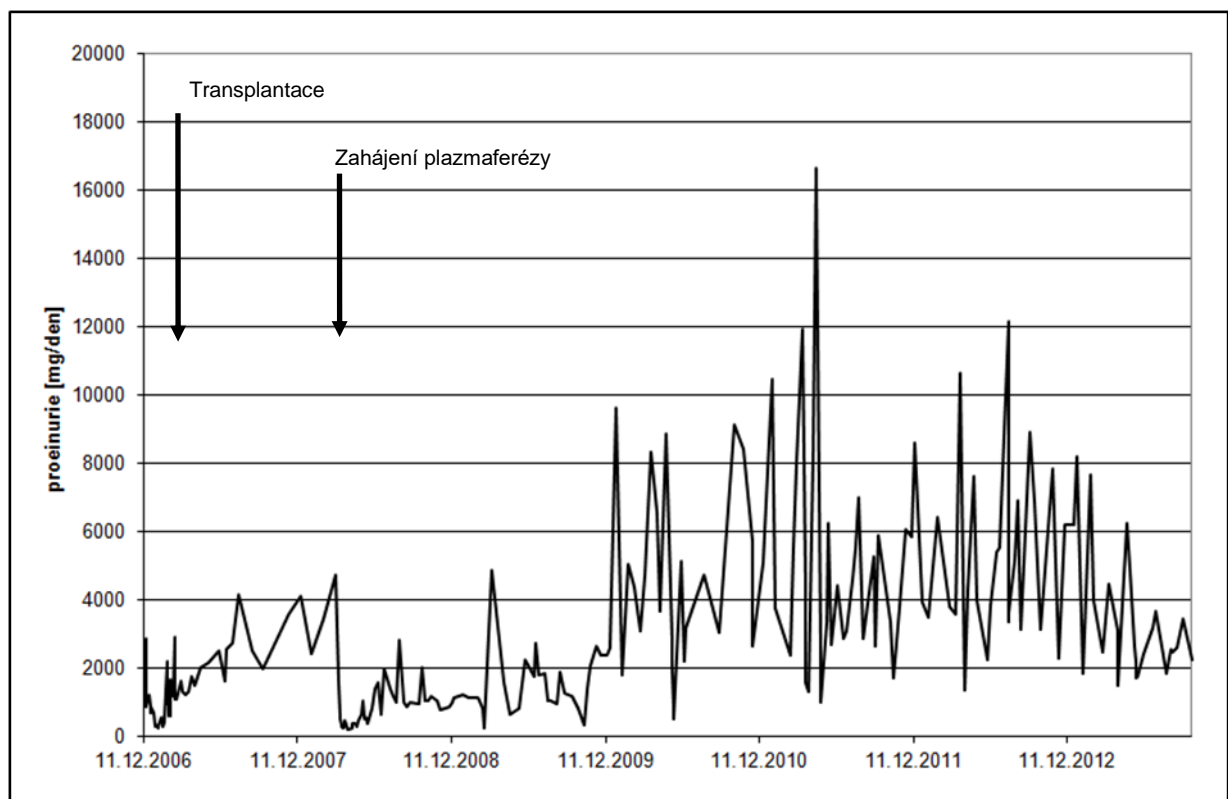
Obrázek 10: Vývoj proteinurie v čase u pacienta 3.



Pacient 4 byla dívka, u které byla potvrzena histologická diagnóza fokálně-segmentální glomeruloskerózy ve věku 7,5 roku. Ve věku 11 let došlo k rozvoji terminální fáze chronické renální insuficience a byla zahájena dialýza. Genetické vyšetření na gen NPHS2 a WT1 byl negativní. Bilaterální nefrektomie u této pacientky nebyla provedena a v době před transplantací ledvin dosahovala proteinurie hodnot kolem 1,5 g/den. Ve věku 13 let byla provedena transplantace od kadaverózního dárce a byla zahájena imunopresivní léčba kombinací tacrolimu, mykofenolátu, kortikosteroidů a dvěma pulzy daclizumabu s časným vysazením kortikosteroidů. Po transplantaci ledviny nedošlo k vymizení proteinurie, v jednom týdnu po transplantaci byla 1,6 g/den a jeden rok po transplantaci byla 3,5 – 4,1 g/den. Ve 4 a v 6 týdnech po transplantaci ledviny byly provedeny dvě biopsie štěpu pro elevaci hodnoty sérového kreatininu (140 a 240 $\mu\text{mol/l}$), nebyly však nalezeny histologické známky fokálně-segmentální glomerulosklerózy. 15,5 měsíce po transplantaci ledviny byla provedena třetí biopsie štěpu pro opětovný vzestup sérového kreatininu na hodnotu 240 $\mu\text{mol/l}$ při proteinurii 1,6 g/den, přičemž histologický nálezn byl charakteristický pro fokálně-segmentální glomerulosklerózu. Byla zahájena plazmaferéza s intervaly mezi sezeními maximálně dva dny po dobu tří týdnů, kdy došlo k poklesu proteinurie na 0,3 g/den. Poté byla

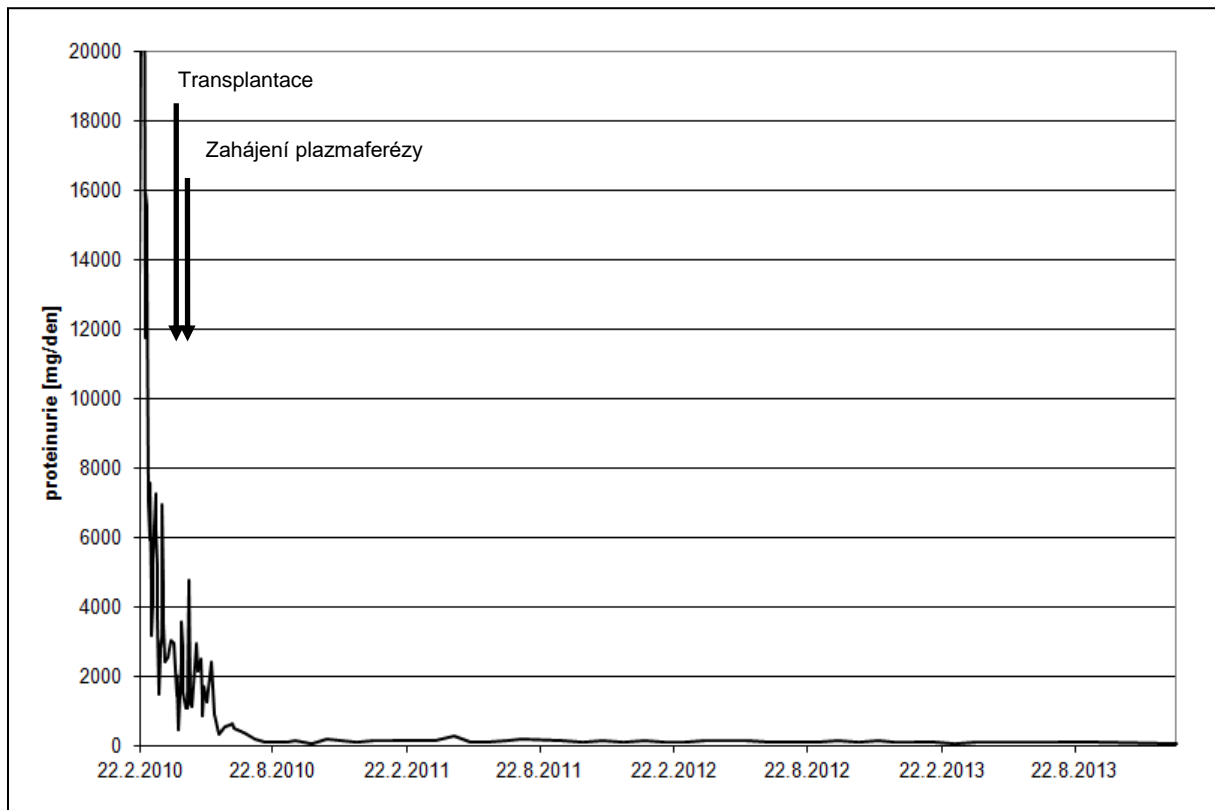
terapie změněna na chronický režim plazmaferézy a později na imunoadsorpci s frekvencí sezení 2x týdně. Hodnota kreatininu se pohybovala kolem 160 $\mu\text{mol/l}$ při hodnotě proteinurie 0,4 – 0,6 g/den. Tuto parciální remisi se však nepodařilo udržet dlouho a chronická léčba plazmaferézou/imunoadsorpcí byla komplikována častými relapsy těžké nefrotické proteinurie s hodnotou přes 10 g/den. Všechny tyto relapsy byly léčeny intenzifikovaným režimem plazmaferézy/imunoadsorpce (5 sezení s intervalem 1 den mezi sezeními) následovaný poklesem proteinurie na 0,6 – 1,5 g/den. 6,5 roku po transplantaci ledviny došlo k vzestupu hodnoty sérového kreatininu na 350 – 380 $\mu\text{mol/l}$ při proteinurii 2 – 3 g/den, byla provedena čtvrtá renální biopsie, kde byly popsány ve světelném mikroskopu známky konečné fáze onemocnění ledvin se segmentální sklerotizací glomerulů a ztluštěním bazálních membrán glomerulů, při elektronové mikroskopii bylo popsáno splnutí výběžků podocytů. Vzhledem ke zhoršující se renální funkci byla 6,8 roku po transplantaci ledviny opět zahájena hemodialýza. Vývoj proteinurie je graficky vyjádřen na obrázku 11.

Obrázek 11: Vývoj proteinurie v čase u pacienta 4.



Pacient 5 byla dívka, u které byla histologicky diagnostikována fokálně-segmentální glomeruloskleróza ve věku 2,3 roku. Genetické vyšetření na mutace v genu NPHS2 a WT1 bylo negativní. K rozvoji konečného stádia onemocnění ledvin došlo za 4 měsíce, kdy byla zahájena peritoneální dialýza a byla provedena bilaterální nefrektomie. Věku 5,2 roku byla provedena transplantace, imunosuprese po transplantaci zahrnovala kortikosteroidy, tacrolimus a mykofenolát mofetil. První den po transplantaci ledviny došlo k rozvoji těžké proteinurie s maximem až 28 g/den. 8 dnů po transplantaci ledviny byla zahájena plazmaferéza. Poté došlo k poklesu proteinurie, která však byla stále v nefrotickém rozmezí (3 – 6 g/den). 2,5 měsíce po transplantaci ledviny byla provedena renální biopsie z důvodu vzestupu hodnoty sérového kreatininu na 130 $\mu\text{mol/l}$, kde nebyly popsány známky fokálně-segmentální glomerulosklerózy. 3 měsíce po transplantaci ledviny byla po 33 sezeních změněna plazmaferéza na imunoadsorpci. Proteinurie postupně klesla až na hodnoty 0,5 – 0,7 g/den při hodnotě sérového kreatininu 30 – 60 $\mu\text{mol/l}$. Kompletní remise s proteinurií 0,1 g/den bylo dosaženo po 6 měsících po transplantaci ledviny. Imunoadsorpce pokračovala s frekvencí 1 sezení měsíčně a pacientka neprodělala žádný relaps proteinurie. 3,8 roku po transplantaci ledviny byla hodnota sérového kreatininu 60 – 80 $\mu\text{mol/l}$ při proteinurii 0,05 – 0,09 g/den. Vývoj proteinurie je graficky vyjádřen na obrázku 9. Vývoj proteinurie je graficky vyjádřen na obrázku 12.

Obrázek 12: Vývoj proteinurie v čase u pacienta 5.



4.3.1. Shrnutí výsledků v tabulkách

Klinický údaje prezentovaných pacientů a výsledky renálních biopsií jsou shrnuty v tabulkách 7 a 8.

Tabulka 7: Charakteristiky jednotlivých pacientů s rekurencí fokálně-segmentální glomerulosklerózy.

Pacient	Věk při Tx [roky]	Bilaterální nefrektomie	Čas diagnózy rekurence FSGS po Tx [dny]	Doba zahájení léčby po Tx [dny]	Čas mezi stanovením diagnózy FSGS a zahájením léčby [dny]	Efekt léčby plazmaferézou nebo imunoadsorpčí	Čas nástupu remise po zahájení léčby [týdny]	Aktuální funkce štěpu (doba po Tx)
1	11,9	Ano	3	17	14	Bez remise	Bez remise	Selhání štěpu (1 rok)
2	16,3	Ano	1	4	3	Parciální dlouhodobá remise	4	Funkční štěp (2,8 let)
3	13,1	Ano	2	5	3	Kompletní remise	3	Funkční štěp (9,7 let)
4	12,5	Ne	60	466	406	Parciální dlouhodobá remise s častými relapsy	1,5	Selhání štěpu (6,8 let)
5	5,2	Ano	1	8	7	Kompletní dlouhodobá remise	24	Funkční štěp (3,8 let)

Legenda: Tx – transplantace ledviny, FSGS – fokálně-segmentální glomeruloskleróza.

Tabulka 8: Bioptické nálezy provedené po transplantaci ledviny u pacientů s rekurencí fokálně-segmentální glomerulosklerózy.

Pacient	Biopsie štěpu – světelná mikroskopie	Biopsie štěpu – elektronová mikroskopie
1	Bez známek FSGS (14 dnů po Tx)	Neprovedena
2	Bez známek FSGS (4 měsíce po Tx)	Neprovedena
3	Bez známek FSGS (0,5 a 3 měsíce po Tx)	Kompletní splynutí pedicel (0,5 měsíce po Tx)
4	Bez známek FSGS (1 a 1,5 měsíce po Tx) Nález FSGS (15,5 měsíce po Tx)	Kompletní splynutí pedicel (1,5 měsíce po Tx)
5	Bez známek FSGS (2,5 měsíce po Tx)	Parciální splynutí pedicel (2,5 měsíce po Tx)

Legenda: Tx – transplantace ledviny, FSGS – fokálně-segmentální glomeruloskleróza.

4.4. Diskuze

4.4.1. Základní charakteristiky souboru

Rekurence fokálně-segmentální glomerulosklerózy se vyskytuje u 20 – 40 % pacientů po transplantaci ledviny, přičemž pacienti, u kterých nedojde k remisi onemocnění a vymizení nefrotické proteinurie, mají velmi špatnou prognózu přežití štěpu [59-65]. V našem souboru byl výskyt rekurence fokálně-segmentální glomerulosklerózy 45 %. U všech pacientů v této studii byla diagnóza primární fokálně-segmentální glomerulosklerózy jako primárního renálního onemocnění potvrzena histologicky. U všech pacientů též došlo k rekurenci nefrotické proteinurie v časném potransplantačním období.

4.4.2. Bioptické nálezy

V době nástupu nefrotické proteinurie v rámci rekurence FSGS je obvykle bioptický nález v optickém mikroskopu zcela normální, v elektronovém mikroskopu je pak patrné splynutí pediklů podocytů [197]. Také v naší studii všechny biopsie provedené u pacientů v časném potransplantačním období neprokázaly charakteristické histologické známky fokálně-segmentální glomerulosklerózy. Pouze u pacienta 4 byly prokázány histologické známky FSGS po dlouhém časovém období 466 dní od počátku rekurence FSGS, který byl stanoven retrospektivně analýzou vývoje proteinurie po transplantaci. V této době však již došlo k irreverzibilnímu poškození štěpu následovaného postupným snižováním funkce štěpu a později ztrátou štěpu.

4.4.3. Úspěšnost léčby ve vztahu k časnosti zahájení léčby

Pravděpodobnost dosažení remise nefrotické proteinurie mělo souvislost s velikostí časového intervalu mezi nástupem nefrotické proteinurie a zahájením léčby plazmaferézou nebo imunoadsorpcí. K remisi došlo u všech tří pacientů, u kterých byla zahájena léčba plazmaferézou nebo imunoadsorpcí v krátkém časovém intervalu 3 – 7 dní po diagnóze rekurence fokálně-segmentální glomerulosklerózy. U dvou pacientů, u kterých byla léčba zahájena 3 dny po diagnóze, došlo k časné remisi po 3 – 4 týdnech po zahájení léčby plazmaferézou. Třetí pacient, u kterého byla zahájena léčba 7 dní po diagnóze rekurence fokálně-segmentální glomerulosklerózy, byla dosažena kompletní remise po 6 měsících léčby. U všech pacientů bylo dosaženo dlouhodobé remise, u pacientů 3 a 5 bylo dosaženo kompletní remise, u pacienta 2 bylo dosaženo parciální remise. Další dva pacienti s dlouhým intervalem mezi diagnózou rekurence FSGS a zahájením léčby (časový interval 14 dnů u pacienta 1 a 406 dnů u pacienta 4) nedosáhli dlouhodobé remise, přičemž pacient 1 nedosáhl remise vůbec a pacient 4 dosáhl pouze krátkodobé parciální remise. Tato práce ukazuje, že krátký interval mezi rekurencí nefrotické proteinurie u pacientů po transplantaci ledviny s primárním onemocněním FSGS a zahájením léčby plazmaferézou nebo imunoadsorpcí by měl vést k lepší výsledkům léčby a k dosažení dlouhodobé remise. Tento výsledek je ve shodě s recentně publikovanými obdobnými studiemi. Kandus et al. ve své studii uvádějí sedm pacientů s rekurencí FSGS po transplantaci ledviny, kdy u pacientů s časným zahájením léčby plazmaferézou nebo imunoadsorpcí v časovém intervalu 1 – 7 dní po diagnóze rekurence

FSGS k dlouhodobé remisi u 5 ze 7 pacientů (70 %) [198]. Pradhan et al. ve své studii uvádějí remisi rekurence FSGS po transplantaci ledviny s časným zahájením léčby do 1 dne po stanovení diagnózy u všech 4 pacientů [144]. Naopak dva pacienti, u kterých byla zahájena léčba v časovém intervalu 7 a 17 dní po stanovení diagnózy rekurence FSGS, nedosáhli dlouhodobé remise, což odpovídá stejnému časovému intervalu jako u našeho pacienta 1, který též nedosáhl dlouhodobé remise. Wühl et al. popsali dosažení remise rekurence nefrotické proteinurie po transplantaci ledviny u všech 3 pacientů, kteří byli časně léčeni plazmaferézou [199]. Straatman et al. publikovali 7 pacientů s rekurencí FSGS 1 – 5 dnů po transplantaci ledviny. Všichni pacienti byli úspěšně léčeni časně zahájenou plazmaferézou a dosáhli kompletní remise bez potřeby použití imunosupresivní léčby [200]. Můžeme tedy shrnout, že úspěšnost léčby u ostatních studií se pohybovala mezi 67 – 100 %, což odpovídá i našim výsledkům.

V naší studii velmi dlouhý interval mezi rekurencí nefrotické proteinurie a zahájením léčby u pacienta 4 byl způsoben reziduální proteinurií nativních ledvin, jelikož pacient 4 byl jediným pacientem, u kterého nebyla provedena bilaterální nefrektomie před transplantací ledviny. Navíc první dvě biopsie neprokázaly histologické změny charakteristické pro FSGS. Čas rekurence proteinurie u štěpu byl proto prokázán retrospektivně na základě vzestupu proteinurie po iniciálním poklesu po transplantaci ledviny, protože prvních 60 dnů po transplantaci ledviny postupně klesala proteinurie zřejmě v důsledku poklesu diurézy nativních ledvin, následný vzestup proteinurie byl pak retrospektivně překvalifikován jako počátek rekurence fokálně-segmentální glomerulosklerózy.

4.4.4. Přežívání štěpů

Závislost na chronické léčbě plazmaferézou nebo imunoadsorpcí byla popsána v recentní studii Greda et al., kde pacient závislý na tomto druhu léčby byl úspěšně léčen rituximabem, kdy po léčbě bylo možné chronickou plazmaferézu/imunoadsorpcí ukončit [201]. Přežívání štěpu u pacientů s rekurencí fokálně-segmentální glomerulosklerózy bylo předmětem několika studií. Wühl et al. popisují podobné přežívání štěpů s rekurencí FSGS a bez rekurence [199], naopak Jungraithmayr et al. publikovali signifikantně horší 10 leté přežití štěpů ve skupině s rekurencí FSGS [202].

V naší studii u obou dvou pacientů, u nichž nedošlo k dlouhodobé remisi (pacient 1 a 4), došlo k rozvoji konečného stádia ledvinného onemocnění a ztrátě štěpu, a to za 1 a 6,7

roku po transplantaci ledviny. Naopak pacienti 2, 3 a 5 dosáhli alespoň parciální remise a na konci sledování měli uspokojivou funkci štěpu, tj. 2,8 roku, 9,7 roku a 3,8 roku po transplantaci ledviny. Všichni tři pacienti však byli závislí na chronické léčbě plazmaferézou nebo imunoadsorpcí. Intervaly mezi jednotlivými sezeními byly nastaveny na maximální možnou dobu, při které ještě nedocházelo k rekurenci proteinurie.

5. Závěr

Tato práce se zabývala vztahem mezi proteinurií a přežívání štěpů po transplantaci ledvin u dětí.

V první části se tato práce zabývala studií asociací mezi proteinurií 1 rok po transplantaci ledviny na přežívání štěpů i pacientů transplantovaných v transplantačním centru Fakultní nemocnice v Motole mezi lety 1997 až 2007. Vstupní kritéria byla funkční štěp 1 rok po transplantaci ledviny; dostupnost dat v dokumentaci a nepřítomnost rekurence fokálně-segmentální glomerulosklerózy ve štěpu. Patologická proteinurie byla definována indexem celková bílkovina ke kreatininu v moči $> 30 \text{ mg/mmol}$. Výskyt patologické proteinurie byl v analyzovaném souboru 35 %, což odpovídá udávanému výskytu proteinurie po transplantaci ledviny v literatuře. Při analýze vstupních charakteristik souboru byl ve skupině s patologickou proteinurií 1 rok po transplantaci ledviny statisticky významně vyšší počet příjemců ledviny ženského pohlaví a statisticky významně vyšší počet pacientů léčených ACE inhibitory nebo blokátory angiotenzinového receptoru. Bylo prokázáno statisticky významně horší 5leté přežívání pacientů s patologickou proteinurií 1 rok po transplantaci ledviny oproti skupině bez patologické proteinurie (77 % vs 100 %, $p < 0,001$). Pomocí univariální Coxovy regresní analýzy byly během sledování v prvním roce identifikovány tyto rizikové faktory pro pozdější selhání štěpu: přítomnost akutní kortikosenzitivní i kortikorezistentní rejekce, velikost proteinurie, snížená renální funkce. Pomocí multivariální regresní analýzy byly v prvním roce po transplantaci ledviny identifikovány jako rizikové faktory pro budoucí selhání štěpu přítomnost akutní rejekce a velikost proteinurie v prvním roce. Během sledování po prvním roce po transplantaci ledviny byly pomocí univariální Coxovy regresní analýzy identifikovány tyto rizikové faktory pro pozdější selhání štěpu: přítomnost akutní kortikorezistentní rejekce a chronické rejekce, snížená glomerulární filtrace ve 3. a 4. roce po transplantaci a v posledním roce sledování, snížená renální funkce. Pomocí multivariální regresní analýzy byly během sledování po prvním roce po transplantaci ledviny identifikovány tyto rizikové faktory pro budoucí selhání štěpu: glomerulární filtrace ve 3. roce po transplantaci, přítomnost akutní kortikorezistentní rejekce, přítomnost chronické rejekce a snížená glomerulární filtrace v posledním roce sledování. Nebyl nalezen statisticky významný rozdíl v četnosti jednotlivých histologických kategorií mezi skupinou s patologickou proteinurií a bez patologické proteinurie. Nejčastějším histologickým nálezem ve skupině pacientů s patologickou proteinurií byla chronická rejekce. Při analýze histologických výsledků štěpů selhaných během sledování byla nalezena chronická rejekce u 63 % pacientů,

akutní rejekce u 25 % pacientů, rekurence primárního onemocnění ledvin (tubulointersticiální glomerulonefritidy) u 12 % pacientů. Při analýze přežívání pacientů nebyl nalezen statisticky významný rozdíl v 5letém přežívání mezi skupinou s patologickou proteinurií a bez patologické proteinurie (100 % vs. 98 %; $p = 0,463$). Tato studie potvrzuje závěry studií u dospělých pacientů o vlivu proteinurie na přežívání štěpů. I relativně mírná proteinurie 1 rok po transplantaci ledviny je významným rizikovým faktorem pro přežívání štěpu. Závěr této studie má praktické využití v klinické medicíně, kdy relativně jednoduchý biochemický test, jakým je stanovení proteinurie, může vyselektovat rizikovou skupinu pacientů po transplantaci ledviny.

Druhá část této práce byla zaměřena na vztah mezi časným zahájením léčby rekurence fokálně-segmentální glomerulosklerózy pomocí plazmaferézy/imunoadsorpcie a úspěšností navození remise a též vlivem na dlouhodobé přežívání štěpů. Byla analyzována data u dětských pacientů transplantovaných ve Fakultní nemocnici v Motole v období 2001 až 2010, u kterých došlo k rekurenci fokálně-segmentální glomerulosklerózy. Výskyt rekurence FSGS v našem souboru byl 45 % ze všech pacientů se základním onemocněním FSGS a 71% z pacientů bez prokázané genetické příčiny FSGS. Pravděpodobnost dosažení remise nefrotické proteinurie měla souvislost s velikostí časového intervalu mezi nástupem nefrotické proteinurie a zahájením léčby plazmaferézou nebo imunoadsorpcí. K remisi došlo u všech tří pacientů, u kterých byla zahájena léčba plazmaferézou nebo imunoadsorpcí v krátkém časovém intervalu 3 – 7 dní po diagnóze rekurence fokálně-segmentální glomerulosklerózy. U dvou pacientů, u kterých byla léčba zahájena 3 dny po diagnóze, došlo k časné remisi po 3 – 4 týdnech po zahájení léčby plazmaferézou. Třetí pacient, u kterého byla zahájena léčba 7 dní po diagnóze rekurence fokálně-segmentální glomerulosklerózy, byla dosažena kompletní remise po 6 měsících léčby. U všech pacientů bylo dosaženo dlouhodobé remise, u pacientů 3 a 5 bylo dosaženo kompletní remise, u pacienta 2 bylo dosaženo parciální remise. Další dva pacienti s dlouhým intervalem mezi diagnózou rekurence FSGS a zahájením léčby (časový interval 14 a 406 dnů) nedosáhli dlouhodobé remise, přičemž pacient 1 nedosáhl remise vůbec a pacient 4 dosáhl pouze krátkodobé parciální remise. U obou dvou pacientů, u nichž nedošlo k dlouhodobé remisi, došlo k rozvoji konečného stádia ledvinného onemocnění a ztrátě štěpu za 1 rok resp. 6,7 roku po transplantaci ledviny. Naopak pacienti, kteří dosáhli alespoň parciální dlouhodobé remise, měli na konci sledování uspokojivou funkci štěpu. Všichni tři pacienti však byli závislí na chronické léčbě plazmaferézou nebo imunoadsorpcí. Intervaly mezi jednotlivými sezeními byly nastaveny na maximální možnou

dobu, při které ještě nedocházelo k rekurenci proteinurie. Také tato část práce má přínos též pro klinickou praxi, protože dokládá důležitost včasné diagnózy rekurence fokálně-segmentální glomerulosklerózy, která se manifestuje nefrotickou proteinurií, i když zpočátku ještě bez histologických změn charakteristických pro tuto klinickou jednotku. Včasná diagnóza a okamžité zahájení léčby plazmaferézou nebo imunoadsorpcí zvyšuje pravděpodobnost rychlého nástupu remise a z dlouhodobého hlediska i lepšího přežívání štěpu. Proto je u pacientů s primární diagnózou FSGS doporučováno provedení bilaterální nefrektomie před plánovanou transplantací ledviny, kdy je pak možné snadno diagnostikovat vzestup proteinurie v rámci rekurence FSGS a odlišit tak od proteinurie v rámci reziduální diurézy původních ledvin.

6. SOUHRN:

Tématem této práce byla asociace mezi proteinurií a přežíváním štěpů u dětských pacientů po transplantaci ledviny.

V první části této práce bylo retrospektivně analyzováno všech 91 dětských pacientů transplantovaných v Transplantačním centru FN v Motole v období let 1997 až 2007. Vstupní kritéria byla: funkční štěp 1 rok po transplantaci ledviny, dostupnost dat v průběhu sledování a nepřítomnost rekurence fokálně-segmentální glomerulosklerózy. Finální soubor obsahoval 75 pacientů. Proteinurie vyjádřená indexem bílkovina/kreatinin v moči vyšší než 30 mg/mmol byla považována za patologickou. Retrospektivně byly analyzovány demografické charakteristiky, data o proteinurii nebo funkci štěpu a výsledky renálních biopsií. Patologická proteinurie 1 rok po transplantaci ledviny byla nalezena u 26 (35 %) pacientů. 5leté přežívání štěpů bylo signifikantně nižší ve skupině pacientů s patologickou proteinurií 1 rok po transplantaci ledviny ($p < 0.001$). 1 rok po transplantaci ledviny byly identifikovány tyto rizikové faktory pro budoucí selhání štěpu: přítomnost patologické proteinurie, přítomnost akutní a kortikorezistentní rejeckce a snížená funkce štěpu. Při multivariantní analýze zůstaly jako rizikové faktory pro budoucí selhání štěpu patologická proteinurie a akutní rejeckce. Nebyl nalezen statisticky významný rozdíl v četnosti jednotlivých histologických nálezů mezi skupinou s patologickou proteinurií a bez patologické proteinurie. Nejčastějším histologickým nálezem ve skupině s patologickou proteinurií a u selhaných štěpů byla chronická rejeckce. Výsledky studie potvrzují, že patologická proteinurie po transplantaci ledviny je důležitým prognostickým faktorem přežívání štěpu u dětí.

Druhá část studie byla zaměřená na asociaci mezi včasnou léčbou rekurence fokálně-segmentální glomerulosklerózy po transplantaci ledviny a navozením remise proteinurie vedoucímu k lepšímu přežívání štěpu. V období let 2000 až 2010 bylo v Transplantačním centru FN v Motole transplantováno 11 dětí se základní diagnózou fokálně-segmentální glomerulosklerózy. K rekurenci FSGS po transplantaci došlo u 5 (45 %) pacientů. Všichni pacienti s rekurencí FSGS byli léčeni plazmaferézou nebo imunoadsorpcí. K remisi proteinurie došlo u všech 3 pacientů, u kterých byla zahájena léčba 3 – 7 dní po rozvoji nefrotické proteinurie, přičemž funkce štěpu na konci sledování byla uspokojivá. U dvou pacientů s dlouhým intervalem mezi rozvojem nefrotické proteinurie a zahájením léčby (14 a 406 dní) nebylo dosaženo remise a později došlo k selhání štěpu. Výsledky prezentovaných pacientů ukazují, že pravděpodobnost dosažení remise a přežívání štěpu při rekurenci FSGS závisí na včasném zahájení léčby plazmaferézou nebo imunoadsorpcí.

7. SUMMARY:

The topic of this study was the association between proteinuria and graft survival after renal transplantation in children.

In the first part of this study all 91 children transplanted in the Transplant center of the University Hospital Prague-Motol between the years 1997 and 2007 were retrospectively screened. The inclusion criteria were: a functioning graft 1 year posttransplant, the presence of data and no recurrence of FSGS. The final cohort included 75 patients. Proteinuria was considered pathological if the index protein/creatinine was more than 30 mg/mmol Cr. Demographic characteristics, data on proteinuria, eGFR and the results of renal biopsies were collected. Pathological proteinuria 1 year posttransplant was found in 26 (35%) patients. 5-year graft survival in proteinuric group was significantly lower than in non-proteinuric group ($p < 0.001$). The univariate analysis showed that the significant risk factors 1 year posttransplant related to decreased graft survival were acute and corticoreistant rejection, increased proteinuria and decreased eGFR. The multivariate analysis showed that the only significant risk factors were acute rejection and increased proteinuria. The most frequent histologic finding in the proteinuric group as well as in grafts lost during follow-up was chronic rejection. This part of the study emphasizes the importance of proteinuria as a prognostic factor of renal allograft survival in children.

The second part of this study was focused on the association between early treatment of recurrence of primary focal-segmental glomerulosclerosis (FSGS) after renal transplantation in children and the probability of achieving remission and long-term graft survival. Between the years 2000 and 2010 there were 11 children transplanted with primary diagnosis of focal-segmental glomerulosclerosis in the Transplant center of the University Hospital Prague-Motol. The recurrence of FSGS was found in 5 (45 %) patients. All patients were treated with plasma exchange (PE) and immunoadsorption (IA). Remission occurred in all three patients who started PE/IA in interval 3-7 days after diagnosis of recurrence of FSGS and all of these patients still had a functioning graft at the end of follow-up. The remaining two patients with 14 and 406 days of delay to PE/IA treatment did not achieve a sustainable remission for a long time and developed end-stage renal disease with graft loss. The results suggest that if recurrence of FSGS occurs, the probability of achieving remission is dependent on the early initiation of PE/IA therapy.

8. Literatura:

1. Johnson CA, Levey AS, Coresh J, Levin A, Lau J, Eknoyan G (2004) Clinical practice guidelines for chronic kidney disease in adults: Part I. Definition, disease stages, evaluation, treatment, and risk factors. *Am Fam Physician* 70:869-876.
2. Iseki K, Ikemiya Y, Iseki C, Takishita S (2003) Proteinuria and the risk of developing end-stage renal disease. *Kidney international* 63:1468-1474.
3. Fernandez-Fresnedo G, Escallada R, Rodrigo E, De Francisco AL, Cotorruelo JG, Sanz De Castro S, Zubimendi JA, Ruiz JC, Arias M (2002) The risk of cardiovascular disease associated with proteinuria in renal transplant patients. *Transplantation* 73:1345-1348.
4. Fernandez-Fresnedo G, Plaza JJ, Sanchez-Plumed J, Sanz-Guajardo A, Palomar-Fontanet R, Arias M (2004) Proteinuria: a new marker of long-term graft and patient survival in kidney transplantation. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 19 Suppl 3:iii47-51.
5. Sancho A, Gavela E, Avila A, Morales A, Fernandez-Najera JE, Crespo JF, Pallardo LM (2007) Risk factors and prognosis for proteinuria in renal transplant recipients. *Transplantation proceedings* 39:2145-2147.
6. Halimi JM, Buchler M, Al-Najjar A, Laouad I, Chatelet V, Marliere JF, Nivet H, Lebranchu Y (2007) Urinary albumin excretion and the risk of graft loss and death in proteinuric and non-proteinuric renal transplant recipients. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 7:618-625.
7. Amer H, Fidler ME, Myslak M, Morales P, Kremers WK, Larson TS, Stegall MD, Cosio FG (2007) Proteinuria after kidney transplantation, relationship to allograft histology and survival. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 7:2748-2756.
8. Yildiz A, Erkoc R, Sever MS, Turkmen A, Ecdar ST, Turk S, Kilicarslan I, Ark E (1999) The prognostic importance of severity and type of post-transplant proteinuria. *Clinical transplantation* 13:241-244.
9. Toblli JE, Bevione P, Di Gennaro F, Madalena L, Cao G, Angerosa M (2012) Understanding the mechanisms of proteinuria: therapeutic implications. *International journal of nephrology* 2012:546039.
10. Eremina V, Quaggin SE (2004) The role of VEGF-A in glomerular development and function. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 13:9-15.
11. Pries AR, Secomb TW, Gaehtgens P (2000) The endothelial surface layer. *Pflugers Arch* 440:653-666.
12. Jeansson M, Bjorck K, Tenstad O, Haraldsson B (2009) Adriamycin alters glomerular endothelium to induce proteinuria. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 20:114-122.
13. Jeansson M, Haraldsson B (2006) Morphological and functional evidence for an important role of the endothelial cell glycocalyx in the glomerular barrier. *American journal of physiology Renal physiology* 290:F111-116.
14. Hudson BG, Reeders ST, Tryggvason K (1993) Type IV collagen: structure, gene organization, and role in human diseases. *Molecular basis of Goodpasture and Alport syndromes and diffuse leiomyomatosis. The Journal of biological chemistry* 268:26033-26036.

15. Hudson BG, Tryggvason K, Sundaramoorthy M, Neilson EG (2003) Alport's syndrome, Goodpasture's syndrome, and type IV collagen. *N Engl J Med* 348:2543-2556.
16. Barker DF, Hostikka SL, Zhou J, Chow LT, Oliphant AR, Gerken SC, Gregory MC, Skolnick MH, Atkin CL, Tryggvason K (1990) Identification of mutations in the COL4A5 collagen gene in Alport syndrome. *Science* 248:1224-1227.
17. Kanwar YS, Linker A, Farquhar MG (1980) Increased permeability of the glomerular basement membrane to ferritin after removal of glycosaminoglycans (heparan sulfate) by enzyme digestion. *J Cell Biol* 86:688-693.
18. Vernier RL, Klein DJ, Sisson SP, Mahan JD, Oegema TR, Brown DM (1983) Heparan sulfate--rich anionic sites in the human glomerular basement membrane. Decreased concentration in congenital nephrotic syndrome. *N Engl J Med* 309:1001-1009.
19. Tryggvason K, Patrakka J, Wartiovaara J (2006) Hereditary proteinuria syndromes and mechanisms of proteinuria. *N Engl J Med* 354:1387-1401.
20. Kestila M, Lenkkeri U, Mannikko M, Lamerdin J, McCready P, Putaala H, Ruotsalainen V, Morita T, Nissinen M, Herva R, Kashtan CE, Peltonen L, Holmberg C, Olsen A, Tryggvason K (1998) Positionally cloned gene for a novel glomerular protein--nephrin--is mutated in congenital nephrotic syndrome. *Mol Cell* 1:575-582.
21. Ruotsalainen V, Ljungberg P, Wartiovaara J, Lenkkeri U, Kestila M, Jalanko H, Holmberg C, Tryggvason K (1999) Nephrin is specifically located at the slit diaphragm of glomerular podocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96:7962-7967.
22. Putaala H, Soininen R, Kilpelainen P, Wartiovaara J, Tryggvason K (2001) The murine nephrin gene is specifically expressed in kidney, brain and pancreas: inactivation of the gene leads to massive proteinuria and neonatal death. *Hum Mol Genet* 10:1-8.
23. Tryggvason K (1999) Unraveling the mechanisms of glomerular ultrafiltration: nephrin, a key component of the slit diaphragm. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 10:2440-2445.
24. Verma R, Wharram B, Kovari I, Kunkel R, Nihalani D, Wary KK, Wiggins RC, Killen P, Holzman LB (2003) Fyn binds to and phosphorylates the kidney slit diaphragm component Nephrin. *The Journal of biological chemistry* 278:20716-20723.
25. Roselli S, Gribouval O, Boute N, Sich M, Benessy F, Attie T, Gubler MC, Antignac C (2002) Podocin localizes in the kidney to the slit diaphragm area. *The American journal of pathology* 160:131-139.
26. Boute N, Gribouval O, Roselli S, Benessy F, Lee H, Fuchshuber A, Dahan K, Gubler MC, Niaudet P, Antignac C (2000) NPHS2, encoding the glomerular protein podocin, is mutated in autosomal recessive steroid-resistant nephrotic syndrome. *Nature genetics* 24:349-354.
27. Schwarz K, Simons M, Reiser J, Saleem MA, Faul C, Kriz W, Shaw AS, Holzman LB, Mundel P (2001) Podocin, a raft-associated component of the glomerular slit diaphragm, interacts with CD2AP and nephrin. *J Clin Invest* 108:1621-1629.
28. Roselli S, Heidet L, Sich M, Henger A, Kretzler M, Gubler MC, Antignac C (2004) Early glomerular filtration defect and severe renal disease in podocin-deficient mice. *Molecular and cellular biology* 24:550-560.
29. Gerke P, Huber TB, Sellin L, Benzing T, Walz G (2003) Homodimerization and heterodimerization of the glomerular podocyte proteins nephrin and NEPH1. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 14:918-926.
30. Huber TB, Kottgen M, Schilling B, Walz G, Benzing T (2001) Interaction with podocin facilitates nephrin signaling. *The Journal of biological chemistry* 276:41543-41546.

31. Kim JM, Wu H, Green G, Winkler CA, Kopp JB, Miner JH, Unanue ER, Shaw AS (2003) CD2-associated protein haploinsufficiency is linked to glomerular disease susceptibility. *Science* 300:1298-1300.
32. Shih NY, Li J, Karpitskii V, Nguyen A, Dustin ML, Kanagawa O, Miner JH, Shaw AS (1999) Congenital nephrotic syndrome in mice lacking CD2-associated protein. *Science* 286:312-315.
33. Lowik MM, Groenen PJ, Pronk I, Lilien MR, Goldschmeding R, Dijkman HB, Levtchenko EN, Monnens LA, van den Heuvel LP (2007) Focal segmental glomerulosclerosis in a patient homozygous for a CD2AP mutation. *Kidney international* 72:1198-1203.
34. Huber TB, Schmidts M, Gerke P, Schermer B, Zahn A, Hartleben B, Sellin L, Walz G, Benzing T (2003) The carboxyl terminus of Neph family members binds to the PDZ domain protein zonula occludens-1. *The Journal of biological chemistry* 278:13417-13421.
35. Riccio A, Medhurst AD, Mattei C, Kelsell RE, Calver AR, Randall AD, Benham CD, Pangalos MN (2002) mRNA distribution analysis of human TRPC family in CNS and peripheral tissues. *Brain Res Mol Brain Res* 109:95-104.
36. Winn MP, Conlon PJ, Lynn KL, Farrington MK, Creazzo T, Hawkins AF, Daskalakis N, Kwan SY, Ebersviller S, Burchette JL, Pericak-Vance MA, Howell DN, Vance JM, Rosenberg PB (2005) A mutation in the TRPC6 cation channel causes familial focal segmental glomerulosclerosis. *Science* 308:1801-1804.
37. Inoue T, Yaoita E, Kurihara H, Shimizu F, Sakai T, Kobayashi T, Ohshiro K, Kawachi H, Okada H, Suzuki H, Kihara I, Yamamoto T (2001) FAT is a component of glomerular slit diaphragms. *Kidney international* 59:1003-1012.
38. Ciani L, Patel A, Allen ND, French-Constant C (2003) Mice lacking the giant protocadherin mFAT1 exhibit renal slit junction abnormalities and a partially penetrant cyclopia and anophthalmia phenotype. *Molecular and cellular biology* 23:3575-3582.
39. Rumley A (2000) Urine dipstick testing: comparison of results obtained by visual reading and with the Bayer CLINITEK 50. *Ann Clin Biochem* 37 (Pt 2):220-221.
40. (2002) K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation* 39:S1-266.
41. Gorriz JL, Martinez-Castelao A (2012) Proteinuria: detection and role in native renal disease progression. *Transplant Rev (Orlando)* 26:3-13.
42. Chung J, Park SK, Park JS, Kim SC, Han DJ, Yu E (2000) Glomerulonephritis is the major cause of proteinuria in renal transplant recipients: histopathologic findings of renal allografts with proteinuria. *Clinical transplantation* 14:499-504.
43. Halimi JM, Laouad I, Buchler M, Al-Najjar A, Chatelet V, Houssaini TS, Nivet H, Lebranchu Y (2005) Early low-grade proteinuria: causes, short-term evolution and long-term consequences in renal transplantation. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 5:2281-2288.
44. Kim HC, Park SB, Lee SH, Park KK, Park CH, Cho WH (1994) Proteinuria in renal transplant recipients: incidence, cause, and prognostic importance. *Transplantation proceedings* 26:2134-2135.
45. Park JH, Bok HJ, Kim BS, Yang CW, Kim YS, Kim SY, Moon IS, Koh YB, Bang BK (2000) Persistent proteinuria as a prognostic factor for determining long-term graft survival in renal transplant recipients. *Transplantation proceedings* 32:1924.

46. Vathsala A, Verani R, Schoenberg L, Lewis RM, Van Buren CT, Kerman RH, Kahan BD (1990) Proteinuria in cyclosporine-treated renal transplant recipients. *Transplantation* 49:35-41.
47. Ibis A, Altunoglu A, Akgul A, Usluogullari CA, Arat Z, Ozdemir FN, Haberal M (2007) Early onset proteinuria after renal transplantation: a marker for allograft dysfunction. *Transplantation proceedings* 39:938-940.
48. Roodnat JJ, Mulder PG, Rischen-Vos J, van Riemsdijk IC, van Gelder T, Zietse R, JN IJ, Weimar W (2001) Proteinuria after renal transplantation affects not only graft survival but also patient survival. *Transplantation* 72:438-444.
49. Seeman T, Simkova E, Kreisinger J, Vondrak K, Dusek J, Dvorak P, Janda J (2005) Proteinuria in children after renal transplantation. *Transplantation proceedings* 37:4282-4283.
50. Seeman T, Dusek J, Vondrak K, Spatenka J, Feber J (2009) Profiling proteinuria in children after renal transplantation. *Pediatr Nephrol* 24:2439-2444.
51. Seeman T (2015) Management of proteinuria in the transplanted patient. *Pediatr Nephrol* 30:889-903.
52. Johnson CA, Levey AS, Coresh J, Levin A, Lau J, Eknoyan G (2004) Clinical practice guidelines for chronic kidney disease in adults: Part II. Glomerular filtration rate, proteinuria, and other markers. *Am Fam Physician* 70:1091-1097.
53. Schaub S, Mayr M, Honger G, Bestland J, Steiger J, Regeniter A, Mihatsch MJ, Wilkins JA, Rush D, Nickerson P (2007) Detection of subclinical tubular injury after renal transplantation: comparison of urine protein analysis with allograft histopathology. *Transplantation* 84:104-112.
54. Teppo AM, Honkanen E, Finne P, Tornroth T, Gronhagen-Riska C (2004) Increased urinary excretion of alpha1-microglobulin at 6 months after transplantation is associated with urinary excretion of transforming growth factor-beta1 and indicates poor long-term renal outcome. *Transplantation* 78:719-724.
55. Ponticelli C (2010) Recurrence of focal segmental glomerular sclerosis (FSGS) after renal transplantation. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 25:25-31.
56. D'Agati VD, Kaskel FJ, Falk RJ (2011) Focal segmental glomerulosclerosis. *N Engl J Med* 365:2398-2411.
57. Cravedi P, Kopp JB, Remuzzi G (2013) Recent progress in the pathophysiology and treatment of FSGS recurrence. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 13:266-274.
58. Cochat P, Fargue S, Mestrallet G, Jungraithmayr T, Koch-Nogueira P, Ranchin B, Zimmerhackl LB (2009) Disease recurrence in paediatric renal transplantation. *Pediatr Nephrol* 24:2097-2108.
59. Cameron JS, Senguttuvan P, Hartley B, Rigden SP, Chantler C, Koffman G, Williams DG, Ogg CS (1989) Focal segmental glomerulosclerosis in fifty-nine renal allografts from a single centre; analysis of risk factors for recurrence. *Transplantation proceedings* 21:2117-2118.
60. Dantal J, Baatard R, Hourmant M, Cantarovich D, Buzelin F, Souillou JP (1991) Recurrent nephrotic syndrome following renal transplantation in patients with focal glomerulosclerosis. A one-center study of plasma exchange effects. *Transplantation* 52:827-831.
61. Ingulli E, Tejani A (1991) Incidence, treatment, and outcome of recurrent focal segmental glomerulosclerosis posttransplantation in 42 allografts in children--a single-center experience. *Transplantation* 51:401-405.

62. Dantal J, Souillou JP (1996) Relapse of focal segmental glomerulosclerosis after kidney transplantation. *Adv Nephrol Necker Hosp* 25:91-106.
63. Tejani A, Stablein DH (1992) Recurrence of focal segmental glomerulosclerosis posttransplantation: a special report of the North American Pediatric Renal Transplant Cooperative Study. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2:S258-263.
64. Artero ML, Sharma R, Savin VJ, Vincenti F (1994) Plasmapheresis reduces proteinuria and serum capacity to injure glomeruli in patients with recurrent focal glomerulosclerosis. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation* 23:574-581.
65. Pardon A, Audard V, Caillard S, Moulin B, Desvaux D, Bentaarit B, Remy P, Sahali D, Roudot-Thoraval F, Lang P, Grimbert P (2006) Risk factors and outcome of focal and segmental glomerulosclerosis recurrence in adult renal transplant recipients. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 21:1053-1059.
66. Beck LH, Jr., Bonogio RG, Lambeau G, Beck DM, Powell DW, Cummins TD, Klein JB, Salant DJ (2009) M-type phospholipase A2 receptor as target antigen in idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med* 361:11-21.
67. Sprangers B, Lefkowitz GI, Cohen SD, Stokes MB, Valeri A, Appel GB, Kunis CL (2010) Beneficial effect of rituximab in the treatment of recurrent idiopathic membranous nephropathy after kidney transplantation. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN* 5:790-797.
68. Dabade TS, Grande JP, Norby SM, Fervenza FC, Cosio FG (2008) Recurrent idiopathic membranous nephropathy after kidney transplantation: a surveillance biopsy study. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 8:1318-1322.
69. Cosyns JP, Couchoud C, Pouteil-Noble C, Squifflet JP, Pirson Y (1998) Recurrence of membranous nephropathy after renal transplantation: probability, outcome and risk factors. *Clin Nephrol* 50:144-153.
70. El-Zoghby ZM, Grande JP, Fraile MG, Norby SM, Fervenza FC, Cosio FG (2009) Recurrent idiopathic membranous nephropathy: early diagnosis by protocol biopsies and treatment with anti-CD20 monoclonal antibodies. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 9:2800-2807.
71. Sprangers B, Kuypers DR (2013) Recurrence of glomerulonephritis after renal transplantation. *Transplant Rev (Orlando)* 27:126-134.
72. Ponticelli C, Glassock RJ (2012) De novo membranous nephropathy (MN) in kidney allografts. A peculiar form of alloimmune disease? *Transpl Int* 25:1205-1210.
73. Poduval RD, Josephson MA, Javaid B (2003) Treatment of de novo and recurrent membranous nephropathy in renal transplant patients. *Semin Nephrol* 23:392-399.
74. Truong L, Gelfand J, D'Agati V, Tomaszewski J, Appel G, Hardy M, Pirani CL (1989) De novo membranous glomerulonephropathy in renal allografts: a report of ten cases and review of the literature. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation* 14:131-144.
75. Chan KW, Chan GS, Tang S (2005) Glomerular pathology of allograft kidneys in Hong Kong. *Transplantation proceedings* 37:4293-4296.
76. Sethi S, Fervenza FC (2012) Membranoproliferative glomerulonephritis--a new look at an old entity. *N Engl J Med* 366:1119-1131.
77. Braun MC, Stablein DM, Hamiwka LA, Bell L, Bartosh SM, Strife CF (2005) Recurrence of membranoproliferative glomerulonephritis type II in renal allografts: The

- North American Pediatric Renal Transplant Cooperative Study experience. *Journal of the American Society of Nephrology* : JASN 16:2225-2233.
78. Smith RJ, Alexander J, Barlow PN, Botto M, Cassavant TL, Cook HT, de Cordoba SR, Hageman GS, Jokiranta TS, Kimberling WJ, Lambris JD, Lanning LD, Levidiotis V, Licht C, Lutz HU, Meri S, Pickering MC, Quigg RJ, Rops AL, Salant DJ, Sethi S, Thurman JM, Tully HF, Tully SP, van der Vlag J, Walker PD, Wurzner R, Zipfel PF (2007) New approaches to the treatment of dense deposit disease. *Journal of the American Society of Nephrology* : JASN 18:2447-2456.
 79. Zuber J, Le Quintrec M, Krid S, Bertoye C, Gueutin V, Lahoche A, Heyne N, Ardissino G, Chatelet V, Noel LH, Hourmant M, Niaudet P, Fremeaux-Bacchi V, Rondeau E, Legendre C, Loirat C (2012) Eculizumab for atypical hemolytic uremic syndrome recurrence in renal transplantation. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 12:3337-3354.
 80. Krid S, Roumenina LT, Beury D, Charbit M, Boyer O, Fremeaux-Bacchi V, Niaudet P (2012) Renal transplantation under prophylactic eculizumab in atypical hemolytic uremic syndrome with CFH/CFHR1 hybrid protein. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 12:1938-1944.
 81. Nester C, Stewart Z, Myers D, Jetton J, Nair R, Reed A, Thomas C, Smith R, Brophy P (2011) Pre-emptive eculizumab and plasmapheresis for renal transplant in atypical hemolytic uremic syndrome. *Clinical journal of the American Society of Nephrology* : CJASN 6:1488-1494.
 82. Kamar N, Ribes D, Izopet J, Rostaing L (2006) Treatment of hepatitis C virus infection (HCV) after renal transplantation: implications for HCV-positive dialysis patients awaiting a kidney transplant. *Transplantation* 82:853-856.
 83. Rostaing L, Weclawiak H, Izopet J, Kamar N (2012) Treatment of hepatitis C virus infection after kidney transplantation. *Contrib Nephrol* 176:87-96.
 84. Wyatt RJ, Julian BA (2013) IgA nephropathy. *N Engl J Med* 368:2402-2414.
 85. Ponticelli C, Traversi L, Banfi G (2004) Renal transplantation in patients with IgA mesangial glomerulonephritis. *Pediatric transplantation* 8:334-338.
 86. Ponticelli C, Traversi L, Feliciani A, Cesana BM, Banfi G, Tarantino A (2001) Kidney transplantation in patients with IgA mesangial glomerulonephritis. *Kidney international* 60:1948-1954.
 87. Chailimpamontree W, Dmitrienko S, Li G, Balshaw R, Magil A, Shapiro RJ, Landsberg D, Gill J, Keown PA (2009) Probability, predictors, and prognosis of posttransplantation glomerulonephritis. *Journal of the American Society of Nephrology* : JASN 20:843-851.
 88. Andresdottir MB, Haasnoot GW, Persijn GG, Claas FH (2009) HLA-B8, DR3: a new risk factor for graft failure after renal transplantation in patients with underlying immunoglobulin A nephropathy. *Clinical transplantation* 23:660-665.
 89. Mulay AV, van Walraven C, Knoll GA (2009) Impact of immunosuppressive medication on the risk of renal allograft failure due to recurrent glomerulonephritis. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 9:804-811.
 90. Weening JJ, D'Agati VD, Schwartz MM, Seshan SV, Alpers CE, Appel GB, Balow JE, Bruijn JA, Cook T, Ferrario F, Fogo AB, Ginzler EM, Hebert L, Hill G, Hill P, Jennette JC, Kong NC, Lesavre P, Lockshin M, Looi LM, Makino H, Moura LA, Nagata M (2004) The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited. *Journal of the American Society of Nephrology* : JASN 15:241-250.

91. Moroni G, Ventura D, Riva P, Panzeri P, Quaglini S, Banfi G, Simonini P, Bader R, Meroni PL, Ponticelli C (2004) Antiphospholipid antibodies are associated with an increased risk for chronic renal insufficiency in patients with lupus nephritis. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation* 43:28-36.
92. Moroni G, Tantardini F, Gallelli B, Quaglini S, Banfi G, Poli F, Montagnino G, Meroni P, Messa P, Ponticelli C (2005) The long-term prognosis of renal transplantation in patients with lupus nephritis. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation* 45:903-911.
93. Goral S, Ynares C, Shappell SB, Snyder S, Feurer ID, Kazancioglu R, Fogo AB, Helderman JH (2003) Recurrent lupus nephritis in renal transplant recipients revisited: it is not rare. *Transplantation* 75:651-656.
94. Norby GE, Strom EH, Midtvedt K, Hartmann A, Gilboe IM, Leivestad T, Stenstrom J, Holdaas H (2010) Recurrent lupus nephritis after kidney transplantation: a surveillance biopsy study. *Ann Rheum Dis* 69:1484-1487.
95. Grimbert P, Frappier J, Bedrossian J, Legendre C, Antoine C, Hiesse C, Bitker MO, Sraer JD, Lang P (1998) Long-term outcome of kidney transplantation in patients with systemic lupus erythematosus: a multicenter study. *Groupe Cooperatif de Transplantation d'ile de France. Transplantation* 66:1000-1003.
96. Contreras G, Mattiazzi A, Guerra G, Ortega LM, Tozman EC, Li H, Tamariz L, Carvalho C, Kupin W, Ladino M, LeClercq B, Jaraba I, Carvalho D, Carles E, Roth D (2010) Recurrence of lupus nephritis after kidney transplantation. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 21:1200-1207.
97. Burgos PI, Perkins EL, Pons-Estel GJ, Kendrick SA, Liu JM, Kendrick WT, Cook WJ, Julian BA, Alarcon GS, Kew CE, 2nd (2009) Risk factors and impact of recurrent lupus nephritis in patients with systemic lupus erythematosus undergoing renal transplantation: data from a single US institution. *Arthritis Rheum* 60:2757-2766.
98. Noris M, Remuzzi G (2010) Thrombotic microangiopathy after kidney transplantation. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 10:1517-1523.
99. Bresin E, Daina E, Noris M, Castelletti F, Stefanov R, Hill P, Goodship TH, Remuzzi G (2006) Outcome of renal transplantation in patients with non-Shiga toxin-associated hemolytic uremic syndrome: prognostic significance of genetic background. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN* 1:88-99.
100. Noris M, Caprioli J, Bresin E, Mossali C, Pianetti G, Gamba S, Daina E, Fenili C, Castelletti F, Sorosina A, Piras R, Donadelli R, Maranta R, van der Meer I, Conway EM, Zipfel PF, Goodship TH, Remuzzi G (2010) Relative role of genetic complement abnormalities in sporadic and familial aHUS and their impact on clinical phenotype. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN* 5:1844-1859.
101. Lam K, Martlew V, Walkinshaw S, Alfirevic Z, Howse M (2010) Successful management of recurrent pregnancy-related thrombotic thrombocytopenia purpura in a renal transplant recipient. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 25:2378-2380.
102. Jennette JC, Falk RJ, Andrassy K, Bacon PA, Churg J, Gross WL, Hagen EC, Hoffman GS, Hunder GG, Kallenberg CG, et al. (1994) Nomenclature of systemic vasculitides. Proposal of an international consensus conference. *Arthritis Rheum* 37:187-192.
103. Gera M, Griffin MD, Specks U, Leung N, Stegall MD, Fervenza FC (2007) Recurrence of ANCA-associated vasculitis following renal transplantation in the modern era of immunosuppression. *Kidney international* 71:1296-1301.

104. Moroni G, Torri A, Gallelli B, Quaglini S, Pozzi C, Banfi G, Poli F, Montagnino G, Ponticelli C, Messa P (2007) The long-term prognosis of renal transplant in patients with systemic vasculitis. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 7:2133-2139.
105. Wrenger E, Pirsch JD, Cangro CB, D'Alessandro AM, Knechtle SJ, Kalayoglu M, Sollinger HW (1997) Single-center experience with renal transplantation in patients with Wegener's granulomatosis. *Transpl Int* 10:152-156.
106. Geetha D, Seo P, Specks U, Fervenza FC (2007) Successful induction of remission with rituximab for relapse of ANCA-associated vasculitis post-kidney transplant: report of two cases. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 7:2821-2825.
107. Deegens JK, Artz MA, Hoitsma AJ, Wetzels JF (2003) Outcome of renal transplantation in patients with pauci-immune small vessel vasculitis or anti-GBM disease. *Clin Nephrol* 59:1-9.
108. Khandelwal M, McCormick BB, Lajoie G, Sweet J, Cole E, Cattran DC (2004) Recurrence of anti-GBM disease 8 years after renal transplantation. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 19:491-494.
109. Hancock WW, Wang L, Ye Q, Han R, Lee I (2003) Chemokines and their receptors as markers of allograft rejection and targets for immunosuppression. *Curr Opin Immunol* 15:479-486.
110. Hancock WW, Lu B, Gao W, Csizmadia V, Faia K, King JA, Smiley ST, Ling M, Gerard NP, Gerard C (2000) Requirement of the chemokine receptor CXCR3 for acute allograft rejection. *J Exp Med* 192:1515-1520.
111. Hancock WH, Whitley WD, Tullius SG, Heemann UW, Wasowska B, Baldwin WM, 3rd, Tilney NL (1993) Cytokines, adhesion molecules, and the pathogenesis of chronic rejection of rat renal allografts. *Transplantation* 56:643-650.
112. Heinzelmann M, Mercer-Jones MA, Passmore JC (1999) Neutrophils and renal failure. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation* 34:384-399.
113. Diekmann F, Gutierrez-Dalmau A, Lopez S, Cofan F, Esforzado N, Ricart MJ, Rossich E, Saval N, Torregrosa JV, Oppenheimer F, Campistol JM (2007) Influence of sirolimus on proteinuria in de novo kidney transplantation with expanded criteria donors: comparison of two CNI-free protocols. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 22:2316-2321.
114. Saurina A, Campistol JM, Piera C, Diekmann F, Campos B, Campos N, de las Cuevas X, Oppenheimer F (2006) Conversion from calcineurin inhibitors to sirolimus in chronic allograft dysfunction: changes in glomerular haemodynamics and proteinuria. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 21:488-493.
115. van den Akker JM, Wetzels JF, Hoitsma AJ (2006) Proteinuria following conversion from azathioprine to sirolimus in renal transplant recipients. *Kidney international* 70:1355-1357.
116. Letavernier E, Bruneval P, Vandermeersch S, Perez J, Mandet C, Belair MF, Haymann JP, Legendre C, Baud L (2009) Sirolimus interacts with pathways essential for podocyte integrity. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 24:630-638.

117. Oroszlan M, Bieri M, Ligeti N, Farkas A, Meier B, Marti HP, Mohacsi P (2010) Sirolimus and everolimus reduce albumin endocytosis in proximal tubule cells via an angiotensin II-dependent pathway. *Transpl Immunol* 23:125-132.
118. Buscher R, Vester U, Wingen AM, Hoyer PF (2004) Pathomechanisms and the diagnosis of arterial hypertension in pediatric renal allograft recipients. *Pediatr Nephrol* 19:1202-1211.
119. Opelz G, Wujciak T, Ritz E (1998) Association of chronic kidney graft failure with recipient blood pressure. Collaborative Transplant Study. *Kidney international* 53:217-222.
120. Anderson S, Rennke HG, Brenner BM (1986) Therapeutic advantage of converting enzyme inhibitors in arresting progressive renal disease associated with systemic hypertension in the rat. *J Clin Invest* 77:1993-2000.
121. Harrison DG, Marvar PJ, Titze JM (2012) Vascular inflammatory cells in hypertension. *Frontiers in physiology* 3:128.
122. DeMarco VG, Aroor AR, Sowers JR (2014) The pathophysiology of hypertension in patients with obesity. *Nature reviews Endocrinology* 10:364-376.
123. Suarez Fernandez ML, F GC (2011) Causes and consequences of proteinuria following kidney transplantation. *Nefrologia : publicacion oficial de la Sociedad Espanola Nefrologia* 31:404-414.
124. Halbesma N, Kuiken DS, Brantsma AH, Bakker SJ, Wetzels JF, De Zeeuw D, De Jong PE, Gansevoort RT (2006) Macroalbuminuria is a better risk marker than low estimated GFR to identify individuals at risk for accelerated GFR loss in population screening. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 17:2582-2590.
125. Remuzzi G, Bertani T (1998) Pathophysiology of progressive nephropathies. *N Engl J Med* 339:1448-1456.
126. Wright JT, Jr., Bakris G, Greene T, Agodoa LY, Appel LJ, Charleston J, Cheek D, Douglas-Baltimore JG, Gassman J, Glassock R, Hebert L, Jamerson K, Lewis J, Phillips RA, Toto RD, Middleton JP, Rostand SG (2002) Effect of blood pressure lowering and antihypertensive drug class on progression of hypertensive kidney disease: results from the AASK trial. *JAMA* 288:2421-2431.
127. Sato H, Suzuki S, Ueno M, Shimada H, Karasawa R, Nishi S, Arakawa M (1993) Localization of apolipoprotein(a) and B-100 in various renal diseases. *Kidney international* 43:430-435.
128. Van Goor H, Ding G, Kees-Folts D, Grond J, Schreiner GF, Diamond JR (1994) Macrophages and renal disease. *Lab Invest* 71:456-464.
129. Hardwicke J (1970) Proteinuria. *Sci Basis Med Annu Rev*:211-229.
130. Burton C, Harris KP (1996) The role of proteinuria in the progression of chronic renal failure. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation* 27:765-775.
131. Ibsen H, Olsen MH, Wachtell K, Borch-Johnsen K, Lindholm LH, Mogensen CE, Dahlöf B, Devereux RB, de Faire U, Fyhrquist F, Julius S, Kjeldsen SE, Lederballe-Pedersen O, Nieminen MS, Omvik P, Oparil S, Wan Y (2005) Reduction in albuminuria translates to reduction in cardiovascular events in hypertensive patients: losartan intervention for endpoint reduction in hypertension study. *Hypertension* 45:198-202.
132. Knoll GA (2009) Proteinuria in kidney transplant recipients: prevalence, prognosis, and evidence-based management. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation* 54:1131-1144.
133. Peddi VR, Dean DE, Hariharan S, Cavallo T, Schroeder TJ, First MR (1997) Proteinuria following renal transplantation: correlation with histopathology and outcome. *Transplantation proceedings* 29:101-103.

134. Ingulli E, Tejani A, Butt KM, Rajpoot D, Gonzalez R, Pomrantz A, Ettenger R (1990) High-dose cyclosporine therapy in recurrent nephrotic syndrome following renal transplantation. *Transplantation* 49:219-221.
135. Cochat P, Kassir A, Colon S, Glastre C, Tourniaire B, Parchoux B, Martin X, David L (1993) Recurrent nephrotic syndrome after transplantation: early treatment with plasmapheresis and cyclophosphamide. *Pediatr Nephrol* 7:50-54.
136. Laufer J, Ettenger RB, Ho WG, Cohen AH, Marik JL, Fine RN (1988) Plasma exchange for recurrent nephrotic syndrome following renal transplantation. *Transplantation* 46:540-542.
137. Cheong HI, Han HW, Park HW, Ha IS, Han KS, Lee HS, Kim SJ, Choi Y (2000) Early recurrent nephrotic syndrome after renal transplantation in children with focal segmental glomerulosclerosis. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 15:78-81.
138. Dall'Amico R, Ghiggeri G, Carraro M, Artero M, Ghio L, Zamorani E, Zennaro C, Basile G, Montini G, Rivabella L, Cardillo M, Scalapogna M, Ginevri F (1999) Prediction and treatment of recurrent focal segmental glomerulosclerosis after renal transplantation in children. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation* 34:1048-1055.
139. Salomon R, Gagnadoux MF, Niaudet P (2003) Intravenous cyclosporine therapy in recurrent nephrotic syndrome after renal transplantation in children. *Transplantation* 75:810-814.
140. Raafat RH, Kalia A, Travis LB, Diven SC (2004) High-dose oral cyclosporin therapy for recurrent focal segmental glomerulosclerosis in children. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation* 44:50-56.
141. Deegens JK, Andresdottir MB, Croockewit S, Wetzels JF (2004) Plasma exchange improves graft survival in patients with recurrent focal glomerulosclerosis after renal transplant. *Transpl Int* 17:151-157.
142. Valdivia P, Gonzalez Roncero F, Gentil MA, Jimenez F, Algarra G, Pereira P, Rivera M, Suner M, Cabello V, Toro J, Mateos J (2005) Plasmapheresis for the prophylaxis and treatment of recurrent focal segmental glomerulosclerosis following renal transplant. *Transplantation proceedings* 37:1473-1474.
143. Zimmerman SW (1985) Plasmapheresis and dipyridamole for recurrent focal glomerular sclerosis. *Nephron* 40:241-245.
144. Pradhan M, Petro J, Palmer J, Meyers K, Baluarte HJ (2003) Early use of plasmapheresis for recurrent post-transplant FSGS. *Pediatr Nephrol* 18:934-938.
145. Fencf F, Simkova E, Vondrak K, Janda J, Chadimova M, Stejskal J, Seeman T (2007) Recurrence of nephrotic proteinuria in children with focal segmental glomerulosclerosis after renal transplantation treated with plasmapheresis and immunoadsorption: case reports. *Transplantation proceedings* 39:3488-3490.
146. Belson A, Yorgin PD, Al-Uzri AY, Salvatierra O, Higgins J, Alexander SR (2001) Long-term plasmapheresis and protein A column treatment of recurrent FSGS. *Pediatr Nephrol* 16:985-989.
147. Faul C, Donnelly M, Merscher-Gomez S, Chang YH, Franz S, Delfgaauw J, Chang JM, Choi HY, Campbell KN, Kim K, Reiser J, Mundel P (2008) The actin cytoskeleton of kidney podocytes is a direct target of the antiproteinuric effect of cyclosporine A. *Nat Med* 14:931-938.
148. Schwarz A, Krause PH, Offermann G, Keller F (1991) Recurrent and de novo renal disease after kidney transplantation with or without cyclosporine A. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation* 17:524-531.

149. Canaud G, Zuber J, Sberro R, Royale V, Anglicheau D, Snanoudj R, Gaha K, Thervet E, Lefrere F, Cavazzana-Calvo M, Noel LH, Mejean A, Legendre C, Martinez F (2009) Intensive and prolonged treatment of focal and segmental glomerulosclerosis recurrence in adult kidney transplant recipients: a pilot study. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 9:1081-1086.
150. Ransom RF, Lam NG, Hallett MA, Atkinson SJ, Smoyer WE (2005) Glucocorticoids protect and enhance recovery of cultured murine podocytes via actin filament stabilization. *Kidney international* 68:2473-2483.
151. Pescovitz MD, Book BK, Sidner RA (2006) Resolution of recurrent focal segmental glomerulosclerosis proteinuria after rituximab treatment. *N Engl J Med* 354:1961-1963.
152. Fornoni A, Sageshima J, Wei C, Merscher-Gomez S, Aguillon-Prada R, Jauregui AN, Li J, Mattiazzi A, Ciancio G, Chen L, Zilleruelo G, Abitbol C, Chandar J, Seeherunvong W, Ricordi C, Ikehata M, Rastaldi MP, Reiser J, Burke GW, 3rd (2011) Rituximab targets podocytes in recurrent focal segmental glomerulosclerosis. *Science translational medicine* 3:85ra46.
153. Araya CE, Dharnidharka VR (2011) The factors that may predict response to rituximab therapy in recurrent focal segmental glomerulosclerosis: a systematic review. *Journal of transplantation* 2011:374213.
154. Tsagalis G, Psimenou E, Nakopoulou L, Laggouranis A (2011) Combination treatment with plasmapheresis and rituximab for recurrent focal segmental glomerulosclerosis after renal transplantation. *Artif Organs* 35:420-425.
155. Freiberger V, Amann K, Heemann U, Frank H (2009) Effect of a triple blockade of the renin-angiotensin-system in recurrent focal segmental glomerulosclerosis after kidney transplantation. *Transpl Int* 22:1110-1113.
156. Le Berre L, Herve C, Buzelin F, Usal C, Souillou JP, Dantal J (2005) Renal macrophage activation and Th2 polarization precedes the development of nephrotic syndrome in Buffalo/Mna rats. *Kidney international* 68:2079-2090.
157. Bakr A, Shokeir M, El-Chenawi F, El-Husseni F, Abdel-Rahman A, El-Ashry R (2003) Tumor necrosis factor-alpha production from mononuclear cells in nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 18:516-520.
158. Leroy S, Guignon V, Bruckner D, Emal-Aglae V, Deschenes G, Bensman A, Ulinski T (2009) Successful anti-TNFalpha treatment in a child with posttransplant recurrent focal segmental glomerulosclerosis. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 9:858-861.
159. He JC, Lu TC, Fleet M, Sunamoto M, Husain M, Fang W, Neves S, Chen Y, Shankland S, Iyengar R, Klotman PE (2007) Retinoic acid inhibits HIV-1-induced podocyte proliferation through the cAMP pathway. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 18:93-102.
160. Savin VJ, McCarthy ET, Sharma R, Charba D, Sharma M (2008) Galactose binds to focal segmental glomerulosclerosis permeability factor and inhibits its activity. *Translational research : the journal of laboratory and clinical medicine* 151:288-292.
161. De Smet E, Rioux JP, Ammann H, Deziel C, Querin S (2009) FSGS permeability factor-associated nephrotic syndrome: remission after oral galactose therapy. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 24:2938-2940.
162. Canaud G, Martinez F, Noel LH, Mamzer MF, Niaudet P, Legendre C (2010) Therapeutic approach to focal and segmental glomerulosclerosis recurrence in kidney transplant recipients. *Transplant Rev (Orlando)* 24:121-128.

163. Bidani AK, Griffin KA (2002) Long-term renal consequences of hypertension for normal and diseased kidneys. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 11:73-80.
164. Tolins JP, Shultz P, Raij L (1988) Mechanisms of hypertensive glomerular injury. *Am J Cardiol* 62:54G-58G.
165. Bidani AK, Griffin KA (2004) Pathophysiology of hypertensive renal damage: implications for therapy. *Hypertension* 44:595-601.
166. Susic D (2000) Renal protective potential of antihypertensive drugs. Expert opinion on investigational drugs 9:2593-2600.
167. Klein IH, Ligtenberg G, Oey PL, Koomans HA, Blankestijn PJ (2001) Sympathetic activity is increased in polycystic kidney disease and is associated with hypertension. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 12:2427-2433.
168. Grisk O, Rettig R (2004) Interactions between the sympathetic nervous system and the kidneys in arterial hypertension. *Cardiovasc Res* 61:238-246.
169. Joles JA, Koomans HA (2004) Causes and consequences of increased sympathetic activity in renal disease. *Hypertension* 43:699-706.
170. Ritz E, Adamczak M, Zeier M (2003) Kidney and hypertension-causes. Update 2003. *Herz* 28:663-667.
171. Rabelink TJ, Koomans HA (1997) Endothelial function and the kidney. An emerging target for cardiovascular therapy. *Drugs* 53 Suppl 1:11-19.
172. Peterson JC, Adler S, Burkart JM, Greene T, Hebert LA, Hunsicker LG, King AJ, Klahr S, Massry SG, Seifter JL (1995) Blood pressure control, proteinuria, and the progression of renal disease. The Modification of Diet in Renal Disease Study. *Ann Intern Med* 123:754-762.
173. de Zeeuw D, Remuzzi G, Parving HH, Keane WF, Zhang Z, Shahinfar S, Snapinn S, Cooper ME, Mitch WE, Brenner BM (2004) Proteinuria, a target for renoprotection in patients with type 2 diabetic nephropathy: lessons from RENAAL. *Kidney international* 65:2309-2320.
174. Ruggenenti P, Schieppati A, Remuzzi G (2001) Progression, remission, regression of chronic renal diseases. *Lancet* 357:1601-1608.
175. Keane WF, Eknoyan G (1999) Proteinuria, albuminuria, risk, assessment, detection, elimination (PARADE): a position paper of the National Kidney Foundation. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation* 33:1004-1010.
176. Barama AA (2008) Mechanisms and management of proteinuria in kidney transplant patients. *Drugs* 68 Suppl 1:33-39.
177. Lufft V, Kliem V, Hamkens A, Bleck JS, Eisenberger U, Petersen R, Ehlerding G, Maschek H, Pichlmayr R, Brunkhorst R (1998) Antiproteinuric efficacy of foscipril after renal transplantation is determined by the extent of vascular and tubulointerstitial damage. *Clinical transplantation* 12:409-415.
178. Wuhl E, Mehls O, Schaefer F (2004) Antihypertensive and antiproteinuric efficacy of ramipril in children with chronic renal failure. *Kidney international* 66:768-776.
179. Seeman T, Dusek J, Vondrak K, Janda J (2010) Ramipril in the treatment of proteinuria in children after renal transplantation. *Pediatric transplantation* 14:283-287.
180. Calvino J, Lens XM, Romero R, Sanchez-Guisande D (2000) Long-term anti-proteinuric effect of Losartan in renal transplant recipients treated for hypertension. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 15:82-86.
181. Shihab FS, Bennett WM, Tanner AM, Andoh TF (1997) Angiotensin II blockade decreases TGF-beta1 and matrix proteins in cyclosporine nephropathy. *Kidney international* 52:660-673.

182. Nabokov A, Amann K, Gassmann P, Schwarz U, Orth SR, Ritz E (1998) The renoprotective effect of angiotensin-converting enzyme inhibitors in experimental chronic renal failure is not dependent on enhanced kinin activity. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 13:173-176.
183. Ducloux D, Saint-Hillier Y, Chalopin JM (1997) Effect of losartan on haemoglobin concentration in renal transplant recipients--a retrospective analysis. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 12:2683-2686.
184. Dionne JM (2015) Evidence-based guidelines for the management of hypertension in children with chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol* 30:1919-1927.
185. Schwartz GJ, Haycock GB, Edelmann CM, Jr., Spitzer A (1976) A simple estimate of glomerular filtration rate in children derived from body length and plasma creatinine. *Pediatrics* 58:259-263.
186. Schwartz GJ, Munoz A, Schneider MF, Mak RH, Kaskel F, Warady BA, Furth SL (2009) New equations to estimate GFR in children with CKD. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 20:629-637.
187. Solez K, Colvin RB, Racusen LC, Haas M, Sis B, Mengel M, Halloran PF, Baldwin W, Banfi G, Collins AB, Cosio F, David DS, Drachenberg C, Einecke G, Fogo AB, Gibson IW, Glotz D, Iskandar SS, Kraus E, Lerut E, Mannon RB, Mihatsch M, Nankivell BJ, Nickleleit V, Papadimitriou JC, Randhawa P, Regele H, Renaudin K, Roberts I, Seron D, Smith RN, Valente M (2008) Banff 07 classification of renal allograft pathology: updates and future directions. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 8:753-760.
188. Perez Fontan M, Rodriguez-Carmona A, Garcia Falcon T, Valdes F (1999) Early proteinuria in renal transplant recipients treated with cyclosporin. *Transplantation* 67:561-568.
189. Letavernier E, Legendre C (2008) mTOR inhibitors-induced proteinuria: mechanisms, significance, and management. *Transplant Rev (Orlando)* 22:125-130.
190. Yakupoglu U, Baranowska-Daca E, Suki WN, Truong LD (2004) New aspects of posttransplant nephrotic syndrome: clinicopathologic correlations with outcomes. *Transplantation proceedings* 36:139-143.
191. Ibis A, Akgul A, Ozdemir N, Colak T, Sezer S, Arat Z, Haberal M (2009) Posttransplant proteinuria is associated with higher risk of cardiovascular disease and graft failure in renal transplant patients. *Transplantation proceedings* 41:1604-1608.
192. Cantarovich F, Martinez F, Heguilen R, Thervet E, Mamzer-Bruneel MF, Gonzalez C, Legendre C (2010) Proteinuria >0.5 g/d, a prevalent prognostic factor for patient and graft survival in kidney transplantation. *Clinical transplantation* 24:175-180.
193. Kang NR, Lee JE, Huh W, Kim SJ, Kim YG, Kim DJ, Oh HY (2009) Minimal proteinuria one year after transplant is a risk factor for graft survival in kidney transplantation. *Journal of Korean medical science* 24 Suppl:S129-134.
194. Fellstrom B, Holdaas H, Jardine AG, Nyberg G, Gronhagen-Riska C, Madsen S, Neumayer HH, Cole E, Maes B, Ambuhl P, Olsson AG, Staffler B, Pedersen TR (2005) Risk factors for reaching renal endpoints in the assessment of Lescol in renal transplantation (ALERT) trial. *Transplantation* 79:205-212.
195. Smith JM, Martz K, Blydt-Hansen TD (2013) Pediatric kidney transplant practice patterns and outcome benchmarks, 1987-2010: a report of the North American Pediatric Renal Trials and Collaborative Studies. *Pediatric transplantation* 17:149-157.

196. First MR, Vaidya PN, Maryniak RK, Weiss MA, Munda R, Fidler JP, Penn I, Alexander JW (1984) Proteinuria following transplantation. Correlation with histopathology and outcome. *Transplantation* 38:607-612.
197. Chang JW, Pardo V, Sageshima J, Chen L, Tsai HL, Reiser J, Wei C, Ciancio G, Burke GW, 3rd, Fornoni A (2012) Podocyte foot process effacement in postreperfusion allograft biopsies correlates with early recurrence of proteinuria in focal segmental glomerulosclerosis. *Transplantation* 93:1238-1244.
198. Kandus A, Ponikvar R, Buturovic-Ponikvar J, Bren AF, Oblak M, Mlinsek G, Kmetec A, Arnol M (2013) Plasmapheresis and immunoadsorption for treatment and prophylaxis of recurrent focal segmental glomerulosclerosis in adult recipients of deceased donor renal grafts. *Therapeutic apheresis and dialysis : official peer-reviewed journal of the International Society for Apheresis, the Japanese Society for Apheresis, the Japanese Society for Dialysis Therapy* 17:438-443.
199. Wuhl E, Fydryk J, Wiesel M, Mehls O, Schaefer F, Scharer K (1998) Impact of recurrent nephrotic syndrome after renal transplantation in young patients. *Pediatr Nephrol* 12:529-533.
200. Straatmann C, Kallash M, Killackey M, Iorember F, Aviles D, Bamgbola O, Carson T, Florman S, Vehaskari MV (2014) Success with plasmapheresis treatment for recurrent focal segmental glomerulosclerosis in pediatric renal transplant recipients. *Pediatric transplantation* 18:29-34.
201. Grenda R, Jarmuzek W, Piatosa B, Rubik J (2011) Long-term effect of rituximab in maintaining remission of recurrent and plasmapheresis-dependent nephrotic syndrome post-renal transplantation - case report. *Pediatric transplantation* 15:E121-125.
202. Jungraithmayr TC, Hofer K, Cochat P, Chernin G, Cortina G, Fargue S, Grimm P, Knueppel T, Kowarsch A, Neuhaus T, Pagel P, Pfeiffer KP, Schafer F, Schonermarck U, Seeman T, Toenshoff B, Weber S, Winn MP, Zschocke J, Zimmerhackl LB (2011) Screening for NPHS2 mutations may help predict FSGS recurrence after transplantation. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 22:579-585.